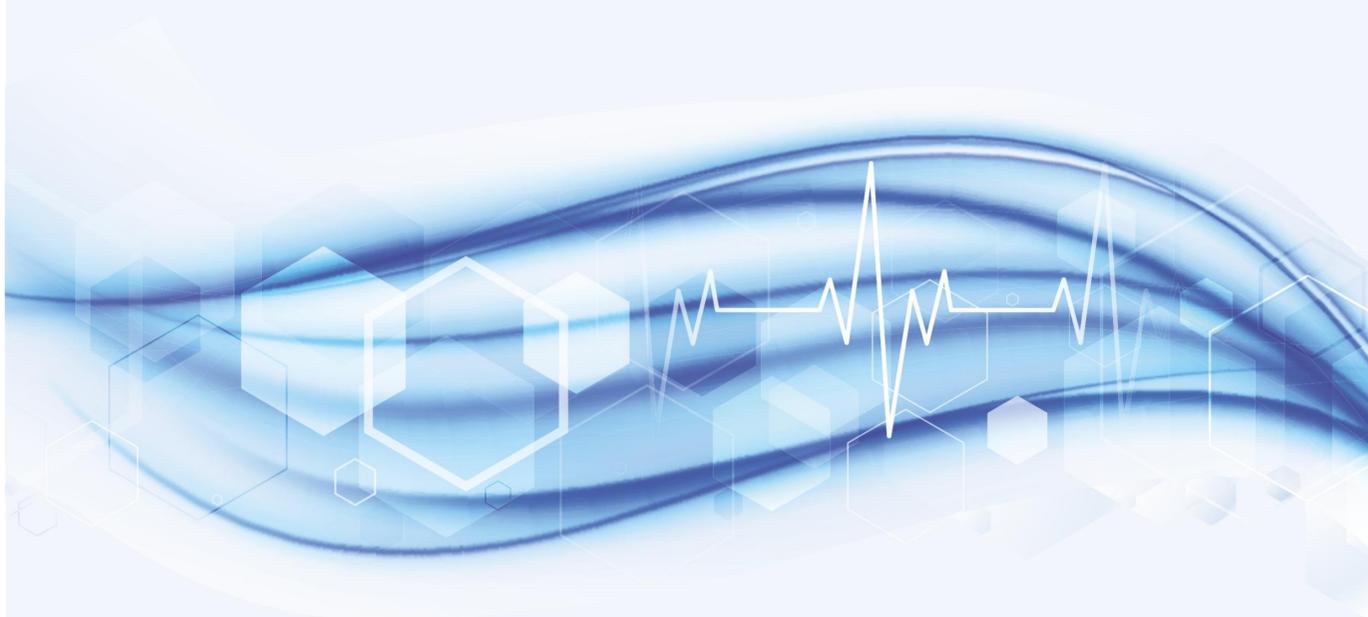


**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
ЧИТИНСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ ЗАБАЙКАЛЬСКОГО КРАЯ
ЧИТИНСКОЕ НАУЧНОЕ ОБЩЕСТВО ПАТОФИЗИОЛОГОВ**



**Сборник статей
III научно-практической конференции
«Персонализированная медицина с точки
зрения патологической физиологии и
клинической лабораторной диагностики»**

ЧИТА – 2024

УДК 616-092(063)

ББК 52

Ежегодная научно-практическая конференция с международным участием: «III научно-практической конференции «Персонализированная медицина с точки зрения патологической физиологии и клинической лабораторной диагностики», 28-30 ноября 2024 года, г. Чита [Электронный ресурс]: сборник научных статей.

Под общей ред. Н.В. Ларёвой; Читинская государственная медицинская академия. - Электрон. текстовые дан. - Чита: РИЦ ЧГМА, 2024. - диск (CD-ROM) – Мин. систем. требования: IBM PS 100 МГц; 1,9 Мб RAM; Windows XP; Adobe Reader

Сборник содержит статьи патофизиологов Читинской государственной медицинской академии, медицинских организаций Забайкальского края и других регионов России, посвященные актуальным проблемам патофизиологии.

Сборник адресован научным работникам, врачам всех специальностей, студентам, ординаторам и аспирантам медицинских вузов.

ISBN 978-5-904934-67-5

Научно-организационный комитет конференции:

Председатель оргкомитета:

Ларёва Наталья Викторовна – И.о. ректора ФГБОУ ВО ЧГМА, заведующая кафедрой терапии ФПК и ППС, доктор медицинских наук, профессор

Члены оргкомитета:

Немакина Оксана Владимировна – Министр здравоохранения Забайкальского края;

Цыбиков Намжил Нанзатович – заведующий кафедрой патологической физиологии, доктор медицинских наук, профессор;

Шаповалов Константин Геннадьевич – заведующий кафедрой анестезиологии, реанимации и интенсивной терапии ФГБОУ ВО ЧГМА; главный внештатный специалист по анестезиологии-реаниматологии МЗ Забайкальского края, председатель Совета ЗОАР, Заслуженный врач РФ, доктор медицинских наук, профессор;

Фефелова Елена Викторовна – профессор кафедры патологической физиологии, доктор медицинских наук;

Изместьев Сергей Валерьевич – старший преподаватель кафедры патологической физиологии, кандидат медицинских наук;

Гайдукова Тамара Владимировна – ассистент кафедры патологической физиологии ФГБОУ ВО ЧГМА;

Емельянов Руслан Сергеевич – ассистент кафедры анестезиологии, реанимации и интенсивной терапии ФГБОУ ВО ЧГМА.

Ответственный за выпуск: профессор кафедры патологической физиологии, доктор медицинских наук Фефелова Елена Викторовна

Оригинал-макет подготовлен редакционно-издательским центром ЧГМА 6720000, г. Чита, ул. Горького, 39-а

тел./факс: 8 (3022) 35-43-24/8 (3022) 32-30-58

e-mail: pochta@chitgma.ru

Техническое редактирование и верстка: Никифорова Э.О.

Подписано в печать 14.11.2024

Гарнитура "Таймс", формат 60X84 1/8, 222 стр.

Объем 1,5 Мб

Электронное издание на CD-ROM, 12 см, цв.,

Тираж 10 экз.

ISBN 978-5-904934-67-5

Уважаемые коллеги, дорогие друзья!

В представленном Вашему вниманию сборнике научных трудов нашей традиционной конференции по актуальным вопросам патофизиологии, размещены работы как сотрудников ЧГМА, так и наших гостей из различных городов России. При формировании сборника мы руководствовались оригинальностью исследования, его новизной и возможностью использовать результаты исследования в практическом здравоохранении. Таковы вызовы нашего времени. В сборнике, конечно, доминируют работы аспирантов, докторантов научной школы читинских патофизиологов, что вполне естественно. Наши исследования имеют большой размах – от чисто теоретических работ, до прикладных, выполненных врачами различных специальностей. При этом часть исследований выполнена на экспериментальных моделях, разрабатываемых забайкальскими патофизиологами. Это классический, традиционный подход к решению какой-либо научной проблемы в медицине и является неотъемлемой частью патологической физиологии как науки. А сегодня экспериментальную модель можно строить на молекуле, субклеточной структуре, клетке, ткани, органе и, наконец, на целом организме. В ряде работ продемонстрирован такой подход к решению научной задачи. Современные лабораторные технологии позволяют выявить нарушения на микрообъектах, вплоть до электрона. Часть статей посвящена исследованию патогенеза иммунотромбоза при COVID-19, что не является случайным. Пожалуй, человечество в первые в истории столкнулось с пандемией, где ведущий механизм фатального исхода тесно связан с тромбозами сосудов легких и других органов. Причем коагулопатия, развивающаяся при COVID-19 в значительной степени обусловлена иммунными механизмами, описываемыми как «цитокиновый» шторм. Другими словами, речь идет о сопряжении систем иммунитета и гемостаза, так ярко проявившемся при новой пандемии. Сегодня мы имеем громадный материал по патогенезу ковида. Более того, в глубокой заморозке находятся тысячи биологических материалов реанимационных больных ковидом, которые будут исследованы в ближайшее время. Вместе с тем, следует напомнить, что исследования по взаимосвязи иммунитета и гемостаза были начаты нами, читинскими патофизиологами, еще в 80-х годах прошлого века по инициативе великого Учителя Кузника Бориса Ильича. Кстати, в дни проведения конференции будет торжественно открыт музей имени Кузника Б.И. на кафедре нормальной физиологии, носящей его имя.

Уважаемые коллеги, друзья, ученики дерзайте! Успехов Вам.

С уважением, профессор Н.Н.Цыбиков.

УДК: 579.252.2

¹Антипин Д.А., ¹Джиоев Ю.П., ^{1,2,3,4}Арефьева Н.А., ¹Борисенко А.Ю.,
^{1,3}Эрдынеев С.В., ^{4,5}Букин Ю.С., ¹Кахиани К.Б., ¹Семинский И.Ж.

БИОИНФОРМАЦИОННЫЙ АНАЛИЗ РАЗНООБРАЗИЯ СТРУКТУР G-КВАДРУПЛЕКСОВ В ГЕНОМАХ SALMONELLA SPP И ИХ РОЛЬ В РЕГУЛЯЦИИ УСТОЙЧИВОСТИ К ФАГАМ (ОБЗОР)

¹*ФГБОУ ВО Иркутский государственный медицинский университет,
Иркутск, Россия*

²*ФГБНУ Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека,
Иркутск, Россия*

³*ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и
Дальнего Востока РОСПОТРЕБНАДЗОРА, Иркутск, Россия*

⁴*ФГБОУ ВО Иркутский государственный университет, Иркутск, Россия*

⁵*ФГБУН Лимнологический институт СО РАН, Иркутск, Россия*

Резюме. Виды *Salmonella spp*-это грамотрицательные бактерии, которые вызывают различные формы сальмонеллезов и их множественная лекарственная устойчивость (МЛУ) к антибиотикам стала глобальной проблемой. Необходимы новые подходы к созданию эффективных антибактериальных препаратов и здесь важным становится таргетная фаготерапия. Но, еще мало знания о природе антагонизма между бактериями и фагами через их CRISPR/Cas системы. Одним из важных регуляторов этого антагонизма являются структуры G-квадруплексов, отвечающих за регуляцию экспрессии генов. Через них можно подавлять механизм устойчивости к бактерии фагам, в том числе и у *Salmonella spp*.

Ключевые слова: *S. enterica*, G-квадруплекс, CRISPR/Cas система, бактериофаги

¹Antipin D.A., ¹Dzhioev Yu.P., ^{1,2,3,4}Arefieva N.A., ¹Borisenko A.Yu.,
^{1,3}Erdynееv S.V., ^{4,5}Bukin Yu.S., ¹Kakhiani K.B., ¹Seminsky I.Zh.

BIOINFORMATIONAL ANALYSIS OF THE DIVERSITY OF G-QUADRUPLEXES STRUCTURES IN SALMONELLA SPP GENOMES AND THEIR ROLE IN REGULATION OF PHAGE RESISTANCE (REVIEW)

¹*Irkutsk State Medical University, Irkutsk, Russia*

²*Scientific Center for Family Health and Human Reproduction, Irkutsk, Russia*

³*Irkutsk Research Anti-Plague Institute of Siberia and the Far East, Irkutsk, Russia*

⁴*Irkutsk State University, Irkutsk, Russia*

⁵*Limnological Institute SB RAS, Irkutsk, Russia*

Abstract. *Salmonella spp* are gram-negative bacteria that cause various forms of salmonellosis and their multidrug resistance (MDR) to antibiotics has become a global problem. New approaches to the creation of effective antibacterial drugs are needed and targeted phage therapy becomes important here. However, little is known about the nature of the antagonism between bacteria and phages through their CRISPR/Cas systems. One of the important regulators of this antagonism are the structures of G-quadruplexes responsible for the regulation of gene

expression. Through them, it is possible to suppress the mechanism of resistance of bacteria to phages, including in *Salmonella* spp.

Key words: *S. enterica*, *G-quadruplex*, CRISPR/Cas system, bacteriophages

Введение. *Salmonella*- род грамотрицательных бактерий, состоящих из двух видов: *Salmonella bongori* и *S. enterica*. Вид *S. enterica* состоит из 2659 сероваров, из которых 99% могут вызывать инфекции у животных и людей. Серовары *Salmonella* spp. являются одними из важнейших пищевых патогенов и причиной диарейных заболеваний во всем мире. Животные являются основным источником сальмонелл, а их пищевые продукты считаются основным путем передачи человеку. Поэтому, понимание глобальной эпидемиологии сероваров сальмонеллы является ключом к контролю и мониторингу этой бактерии [1,2]. Виды сальмонелл разделяются на брюшнотифозные и нетифозные (NTS) в зависимости от их способности вызывать специфические патологии у людей. Брюшнотифозные серовары способны заражать очень узкий круг хозяев и они передаются через воду, молоко, сырые овощи, морепродукты и зараженные яйца. В отличие от брюшного тифа, сальмонеллезы NTS встречаются во всем мире и вызывают 93,8 миллиона случаев гастроэнтерита и приводят к 155 000 смертей [3]. Помимо зараженных пищевых продуктов животного происхождения передача NTS может происходить от контакта человека с человеком, с домашними животными [4,5].

Множественная лекарственная устойчивость *Salmonella* spp. Во всем мире наблюдается рост инфекций сальмонеллы с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ). Они приводят к увеличению расходов и ухудшению результатов для здоровья из-за отсутствия или задержки лечения [6]. Также, рост МЛУ постепенно сокращает количество вариантов противомикробных препаратов, что ставит под угрозу здоровье человека. Везде, где используются антибиотики, существуют бактериальные резервуары устойчивости к ним как в больницах, фермах, так и в воде, почве, диких животных и многих других экологических нишах (рис. 1). Также, бактерии и их гены относительно легко перемещаются внутри и между людьми, животными и окружающей средой [7].

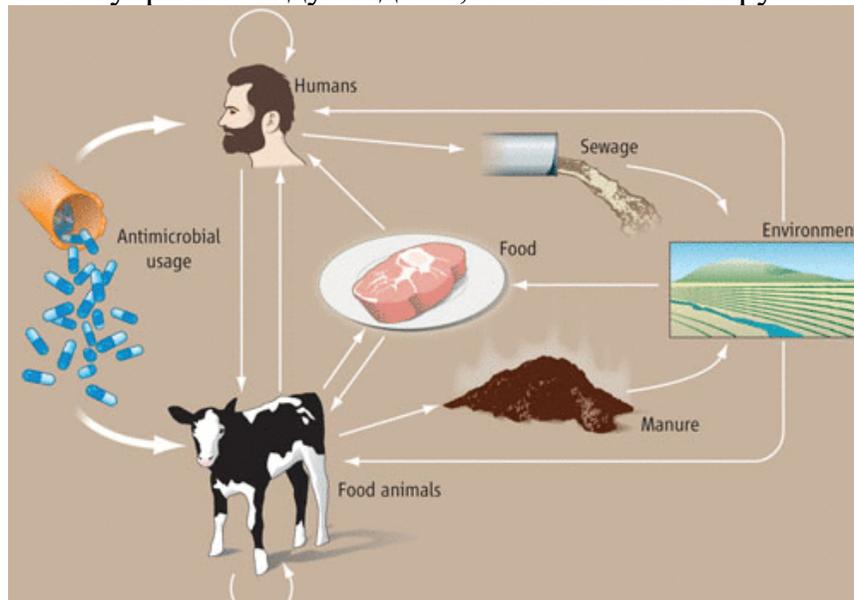


Рис. 1. Схема путей передачи устойчивости к противомикробным препаратам между сельскохозяйственными животными, окружающей средой и людьми. [7].

Поэтому, для утилизации пищевых патогенов с МЛЮ необходимы новые подходы создания эффективных антибактериальных препаратов. Одним из таких подходов могут стать литические фаги, которые специфично убивают только бактерию-хозяина и не нарушают полезную микрофлору пищи. Фаговая терапия прошла долгий путь благодаря расширению использования как фаговых коктейлей, фаговых лизинов, так и генетически адаптированных фагов [8]. Однако, в разработке и скрининге таргетных фагов против патогенов с МЛЮ необходимо знать геномный механизм их антагонизма с бактериями, которые имеют против них адаптивную иммунную защиту через структуры CRISPR/Cas систем.

CRISPR-Cas системы у *Salmonell spp.* Системы CRISPR-Cas обеспечивают адаптивный иммунный ответ против фагов и плазмид. CRISPR–Cas (кластеризованные, регулярно расположенные короткие палиндромные повторы – ассоциированные с CRISPR белками) у прокариот играют роль защиты хозяина от фагов и плазмид [9]. Они включают три основных функции: набор генов *cas*, лидерную последовательность и массив CRISPR-кассет. CRISPR-кассеты состоят из прямых последовательностей повторов, чередующихся с уникальными спейсерными последовательностями, которые обычно вырезаются из геномов фагов и плазмид. Был проведен поиск и анализ CRISPR-Cas систем у 600 геномов сальмонелл, в которых было выявлено два локуса CRISPR-Cas систем: CRISPR1 и CRISPR2 и определено 8 генов *cas* белков (рис.2). Лидерные последовательности расположены впереди CRISPR-кассет, в которых повторы (черные прямоугольники) чередуются спейсерами (цветные квадраты) [105].

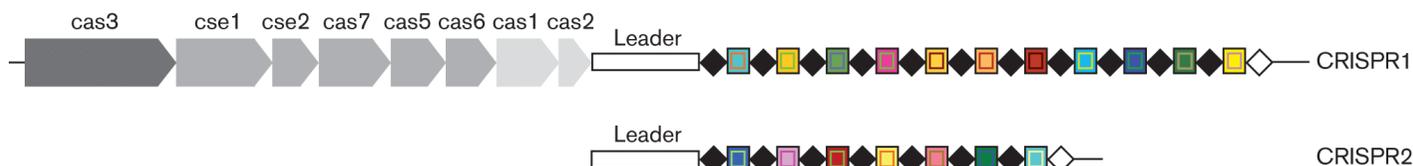


Рис. 2. Локусы CRISPR-Cas у сальмонелл. [10].

G-квадруплексов в геномах *Salmonella spp.* G-квадруплекс (G4)-это неканоническая вторичная структура в богатых гуанином последовательностях ДНК и РНК. Четыре последовательных ряда гуаниновых блоков приводят к образованию структур G4 (рис. 3). G4 играют важную роль в регуляции: репликации, транскрипции, трансляции и рекомбинации. При наличии двух и более G4-тетрад они могут накладываться друг на друга. Цепи остова G4 являются параллельными, антипараллельными или гибридными и образуют бороздки различной ширины, формируя разнообразные структурные конфигурации [11].

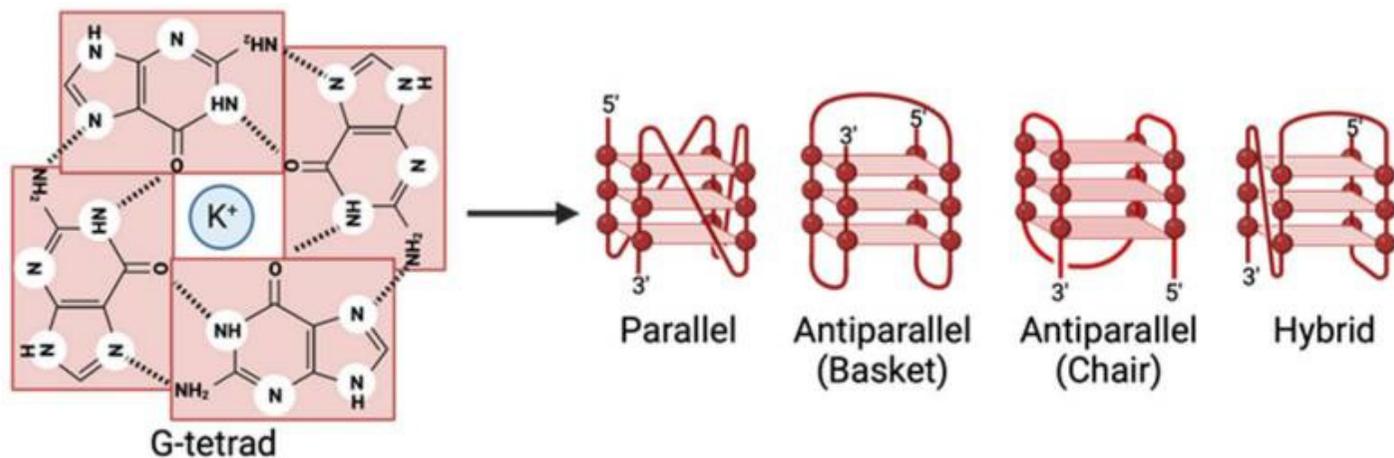


Рис. 3. Структура G4. Слева — G-тетрада, справа — три G-тетрады, сложенные друг на друга, образующие различные типы структур G4. [11].

В последнее время G4 исследуются на предмет их участия в механизмах вирулентности и выживания различных сальмонеллезных патогенов. Был проведен поиск и анализ G4 в геномах 412 штаммов *S. enterica* [12]. Методами биоинформатики было выявлено наличие трех SE-PGQ в трех различных генах *S. enterica* (рис.4). Было обнаружено, что SE-PGQ-1 присутствует в регуляторной области гена *mgtA*, SE-PGQ-2 в открытой рамке считывания гена *entA*, а SE-PGQ-3 в регуляторных областях генов *malK* и *malE*. Диско-диффузионный анализ подтвердил ингибирование роста клеток *S. enterica* связывающими лигандами G4: BRACO-19 и 9-аминоакридином. Была выявлена сниженная экспрессия этих генов при обработке этими лигандами. Более того, высокая консервативность этих SE-PGQ даже в штамме с МЛУ могла бы преодолеть проблему ее возникновения у *S. enterica*. Таким образом, это исследование подтвердило как наличие мотивов G4 в *S. enterica*, так и охарактеризовало их как перспективных мишеней для лекарственных препаратов.

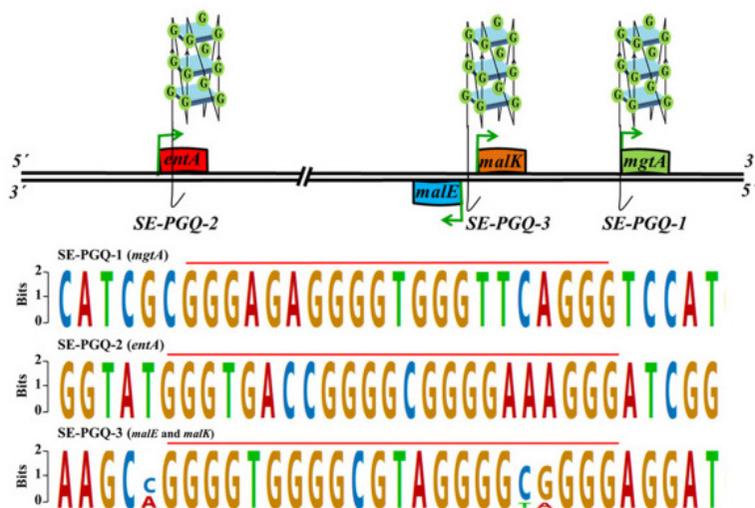


Рис.4. Схема локализации трех высококонсервативных SE-PGQ. а) SE-PGQ-1, расположена выше *mgtA*, SE-PGQ-2 в открытой рамке считывания гена *entA* и SE-PGQ-3 в межгенной регуляторной области *malK* и *malE* в геноме *S. enterica*. б) Структуры трех SE-PGQ, включая местоположение, идентификатор гена, локус гена, цепь G4 и направление гена в референсном геноме *S. enterica* (штамм CT18). [12].

Работа поддержана грантом Российского научного фонда (проект № 23-25-00520).

Список литературы:

1. Ferrari RG, et.al. Worldwide Epidemiology of Salmonella Serovars in Animal-Based Foods: a Meta-analysis. *Appl Environ Microbiol.* 2019 Jul 1;85(14):e00591-19. doi: 10.1128/AEM.00591-19.
2. Ayuti SR, et.al. Tackling salmonellosis: A comprehensive exploration of risks factors, impacts, and solutions. *Open Vet J.* 2024 Jun;14(6):1313-1329. doi: 10.5455/OVJ.2024.v14.i6.12.
3. Islam MS, et al. Characterization of Salmonella Phage LPST153 That Effectively Targets Most Prevalent Salmonella Serovars. *Microorganisms.* 2020 Jul 21;8(7):1089. doi: 10.3390/microorganisms8071089.
4. Hendriksen RS, et.al. Global monitoring of Salmonella serovar distribution from the World Health Organization Global Foodborne Infections Network Country Data Bank: results of quality assured laboratories from 2001 to 2007. *Foodborne Pathog Dis.* 2011 Aug;8(8):887-900. doi: 10.1089/fpd.2010.0787.
5. Gal-Mor O, et.al. Same species, different diseases: how and why typhoidal and non-typhoidal Salmonella enterica serovars differ. *Front Microbiol.* 2014 Aug 4;5:391. doi: 10.3389/fmicb.2014.00391.
6. Al-Hadidi SH, et.al. Retail Chicken Carcasses as a Reservoir of Multidrug-Resistant Salmonella. *Microb Drug Resist.* 2022 Jul;28(7):824-831. doi: 10.1089/mdr.2021.0414.
7. McEwen SA, et.al. Antimicrobial Resistance: a One Health Perspective. *Microbiol Spectr.* 2018 Mar;6(2). doi: 10.1128/microbiolspec.ARBA-0009-2017.
8. Xu Y. Phage and phage lysins: New era of bio-preservatives and food safety agents. *J Food Sci.* 2021 Aug;86(8):3349-3373. doi: 10.1111/1750-3841.15843.
9. Westra ER, et al. CRISPR-Cas systems: beyond adaptive immunity. *Nat Rev Microbiol.* 2014 May;12(5):317-26. doi: 10.1038/nrmicro3241.
10. Shariat N, et.al. Characterization and evolution of Salmonella CRISPR-Cas systems. *Microbiology (Reading).* 2015 Feb;161(Pt 2):374-86. doi: 10.1099/mic.0.000005.
11. Zareie AR, et.al. G-Quadruplexes in the Regulation of Viral Gene Expressions and Their Impacts on Controlling Infection. *Pathogens.* 2024 Jan 8;13(1):60. doi: 10.3390/pathogens13010060.
12. Jain N, Mishra SK, Shankar U, et. al. G-quadruplex stabilization in the ions and maltose transporters gene inhibit Salmonella enterica growth and virulence. *Genomics.* 2020 Nov;112(6):4863-4874. doi: 10.1016/j.ygeno.2020.09.010.

УДК: 616.441-002-071-092

Бабинский В.В., Терешков П.П., Фефелова Е.В., Жигжитова Е.Б.,
Мигунова В.М., Куфорова В.В. Цыбиков Н.Н.

**ИЗМЕНЕНИЯ УРОВНЯ sPD-1, sPD-L1, sCTLA-4, sB7.2У БОЛЬНЫХ С
РАЗЛИЧНЫМИ ФОРМАМИ АУТОИММУННОГО ТИРЕОИДИТА
ФГБОУ ВО Читинская государственная медицинская академия, Чита, Россия**

Резюме. По мере прогрессирования аутоиммунного тиреоидита отмечается снижение содержания растворенных молекул контрольных точек иммунного ответа sPD-1, sPD-1L, sCTLA-4, sB7.2 в периферической крови.

Ключевые слова: контрольные точки иммунного ответа, аутоиммунный тиреоидит, PD-1, PD-1L, CTLA-4, B7.2, АИТ, ТТГ, АТкТПО, Т4св.

Babinskiy V.V., Tereshkov P.P., Fefelova E.V., Zhigzhitova E.B.,
Migunova V.M., Kuforova V.V. Tsybikov N.N.

**CHANGES IN sPD-1, sPD-L1, sCTLA-4, sB7.2 LEVELS IN PATIENTS WITH
VARIOUS FORMS OF AUTOIMMUNE THYROIDITIS
Chita State Medical Academy, Chita, Russia**

Abstract. As autoimmune thyroiditis progresses, a decrease in the content of dissolved immune checkpoint molecules sPD-1, sPD-1L, sCTLA-4, sB7.2 in the peripheral blood is observed.

Keywords: immune checkpoints, autoimmune thyroiditis, PD-1, PD-1L, CTLA-4, B7.2, AIT, TSH, TPOAb, Free T4.

Введение: Согласно современным источникам, хроническим аутоиммунным тиреоидитом страдают более 5% популяции мира. В структуре тиреоидитной патологии, АИТ занимает от 20 до 50% [1]. На сегодняшний день тенденция частоты встречаемости АИТ, стремится к увеличению. Особенно это прослеживается в экологически неблагоприятных регионах [2].

Рассматривая современные представления о патогенезе АИТ, важную роль играет генетический дефект, выражающийся в нарушении иммунологического надзора. Это влечет к активации клонов Т-лимфоцитов, направленных на антигены фолликулярного эпителия щитовидной железы. Достигается это посредством угнетения супрессивной и стимулирующей хелперной функции, а также нарушением передачи информации В-лимфоцитам и плазматическим клеткам, которые начинают продуцировать органоспецифические антитела к тиреоглобулину и тиреоидной пероксидазе [3]. Согласно последним клиническим рекомендациям, медикаментозное воздействие на аутоиммунный процесс отсутствует. И только при развитии гипотиреоза назначение гормон – заместительная терапия является единственным решением для лечения сложившегося осложнения аутоиммунного тиреоидита [4]. Современные подходы к лечению аутоиммунных заболеваний обретают тенденцию к применению фармакоректоров иммунных контрольных точек. Одной из таких точек является молекула

запрограммированной смерти-1 (PD-1) и ее лиганд, PD-1L. Несмотря на название, PD-1 не участвует непосредственно в клеточной смерти. Эти белки функционируют как ингибирующие рецепторы. PD-1 экспрессируется на поверхности активированных Т-лимфоцитах и играет роль в торможении и контроле иммунного ответа [5]. PD-1L более распространен, помимо экспрессии на антигенпрезентирующих клетках (АПК), встречаются на тиреоцитах [6]. Однако существует и растворенная форма PD-1 (sPD-1). Предполагается что sPD-1 может конкурировать с мембранным PD-1 за лиганд, что в свою очередь будет блокировать ингибицию во время острого и хронического иммунного ответа [7].

Еще одной важной осью является взаимодействие cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4 (CTLA-4) и лиганда В7.2 (CD86). CTLA-4 является ингибирующей молекулой, экспрессируемой на поверхности активированных Т-лимфоцитов. Обладая высокой аффинностью к CD86 и CD80, располагающихся на АПК, активно конкурирует с CD28, являющейся костимулирующей молекулой. Экспериментально доказано, что CTLA-4 участвует в формировании иммунной толерантности [8]. Высокая экспрессия CTLA-4 на мембране Т- регуляторных клеток (Treg) может истощать адекватную ко-стимуляцию на Т – лимфоциты посредством физического блокирования молекул В7 на АПК. Предполагается, что растворимая форма CTLA-4 (sCTLA-4) обладает схожим эффектом [9, 10].

В настоящее время растворенные иммунные контрольные точки широко изучаются, однако, данные противоречивы и не объясняют механизмы формирования хронического аутоиммунного тиреоидита.

Цель работы: определение уровня растворенных молекул PD-1, PD-L1, CTLA-4, В7.2 у лиц, страдающих различными формами аутоиммунного тиреоидита.

Материалы и методы исследования: В исследовании участвовали 31 человек в возрасте от 18 до 40 лет. Все процедуры были проведены в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками от 2004 г. и «Правилами надлежащей клинической практики в Российской Федерации», утверждёнными Приказом Минздрава РФ No 200н от 01.04.2016. Исследование было одобрено локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО «Читинской государственной медицинской академии» (протокол No 124 от 10.11.2022). Все лица, участвующие в исследовании, подписали информированное согласие на участие.

Учитывая особенности течения аутоиммунного тиреоидита, участники были распределены на группы: I Здоровые (n=10); II Носители антител к тиреопероксидазе (n=11), лица имеющие высокий уровень АТкТПО в сочетании с нормальным уровнем тиреотропного гормона (ТТГ) и свободного тироксина (Т4св.); III Субклиническая форма гипотиреоза при аутоиммунном тиреоидите (n=6). В эту группу вошли лица, обладающие высокой концентрацией АТкТПО и ТТГ и референсным уровнем Т4св.; IV Аутоиммунный тиреоидит осложненный гипотиреозом, медикаментозно компенсированным (n=4). Участники этой группы составили лица с ранее выставленным диагнозом АИТ, получающие гармонзаместительную терапию. При отборе испытуемых проводился общий осмотр, УЗИ щитовидной железы, осуществлялся забор венозной крови для

определения уровня антител к тиреопероксидазе методом ИФА (набор «ТирондИФА-атТПО»), концентрации ТТГ и Т4св., методом иммунохемилюминесценции («Access 2» с использованием регулярных реактивов). Определение уровня PD-1, PD-L1, CTLA-4, B7.2 в периферической крови (Biolegend) мультиплексным анализом с использованием наборов Human Immune-checkpoints методом проточной цитофлуориметрии на приборе CytoFlex (Beckman Coulter). Статистическая обработка данных проводилась с использованием однофакторного дисперсионного анализа Крускал-Уоилисса. Результаты в таблицах представлены как медиана (Ме) и (25; 75) процентиля. Достоверность различий между группами (p) оценивали при помощи попарных сравнений Двасса-Стила-Кричлоу-Флигнера. Статистически достоверными считались данные при количественной характеристике случайностей (p-значение) не более 0,05.

Полученные результаты: При сравнении уровня sPD-1L группы здоровых 54,1 pg/ml (28,7; 67,6) с группой являющихся носителями антител к тиреопероксидазе 4,36 pg/ml (2,36; 18,0), отмечается практически десятикратное, его снижение (P=0,001). Схожая картина обстоит и в группах с субклинической формой аутоиммунного тиреоидита (P=0,001) 5,06 pg/ml (2,33; 6,14) и аутоиммунным тиреоидитом осложненным гипотиреозом (P=0,001) 2,43 pg/ml (2,26; 2,57). Также статистическая достоверность была зарегистрирована при сравнении групп с субклинической формой аутоиммунного тиреоидита и аутоиммунным тиреоидитом осложненным гипотиреозом (P=0,004). Уровень sPD-1 снижался более чем в два раза при сравнении группы здоровых 16,6 pg/ml (13,6; 37,2) и группы АИТ осложненный гипотиреозом 7,28 pg/ml (5,18; 11,1) (P=0,001). Концентрация sCTLA-4 в периферической крови у группы носителей АТ к ТПО в 3,05 раза ниже, чем в контрольной группе 9,30 pg/ml (3,29; 13,4) (P=0,001). В группе с субклинической формой АИТ 3,22 pg/ml (3,06; 3,33) (P=0,001) снижение составило 88,66% от уровня sCTLA-4 в контрольной группе. Схожая картина отмечалась и в группе IV 3,71 pg/ml (3,64; 4,64) (P=0,001). При оценивании II и IV групп, наблюдается снижения в 2,5 раза (P=0,004). Оценка концентрации sB7.2 выявила уменьшение его концентрации на 65,03% в группе носителей АТ к ТПО 16,4 pg/ml (15,6; 32,7) при сравнении со здоровыми добровольцами 46,9 pg/ml (39,3; 54,4) (P=0,001). Схожая тенденция присутствовала и в группе субклинической формой АИТ 15,6 pg/ml (15,4; 16,6) (P=0,001), концентрация снижалась на 66,74%. Однако в группе IV 22,3 pg/ml (15,4; 34,1) (P=0,001) снижалась лишь на 52,45%

Выводы: Полученные результаты исследования свидетельствуют о снижении содержания растворенных молекул контрольных точек иммунного ответа sPD-1, sPD-1L, sCTLA-4, sB7.2 в периферической крови у больных страдающих от аутоиммунного тиреоидита. Выявленные изменения прогрессировали по мере развития тяжести аутоиммунного тиреоидита.

Список литературы:

1. Conrad N, Misra S, Verbakel JY, Verbeke G, Molenberghs G, Taylor PN, Mason J, Sattar N, McMurray JJV, McInnes IB, Khunti K, Cambridge G. Incidence, prevalence, and co-occurrence of autoimmune disorders over time and by age, sex, and socioeconomic status: a population-based cohort study of 22 million individuals in the UK. *Lancet*. 2023 Jun 3;401(10391):1878-1890. doi: 10.1016/S 0140-6736(23)00457-9

2. Строев Ю.И., Агафонов П.В., Коровин А.Е., Рябкова В.А., Соболевская П.А., Федоткина Т.В., и др. МЕДИЦИНСКАЯ ГЕОГРАФИЯ И ЭКОЛОГИЯ АУТОИММУННОГО ТИРОИДИТА ХАСИМОТО И СВЯЗАННЫХ С НИМ ЗАБОЛЕВАНИЙ // Российские биомедицинские исследования. 2022. №2. [Stroeve Y.I., Agafonov P.V., Korovin A.E., Ryabkova V.A., Sobolevskaya P.A., Fedotkina T.V., et al. Medical geography and ecology of autoimmune thyroiditis hashimoto and related developments. Russian Biomedical Research. 2022. №2.]
3. Weetman AP. An update on the pathogenesis of Hashimoto's thyroiditis. *J Endocrinol Invest.* 2021 May;44(5):883-890. doi: 10.1007/s40618-020-01477-1
4. Дедов И.И., Мельниченко Г.А., Герасимов Г.А., Фадеев В.В., Петунина Н.А., Александрова Г.Ф., Трошина Е.А., Кузнецов Н.С., Ванушко В.Э. Клинические рекомендации Российской Ассоциации Эндокринологов по диагностике и лечению аутоиммунного тиреоидита у взрослых 2013г. [Dedov I.I., Melnichenko G.A., Gerasimov G.A., Fadeev V.V., Petunina N.A., Aleksandrova G.F., Troshina E.A., Kuznetsov N.S., Vanushko V.E. Clinical recommendations of the Russian Association of Endocrinologists on the diagnosis and treatment of autoimmune thyroiditis in adults 2013.]
5. Urwyler P, Earnshaw I, Bermudez M, Perucha E, Wu W, Ryan S, McDonald L, Karagiannis SN, Taams LS, Powell N, Cope A, Papa S. Mechanisms of checkpoint inhibition-induced adverse events. *Clin Exp Immunol.* 2020 May;200(2):141-154. doi: 10.1111/cei.13421
6. Álvarez-Sierra D, Marín-Sánchez A, Ruiz-Blázquez P, de Jesús Gil C, Iglesias-Felip C, González Ó, Casteras A, Costa RF, Nuciforo P, Colobran R, Pujol-Borrell R. Analysis of the PD-1/PD-L1 axis in human autoimmune thyroid disease: Insights into pathogenesis and clues to immunotherapy associated thyroid autoimmunity. *J Autoimmun.* 2019 Sep;103:102285. doi: 10.1016/j.jaut.2019.05.013
7. Sznol M. Blockade of the B7-H1/PD-1 pathway as a basis for combination anticancer therapy. *Cancer J.* 2014 Jul-Aug;20(4):290-5. doi: 10.1097/PPO.000000000000056. PMID: 25098290.
8. Aprilia A, Handono K, Sujuti H, Sabarudin A, Winaris N. sCD163, sCD28, sCD80, and sCTLA-4 as soluble marker candidates for detecting immunosenescence. *Immun Ageing.* 2024 Jan 20;21(1):9. doi: 10.1186/s12979-023-00405-0
9. Simone R, Pesce G, Antola P, Rumbullaku M, Bagnasco M, Bizzaro N, Saverino D. The soluble form of CTLA-4 from serum of patients with autoimmune diseases regulates T-cell responses. *Biomed Res Int.* 2014;2014:215763. doi: 10.1155/2014/215763
10. Niu M., Liu Y., Yi M., Jiao D., Wu K. Biological characteristics and clinical significance of soluble PD- 1/PD-L1 and exosomal PD-L1 in cancer. *Front. Immunol.*,2022, Vol. 13, 827921

УДК 617.73–092:616.379

Бакшеева Е.Г., Цыбиков Н.Н., Галак И.Р.

КОАГУЛЯЦИОННЫЕ СВОЙСТВА МОЧИ ПО ДАННЫМ КЛОТТИНГОВЫХ ТЕСТОВ У ПАЦИЕНТОВ С ПОЧЕЧНОЙ КОЛИКОЙ

ФГБОУ ВО Читинская государственная медицинская академия, Чита, Россия

Резюме. В статье рассмотрены основные показатели коагулограммы, определяемые в моче в период почечной колики. Более высокие показатели активированного частичного тромбoplastинового (АЧТВ) и тромбинового времени (ТВ), выявленные у пациентов после колики, могут способствовать более углублённому пониманию механизмов развития патологических изменений в почках и системе гемостаза у пациентов с уролитиазом.

Ключевые слова: гемостаз, мочекаменная болезнь, коагулограмма.

Baksheeva E.G., Tsybikov N.N., Galak I.R.

COAGULATION PROPERTIES OF URINE ACCORDING TO CLOTTING TESTS IN PATIENTS WITH RENAL COLIC

Chita State Medical Academy, Chita, Russia

Abstract. The article discusses the main indicators of the coagulogram determined in urine during renal colic. Higher indicators of activated partial thromboplastin time (APTT) and thrombin time (TT) detected in patients after colic may contribute to a more in-depth understanding of the mechanisms of development of pathological changes in the kidneys and the hemostasis system in patients with urolithiasis.

Key words: hemostasis, urolithiasis, coagulogram.

Мочекаменная болезнь (МКБ) по распространенности занимает лидирующие позиции в структуре урологической патологии с частотой встречаемости 1–5%, наиболее часто диагностируется у лиц трудоспособного возраста. Среди урологических заболеваний МКБ составляет 40% [1–3]. По данным литературы при почечной колике за счет механического повреждения почечной ткани вследствие обструкции высвобождается большое количество вазоактивных медиаторов воспаления (например, тромбоксан А) и факторов роста, что приблизительно через 4 часа от начала приступа приводит к сужению приносящих артериол, снижению почечного кровотока и, как следствие ишемии с последующим повреждением клеток собирательных канальцев [4]. В статье в Е.Т. Голошапова и соавт. зафиксированы результаты по изучению состояния гемостаза и фибринолиза при разных клинических формах уролитиаза. Результаты проведенных исследований свидетельствуют о наличии гиперкоагуляции и снижения фибринолитической активности мочи у больных с мочекаменной болезнью, причем степень нарушений наибольшая при двустороннем нефролитиазе. Это обстоятельство необходимо учитывать при выборе методов патогенетического лечения и метафилактике камнеобразования [5]. В работе Ключкова В.В. изучалась динамика изменений в системе гемостаза при нефролитиазе, которая характеризуется усилением процесса тромбообразования с одновременным угнетением фибринолитической активности

крови и фибринолитической активности мочи, что чревато образованием матриксной основы мочевых конкрементов в почках. Это связано с тем, что оставшиеся в лоханке и чашечках фибриновые сгустки, не подвергшиеся лизису, уплотняются и адсорбируют на своей поверхности кристаллизующиеся соли, которые становятся ядром конкремента [6]. Перспективно дальнейшее изучение коагулологических и фибринолитических свойств мочи у больных уролитоазом.

Цель. Определение коагулологических свойств мочи у пациентов с почечной коликой.

Материалы и методы. Обследовано 15 пациентов с мочекаменной болезнью (МКБ) (8 мужчин и 7 женщин в возрасте от 26 до 82 (средний возраст - $62 \pm 9,8$) лет) и 10 человек группы сравнения, сопоставимых по возрасту и полу (средний возраст – $61,7 \pm 7,5$ года, 5 мужчин и 5 женщин). Больные МКБ были госпитализированы в дежурный стационар ГУЗ ГKB № 1 в состоянии почечной колики и обследованы в соответствии с существующими клиническими рекомендациями, включая методы визуализации конкремента. У больных уролитоазом забор мочи был произведён дважды: во время приступа почечной колики и после купирования болевого синдрома. Образцы средней порции мочи предварительно центрифугировались длительностью 5 минут 3000 об./мин. Также был произведён забор плазмы крови здоровых лиц. С помощью полуавтоматического коагулометра Technology Solution 4 определяли тромбиновое время (ТВ), протромбиновое время (ПТВ), активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ). Для теста использовали 20 мкл мочи и 80 мкл донорской тест-плазмы. Тест проводился по стандартной методике.

Нормальность распределения признаков оценивали с помощью критерия Шапиро – Уилка. Учитывая распределение признаков, отличное от нормального во всех исследуемых группах, полученные данные представлены в виде медианы, первого и третьего квартилей: Me (Q1; Q3). Для сравнения двух независимых выборок использовали критерий Манна-Уитни (U), для сравнения двух зависимых выборок - критерий Уилкоксона, который в программе SPSS автоматически преобразовывался в величину z (z-score). Результаты считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Статистическую обработку результатов исследования осуществляли с помощью пакета программ IBM SPSS Statistics Version 25.0 (International Business Machines Corporation, license No. Z125-3301-14, США).

Результаты. При сравнении показателей (табл. 1) выявлены незначимые различия между двумя группами, хотя стоит отметить значение АЧТВ превышало референсный предел.

Таблица 1

Показатели клоттинговых тестов у лиц контрольной группы и пациентов 1 й группы

Параметр исследования	Исслед. группа во время колики (1 группа) n=15	Контрольная группа n=10	Тестовая статистика
ПТВ (сек.)	14,3 [13,4; 15,0]	14,1 [13,4; 14,8]	U=64,0 p=0,54
ТВ (сек.)	18,9 [16,9; 21,3]	21,4 [19,4; 23,8]	U=45,5 p=0,1
АЧТВ (сек.)	44,9 [41,7; 53,8]	44,1 [38,6; 47,6]	U=61,0 p=0,44

Примечания. p₁– статистически значимые изменения по отношению к 1-й группе

пациентов. ПТВ (сек.) – протромбиновое время; ТВ (сек.) – тромбиновое время; АЧТВ (сек.) – активированное частичное тромбопластиновое время.

Таблица 2

Показатели клоттинговых тестов у лиц контрольной группы и пациентов 2 й группы

Параметр исследования	Исслед. Группа после колики n=15	Контрольная группа n=10	Тестовая статистика
ПТВ	14,4	14,1	U=64,0
	[13,4; 15,0]	[13,4; 14,8]	p=0,54
ТВ	20,6	21,4	U=63,0
	[18,6; 21,8]	[19,4; 23,8]	p=0,51
АЧТВ	48,5	44,1	U=37,5
	[44,3; 52,8]	[38,6; 47,6]	p ₂ =0,04

Примечания. p₂ – статистически значимые изменения по отношению к 1-й группе пациентов. ПТВ (сек.) – протромбиновое время; ТВ (сек.) – тромбиновое время; АЧТВ (сек.) – активированное частичное тромбопластиновое время.

Значения, полученные у больных 2-й группы значимо, отличаются по параметру АЧТВ (U=37,5, p₂=0,04), что может являться подтверждением усиления коагуляционного потенциала мочи во время приступа колики. При сравнении показателей ПТВ и ТВ выявлены незначимые различия.

Таблица 3

Показатели клоттинговых тестов у лиц 1 й и 2-й группы

Параметр исследования	Исследуемая группа пациентов во время колики, n=15			Исследуемая группа пациентов после колики, n=10			Величина Z (z-score)	Значимость, p
	Q ₁	Me	Q ₃	Q ₁	Me	Q ₃		
ПТВ	13,4	14,3	15	13,4	14,4	15	-1,17	0,24
ТВ	16,9	18,9	21,3	18,6	20,6	21,8	-1,99	0,047
АЧТВ	41,7	44,9	53,8	44,3	48,5	52,8	-0,79	0,43

Примечания. Жирным шрифтом обозначены статистически значимые изменения между 1-й и 2-й группой. ПТВ (сек.) – протромбиновое время; ТВ (сек.) – тромбиновое время; АЧТВ (сек.) – активированное частичное тромбопластиновое время.

При сравнении групп во время колики и после значимые различия были выявлены лишь по параметру ТВ (p=0,047). При оценке остальных параметров коагулограммы значимой разницы выявлено не было (p>0,05).

Выводы. Результаты клоттинговых тестов показали, что большинство параметров показывают незначительную разницу между группами, однако пациенты после колики имеют более высокие значения АЧТВ и ТВ, что может свидетельствовать об определённых патофизиологических изменениях в системе гемостаза, заключающихся в состоянии гиперкоагуляции. Дальнейшие исследования позволят приблизиться к пониманию роли факторов свертывания и фибринолиза мочи в патогенезе уролитиаза.

Список литературы:

1. Журунова М.С., Даутова М.Б. Мочекаменная болезнь // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. 2016. №6–5. С.977 [Zhurunova M.S., Dautova M.B. Mochekamennaya bolezn' // Mezhdunarodnyy zhurnal prikladnykh i fundamental'nykh issledovaniy. 2016. №6–5. S.977 (in Russian)].
2. Григорьев Н.А., Семенякин И.В., Малхасян В.А. и др. Мочекаменная болезнь // Урология. 2016. №S2. С.37–69 [Grigor'ev N.A., Semenyakin I.V., Malkhasyan V.A. i dr. Mochekamennaya bolezn' // Urologiya. 2016. №S2. S.37–69 (in Russian)].
3. Fisang C., Anding R., Müller S.C. et al. Urolithiasis — an interdisciplinary diagnostic, therapeutic and secondary preventive challenge // Dtsch Arztebl Int. 2015. Vol. 112(6). P.83–91
4. Андрюхин, М.И. Современные методы лечения мочекаменной болезни / М.И. Андрюхин, В.П. Авдошин; Российский университет дружбы народов. - Москва : ФГАОУ ВО Российский ун-т дружбы народов, 2008. - 1 электрон. опт. диск. - – Текст : электронный.
5. Голощапов, Е. Т. Особенности нарушения гемостаза и фибринолиза при различных клинических формах мочекаменной болезни / Е. Т. Голощапов, Г. Б. Лукичѐв, Ю. А. Игнашов // Урологические ведомости. – 2013. – Т. 3. – №. 1. – С. 8-10.
6. Клочков В. В. Система гемостаза крови и мочи в патогенезе мочекаменной болезни / Клочков В. В. и др. // Национальные проекты-приоритеты развития здравоохранения регионов. – 2019. – С. 678-679

УДК 616.72-002.77

Баясхаланова Ц.Б., Фефелова Е.В., Цыбиков Н.Н., Обыденко В.И., Нестеренко Е.С.
РОЛЬ НМGB-1 В ПАТОГЕНЕЗЕ РАЗВИТИЯ РЕВМАТОИДНОГО АРТРИТА
ФГБОУ ВО Читинская государственная медицинская академия, Чита, Россия.

Резюме. В данной научной работе исследуется роль белка НМGB1 в индукции ревматоидного артрита на основе экспериментальных данных, полученных с использованием лабораторных животных. Актуальность исследования обусловлена растущей распространенностью ревматоидного артрита и значительной ролью НМGB1 как мультифункциональной молекулы, участвующей в патогенезе воспалительных процессов. В работе проведена оценка концентрации НМGB1 в сыворотке крови и гомогенатах околосуставных тканей, а также проанализированы морфологические изменения в суставной ткани животных. Результаты работы демонстрируют, что повышенный уровень НМGB1 ассоциируется с развитием воспалительных процессов и разрушением суставов, что открывает возможные перспективы диагностики доклинической фазы ревматоидного артрита.

Ключевые слова: НМGB1, ревматоидный артрит, сыворотка, гомогенат.

Bayaskhalanova Ts.B, Fefelova E.V., Thybikov N.N., Obydenko V.I., Nesterenko E.S.

THE ROLE OF HMGB-1 IN THE PATHOGENESIS OF RHEUMATOID ARTHRITIS

Chita State Medical Academy, Chita, Russia.

Abstract. *This scientific work investigates the role of the HMGB1 protein in the induction of rheumatoid arthritis based on experimental data obtained using laboratory animals. The relevance of the study is due to the growing prevalence of rheumatoid arthritis and the significant role of HMGB1 as a multifunctional molecule involved in the pathogenesis of inflammatory processes. The work assessed the concentration of HMGB1 in blood serum and homogenates of periarticular tissues, and analyzed morphological changes in the articular tissue of animals. The results of the work demonstrate that an increased level of HMGB1 is associated with the development of inflammatory processes and joint destruction, which opens up possible prospects for diagnosing the preclinical phase of rheumatoid arthritis.*

Key words: *HMGB1, rheumatoid arthritis, serum, homogenate.*

Актуальность. Ревматоидный артрит (РА) — это хроническое воспалительное заболевание, которое характеризуется симметричным поражением суставов и системными проявлениями. В патогенезе РА играет роль множество факторов, включая генетическую предрасположенность, внешние факторы, аутоиммунные реакции и воспалительные процессы [1, 2].

Точные механизмы, лежащие в основе развития и прогрессирования РА, остаются неясными, хотя заболевание связано с избыточной продукцией провоспалительных цитокинов, таких как фактор некроза опухоли (ФНО) и интерлейкин-1 (ИЛ-1), в первую очередь вырабатываемых активированными внутрисуставными макрофагами. Традиционным методом диагностики ревматоидного артрита является, помимо ревматоидного фактора, определение уровня антител к циклическим цитруллинизированным пептидам (anti-CCP), которые помогают дифференцировать РА от других артритов, таких как остеоартрит или псориатический артрит [1].

Циклические цитруллинизированные пептиды (CCP) играют также важную роль в патогенезе ревматоидного артрита (РА). Эти пептиды образуются в результате модификации аргинина в белках, что приводит к образованию цитруллиновых остатков. Цитруллинизированные белки (виментин, фибрин, альфа-енолаза и т.д.) распознаются как чужеродные, что приводит к активации Т-клеток, которые начинают пролиферировать и выделять цитокины, способствующие воспалению. В ответ на цитруллинизированные антигены В-клетки начинают синтезировать антитела, включая антитела к CCP. Эти антитела могут связываться с цитруллинизированными белками, образуя иммунные комплексы. Иммунные комплексы, состоящие из антител к CCP и цитруллинизированных белков, могут оседать в суставах, активируя комплемент и вызывая локальное воспаление. Это приводит к активации макрофагов и других иммунных клеток [3].

Не так давно идентифицированный медиатор HMGB1 играет решающую роль в патогенезе РА, секретируясь макрофагами или высвобождаясь из некротических клеток, тем самым способствуя стойкому синовиальному воспалению [4].

HMGB-1 (High Mobility Group Box 1) — это белок, который играет важную роль в

клеточной биологии, включая регуляцию транскрипции, поддержание структуры ДНК и участие в процессах воспаления. Он может действовать как внутриклеточный фактор, а также как экстрацеллюлярный сигнал, что делает его ключевым элементом в патогенезе различных заболеваний, включая ревматоидный артрит (РА). HMGB-1 является мощным провоспалительным медиатором. В нормальных условиях он находится внутри клеток, но в ответ на стрессовые факторы (например, травмы или инфекции) он может высвобождаться в межклеточное пространство. В этом контексте HMGB-1 активирует различные иммунные клетки, такие как макрофаги и Т-лимфоциты, способствуя высвобождению провоспалительных цитокинов (например, TNF- α , IL-1 β) [3, 4].

HMGB-1 может взаимодействовать с рецепторами на поверхности иммунных клеток, такими как TLR4 (Toll-like receptor 4), что может способствовать аутоиммунным реакциям, наблюдаемым при РА. HMGB-1 может стимулировать продукцию матриксных металлопротеиназ (ММП), которые разрушают компоненты внеклеточного матрикса и способствуют разрушению суставной ткани [3].

Цель исследования: изучить концентрацию HMGB1 в сыворотке и гомогенатах околосуставных тканей в стадии индукции ревматоидного артрита у крыс в эксперименте.

Материалы и методы: Эксперимент был проведен на 40 крысах породы Wistar. Животные содержались в стандартных условиях вивария, оборудованного в соответствии с санитарными требованиями № 1045-73 от 06.04.1973, получали стандартный корм и воду без ограничения. Эксперимент проводили на минимальном количестве животных в соответствии с требованиями «Международных рекомендаций по проведению биомедицинских исследований с использованием животных», принятыми Международным советом медицинских научных обществ (CIOMS, Council for International Organizations of Medical Sciences) в 1985 г. Исследование было одобрено локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России».

Ревматоидный артрит моделировался с помощью выполнения внутрибрюшинной инъекции раствора коллагена 2 типа (Chondrex, Inc., США) в неполном адьюванте Фрейнда. Забор материала осуществляли на 7-й, 14-й, 21-й дни (сыворотка крови, околосуставные ткани). Выведение животных из эксперимента путем передозировки фторотанового наркоза.

Концентрацию HMGB1, АССР определяли методом ИФА с использованием готовых панелей SEA399Ra Enzyme-Linked Immunosorbent Assay kit (ELISA kit) for HMGB1, ELISA kit E02A2058 АССР. Исследование проводилось с помощью протоколов производителя.

Статистический анализ проводили с помощью программы Jamovi версия 2.3. Сравнительный анализ производили с помощью непараметрического метода Манна-Уитни, однофакторного дисперсионного анализа по Крускал-Уолиссу, попарные сравнения проводились по Двассу-Стилу-Флигнеру при значимом значении $p \leq 0,05$

Результаты. При анализе данных исследования, представленных в таблице 1: концентрация HMGB1 в сыворотке в контрольной группе, составляла 4608 pg/ml (4157;4882), на 7 сутки эксперимента отмечается увеличение до 8177 pg/ml (7402;8725), на 14 — 10824 pg/ml (10196;13059), на 21 — 10628 pg/ml (10020;13059). Концентрация данного белка в сыворотке на все сутки эксперимента в сравнении с контрольной группой

значимо увеличивалась ($P_1 < 0.001$). Также выявлено статистически значимое на 14 и 21 сутки увеличение концентрации в сравнение с 7 сутками ($P_2 < 0.001$).

Концентрация HMGB1 в гомогенатах околосуставных тканей в группе контроля составила 224 pg/ml (210;236). На 7 сутки эксперимента отмечено увеличение — 540 pg/ml (250;675), на 14 увеличение концентрации до 809 (737;986), на 21 — 708 pg/ml (419;913). Как и в сыворотке крови, наблюдалось увеличение концентрации белка в гомогенатах с течением всего эксперимента. На 14 сутки замечен рост концентрации относительно 7 суток ($P_2 = 0.003$). Однако, при анализе данных отмечено отсутствие разницы искомой величины между 7, 14 и 21 сутками, что говорит о стабильно высокой концентрации HMGB1 на протяжении всего эксперимента.

АССР в сыворотке в группе контроля составил 0.483 ng/ml (0.333;0.623). На 7 сутки эксперимента — 49,0 ng/ml (28,0; 61,0), на 14 — 44,0 ng/ml (22,0;61,0), на 21 — 41,0 ng/ml (33,5; 52,3). В сравнение с контрольной группой наблюдалось увеличение концентрации на каждых из суток ($P_1 < 0.001$). Статистически достоверные различия между 7, 14 и 21 сутками отсутствуют.

Концентрация АССР в гомогенатах околосуставных тканей в контрольной группе была 38.5 ng/ml (32.0;41.0). На 7 сутки эксперимента — 62,0 ng/ml (47,5;76,3), на 14 — 61,0 ng/ml (58,0;67,0), на 21 — 76,5 ng/ml (70,8;78,3). Относительно группы контроля в 7, 14 и 21 сутки фиксировалось увеличение концентрации АССР ($P_1 < 0.001$). Достоверных различий между 7, 14 и 21 не наблюдалось.

Таблица 1

Концентрация искоемых веществ, Me (25; 75)

Показатели	Группа контроля	7 сутки	14 сутки	21 сутки	Тестовая статистика
HMGB1 в сыворотке pg/ml	4608 (4157;4882)	8177 (7402;8725) $P_1 < 0.001$	10824 (10196;13059) $P_1 < 0.001$ $P_2 < 0.001$	10628 (10020;13059) $P_1 < 0.001$ $P_2 < 0.001$ $P_3 = 0.965$	$X^2 = 64,7$ $P < 0.001$
HMGB1 в гомогенатах околосуставных тканей pg/ml	224 (210;236)	540 (250;675) $P_1 < 0.001$	809 (737;986) $P_1 < 0.001$ $P_2 = 0.003$	708 (419;913) $P_1 < 0.001$ $P_2 = 0,11$ $P_3 = 0.739$	$X^2 = 45,7$ $P < 0.001$
АССР в сыворотке ng/ml	0.483 (0.333;0.623)	49,0 (28,0;61,0) $P_1 < 0.001$	44,0 (22,0;61,0) $P_1 < 0.001$ $P_2 = 0.995$	41,0 (33,5;52,3) $P_1 < 0.001$ $P_2 = 0,801$ $P_3 = 0.992$	$X^2 = 45,1$ $P < 0.001$
АССР в гомогенатах околосуставных тканей ng/ml	38.5 (32.0;41.0)	62,0 (47,5;76,3) $P_1 < 0.001$	61,0 (58,0;67,0) $P_1 < 0.001$ $P_2 = 0.995$	76,5 (70,8;78,3) $P_1 < 0.001$ $P_2 = 0.801$ $P_3 = 0.992$	$X^2 = 49,3$ $P < 0.001$

Примечание. P_1 – уровень значимости по сравнению с группой контроля, P_2 – уровень значимости по сравнению с 7 сутками, P_3 – уровень значимости по сравнению с 14 сутками, P_4 – уровень значимости по сравнению с 21 сутками.

Вывод. HMGB1 по данным проведенного эксперимента демонстрирует стабильное повышение концентрации в зависимости от суток при сравнении с контрольной группой при экспериментальном ревматоидном артрите, кроме того наблюдается статистически значимое различие показателей концентрации данного белка между сутками эксперимента, чего не отмечено при изучении концентрации АССР. Данная тенденция была более выражена в показателях концентрации веществ в сыворотке, это может служить аргументом для использования показателя концентрации белка HMGB1, как маркера выраженности воспалительного процесса.

Таким образом, HMGB-1 является важным белком в развитии ревматоидного артрита, способствуя как воспалительным процессам, так и аутоиммунным реакциям. Понимание его роли может открыть новые горизонты для разработки диагностических целей, терапевтических стратегий, направленных на блокирование его действия или модуляцию его уровней.

Список литературы:

1. Alivernini S., Firestein G. S., McInnes I. B. The pathogenesis of rheumatoid arthritis // Immunity. – 2022. – Т. 55. – №. 12. – С. 2255-2270.
2. Deane K. D., Holers V. M. Rheumatoid arthritis pathogenesis, prediction, and prevention: an emerging paradigm shift // Arthritis & Rheumatology. – 2021. – Т. 73. – №. 2. – С. 181-193.
3. Mun S. et al. Serum biomarker panel for the diagnosis of rheumatoid arthritis // Arthritis Research & Therapy. – 2021. – Т. 23. – С. 1-10.
4. Tang D. et al. The multifunctional protein HMGB1: 50 years of discovery // Nature Reviews Immunology. – 2023. – Т. 23. – №. 12. – С. 824-841.
5. Xiang Y. To explore the application of HMGB1, SII, S100A8/A9 and MCP-1 in the diagnosis, condition monitoring and prognosis of rheumatoid arthritis. – 2022.

УДК: 616 – 092.4 – 008 : 612.751.3

Богомягкова Е.Н., Солпов А.В., Терешков П.П., Витковский Ю.А.

СОДЕРЖАНИЕ РАСТВОРИМЫХ МОЛЕКУЛ АДГЕЗИИ И ТРОМБОЦИТАРНО-ЛЕЙКОЦИТАРНЫХ КОАГРЕГАТОВ В ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ПОДРОСТКОВ ПРИ COVID-19

**ФГБОУ ВО Читинская государственная медицинская академия,
Чита, Россия**

Резюме. Изучалось абсолютное и относительное содержание тромбоцитарно-лейкоцитарных коагратов, молекул клеточной адгезии - PSGL-1, P-селектина, а также провоспалительного цитокина IL-6 у детей с COVID 19. Показано, что содержание тромбоцитарно-лимфоцитарных, тромбоцитарно-нейтрофильных комплексов, PSGL-1, P-селектина, IL-6 было значимо выше у детей с COVID 19 по сравнению с контрольной группой. В то же время выявлено, что содержание тромбоцитарно-моноцитарных коагратов у детей с коронавирусной инфекцией ниже, чем у здоровых подростков.

Ключевые слова. COVID 19; дети; тромбоцитарно-лейкоцитарные коаграты; растворимые молекулы клеточной адгезии.

Bogomyagkova E.N., Solpov A.V., Tereshkov P.P., Vitkovsky Yu.A.

CONTENT OF SOLUBLE ADHESION MOLECULES AND PLATELEUT-LEUKOCYTE COAGGREGATES IN THE PERIPHERAL BLOOD OF ADOLESCENTS WITH COVID-19

Chita State Medical Academy, Chita, Russia

Abstract. *The absolute and relative content of platelet-leukocyte coaggregates, cell adhesion molecules - PSGL-1, P-selectin, as well as the pro-inflammatory cytokine IL-6 in children with COVID 19 were studied. It was shown that the content of platelet-lymphocyte, platelet-neutrophil complexes, PSGL- 1, P-selectin, IL-6 was significantly higher in children with COVID 19 compared to the control group. At the same time, it was revealed that the content of platelet-monocyte coaggregates in children with coronavirus infection is lower than in healthy adolescents.*

Key words. *COVID 19; children; platelet-leukocyte coaggregates; soluble intercellular adhesion molecules;*

Введение

Считается, что на молекулярном уровне в патогенезе SARS-CoV-2 участвуют как клеточные, так и гуморальные иммунные механизмы. Ряд ученых описывают, что в патогенезе COVID 19 важным механизмом является активация нейтрофилов и макрофагов.

Помимо иммунного ответа, стимулированного макрофагами и нейтрофилами, против SARS-CoV-2, инициируются иммунные реакции, опосредованные Т- и В-лимфоцитами. После заражения SARS-CoV-2 активируются воспалительные пути, включая сигнальный путь интерлейкина-6, сигнальный путь IFN, $TNF\alpha$, путь толл-подобного рецептора (TLR), путь Т-клеточного рецептора (TCR), и т. д. Различными иммунными клетками синтезируются провоспалительные цитокины (IL-1 β , IL-2R, IL-6, IL-7, IL-8, IL-17 и TNF- α) и хемокины (CCL-2, CCL-3, CCL-5, CCL-7, CXCL-10).

Известно, что трансмембранный ангиотензинпревращающий фермент 2 (ACE2) экспрессируется на эндотелии и является рецептором для SARS-CoV-2 [1]. ACE2 способствует превращению ангиотензина 2 в AT1-7. AT1-7 в свою очередь стимулирует эндотелиальные клетки, которые синтезируют оксид азота [2]. Оксид азота поддерживает сосудистый гомеостаз, вазодилатацию, способствует секреции макрофагами противовоспалительных интерлейкинов. При заражении COVID 19, вирус SARS-CoV-2 связывается с ACE2 и подавляет его. Таким образом, активируется ангиотензин 2, что вызывает снижение уровня оксида азота в крови, уменьшение кровотока, вазоконстрикцию и ишемию в тканях и органах. Вследствие этого развивается коагуляция и воспаление [3].

Также установлено, что вирус SARS-CoV-2 может напрямую повреждать эндотелий, что приводит к повреждению эндотелиальных клеток и их базальной мембраны и запускается тромботический каскад через взаимодействия тромбоцитов с тканевым фактором и коллагеном [4]. Более того, прямое взаимодействие тромбоцитов с вирусом, приводит к активации тромбоцитов. Активированные тромбоциты и поврежденные эндотелиальные клетки синтезируют провоспалительные цитокины [5-7]. Благодаря тромбоцитарным цитокинам и хемокинам, кровяные пластинки привлекают в зону воспаления другие

врожденные иммунные эффекторы, координируют работу иммунных клеток, которые связываются с активированными тромбоцитами через множество их рецепторов (CD40L, PSGL1 P-селектин, β 2-интегрины). [8-9].

В связи с этим изучение содержания тромбоцитарно-лейкоцитарных коагрегатов и растворимых форм молекул межклеточной адгезии не только раскроет механизмы развития патологического процесса, но и позволит улучшить раннюю диагностику заболеваний и прогнозировать тяжелые осложнения COVID19 у детей.

Цель данной работы – исследование уровней провоспалительного цитокина – IL-6, растворимой формы P-селектина, PSGL1 (sP-sel., sPSGL1), общего пула тромбоцитарно-лейкоцитарных коагрегатов (PLC), тромбоцитарно-лимфоцитарных (PLymC), тромбоцитарно-нейтрофильных (PNeuC) и тромбоцитарно-моноцитарных коагрегатов (PMonC) в периферической крови у детей с COVID 19.

Методы исследования. Объектом исследования служили образцы венозной крови 44 детей: детей с COVID-19 (21) и здоровых детей (23) мальчиков и девочек, в возрасте от 10 до 14 лет. Определение исследуемых параметров проводили методом проточной цитофлуориметрии с помощью моноклональных антител (MkAt), конъюгированных с различными флуорохромами. Проводили определение коагрегатов тромбоцитов в общем пуле лейкоцитов (Platelet leukocyte Coaggregates, PLC). Далее содержание лейкоцитарно-тромбоцитарных комплексов изучали среди нейтрофилов (Platelet Neutrophils Coaggregates, PNeuC), моноцитов (Platelet Monocyte Coaggregates, PMonC) и лимфоцитов (Platelet Lymphocyte Coaggregates, PLymC). Оценку содержания молекул межклеточной адгезии - sP-селектина и sPSGL-1 проводили методом мультиплексного анализа на проточном цитометре.

Статистическая обработка. Нормальность распределения признаков оценивали с помощью критерия Шапиро–Уилка. Учитывая негауссово распределение, количественные признаки представлены в виде медианы и 95 % доверительного интервала: Me [95 % доверительный интервал (ДИ)]. Для сравнения всех 6 обследуемых групп по одному количественному признаку применялся критерий Краскела–Уоллиса (H). При наличии статистически значимых различий проводили попарное сравнение с помощью критерия Манна–Уитни (U) с поправкой Бонферрони. Во всех случаях различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Статистическую обработку результатов исследования осуществляли с помощью пакета программ IBM SPSS Statistics Version 25.0 (International Business Machines Corporation, license No.Z125-3301-14, США).

Полученные результаты. На фоне развития воспалительной реакции у детей больных Covid 19 уже в остром периоде выявляется значительное увеличение (в 1,9 раза) относительного содержания общего пула тромбоцитарно-лимфоцитарных коагрегатов (PLymC) в периферической крови по сравнению с группой здоровых детей того же возраста ($U = 66,0$; $p = 0,0001$). Также сохраняется тенденция к повышению относительного уровня тромбоцитарно-нейтрофильных коагрегатов (PNeuC), так у детей больных Covid 19 относительное содержание PNeuC выше в 1,5 раза по сравнению с контрольной группой детей ($U = 115,0$; $p = 0,003$). В исследуемой группе у детей с Covid 19 по сравнению с группой контроля, достоверных изменений в относительном содержании тромбоцитарно-моноцитарных коагрегатов (PMonC) обнаружено не было. При этом у детей с Covid 19

в периферической крови наблюдалось снижение абсолютного содержания РМонС. Так показатель ниже контрольного диапазона в 2 раза ($U = 45,0$; $p = 0,0001$). Ровно в 7,5 раз относительно контрольных значений у детей больных Covid 19 повышается содержание растворимых молекул адгезии Р-селектина ($U = 6,0$; $p = 0,0001$). Подобная динамика наблюдается и для содержания PSGL-1. Так у детей с Covid 19 данный показатель превышает контрольный диапазон в 2,4 раза ($U = 57,0$; $p = 0,0001$). Результаты показали, что содержание IL-6 характеризовалось высокой концентрацией у детей с Covid 19. Так у подростков с коронавирусной инфекцией содержание IL-6 в 1,5 раза выше контрольных значений ($U = 84,0$; $p = 0,0002$).

Список литературы:

1. Lu R, Zhao X, Li J, et al. Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding / Lu R. – DOI:10.1016/S0140-6736(20)30251-8 // Lancet. – 2020. – Vol. 395 (10224). – P. 565–574. – URL: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7159086/> (date of the application: 20.06. 2020).
2. Sampaio WO, Souza dos Santos RA, Faria-Silva R, da Mata Machado LT, Schiffrin EL, Touyz RM. Angiotensin-(1-7) through receptor Mas mediates endothelial nitric oxide synthase activation via Akt-dependent pathways / Sampaio WO. - DOI: 10.1161/01.HYP.0000251865.35728.2f // Hypertension. – 2007. - Vol. 49 (1) . – P. 185-92. - URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17116756/> (date of the application: 01. 2007).
3. Quinaglia T., Shabani M., Breder I., Silber H. A., Lima J. A. C. & Sposito A. C. Coronavirus disease-19: The multi-level, multi-faceted vasculopathy / T. Quinaglia, M. Shabani, I. Breder, H. A. Silber, J. A. Lima C. & A. C.Sposito. – DOI:10.1016/j.atherosclerosis.2021.02.009 // Atherosclerosis. – 2021. – Vol. 322. – P. 39–50 – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33706082/> (date of the application: 15.02.2021).
4. Li Q., Guan X., Wu P., Wang X., Zhou L., Tong Y., Ren R.. Early Transmission Dynamics in Wuhan, China, of Novel Coronavirus-Infected Pneumonia / Q. Li, X. Guan, P. Wu, X. Wang, L. Zhou, Y. Tong, R. Ren. – DOI: 10.1056/NEJMoa2001316 // The New England journal of medicine. – 2020. – Vol. 382 (13). – P. 1199-1207 – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31995857/> (date of the application: 26.03.2020).
5. Mancuso P., Gidaro A., Gregato G., Raveane A., Cremonesi P., Quarna J., Caccia S., Gusso L., Rusconi S., Giacomelli A., Cogliati C., & Bertolini F.. Circulating endothelial progenitors are increased in COVID-19 patients and correlate with SARS-CoV-2 RNA in severe cases / P. Mancuso, A. Gidaro, G. Gregato, A. Raveane, P. Cremonesi, J. Quarna, S. Caccia, L. Gusso, S. Rusconi, A. Giacomelli, C. Cogliati, & F. Bertolini. – DOI: 10.1111/jth.15044 // Journal of thrombosis and haemostasis. – 2020. – Vol. 18(10). – P. 2744–2750 – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32762140/> (date of the application: 18.10.2020).
6. Rossouw T.M., Anderson R., Manga P., Feldman C.. Emerging Role of Platelet-Endothelium Interactions in the Pathogenesis of Severe SARS-CoV-2 Infection-Associated Myocardial Injury / T.M. Rossouw, R. Anderson, P. Manga, C. Feldman. – DOI: 10.3389/fimmu.2022.776861 // Frontiers in immunology. – 2022. – Vol. 13. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35185878/> (date of the application: 04.02.2022).
7. Batu E.D., Özen S.. Implications of COVID-19 in pediatric rheumatology / E.D. Batu, S.

- Özen. – DOI: 10.1007/s00296-020-04612-6 // Rheumatology international. – 2020. – Vol. 40(8). – P. 1193–1213 – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32500409/> (date of the application: 04.06.2020).
8. Ribeiro L.S., Migliari Branco L., Franklin B.S.. Regulation of Innate Immune Responses by Platelets. Front Immunol / L.S. Ribeiro, L. Migliari Branco, B.S. Franklin. – DOI:10.3389/fimmu.2019.01320 // Front Immunol. – 2019. – Vol. 10 (1320). – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31244858/> (date of the application: 11.06.2019).
9. Porter C., Favara M., Hittmeyer A., Scott D., Sánchez Jiménez A., Ellanki R., Woldehanna T., Duc L. T., Craske M. G., Stein A.. Impact of the COVID-19 pandemic on anxiety and depression symptoms of young people in the global south: evidence from a four-country cohort study / C. Porter, M. Favara, A. Hittmeyer, D. Scott, A. Sánchez Jiménez, R. Ellanki, T. Woldehanna, L. T. Duc, M. G. Craske, A. Stein. – DOI: 10.1136/bmjopen-2021-049653 // BMJ Open. – 2021. – Vol. 11(4). – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33858874/> (date of the application: 15.04. 2021).

УДК: 616 – 092.4 – 008: 612.751.3

Бокова Ю.А., Степанова Ю.Н., Цыбиков Н.Н.

**НЕКОТОРЫЕ МЕХАНИЗМЫ КОАГУЛОПАТИИ У БОЛЬНЫХ
ТУБЕРКУЛЕЗОМ ОРГАНОВ ДЫХАНИЯ И КОИНФЕКЦИЕЙ ТУБЕРКУЛЕЗ
И ВИЧ-ИНФЕКЦИЕЙ**

ФГБОУ ВО Читинская государственная медицинская академия, Чита, Россия

***Резюме.** Туберкулез назван «главным убийцей» людей, живущих с вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ). Высокая частота тромбозов и кровотечений у названных групп больных представляет максимальный интерес в изучении. Важным для изучения является компонент антикоагуляции тромбомодулин, а среди тромбогенных соединений – тканевой фактор. Есть все основания полагать, что композиция этих соединений может выступать триггером тромбозов и кровотечений. Целью исследования стало изучение некоторых механизмов коагулопатии у пациентов с туберкулезом органов дыхания и туберкулезом на стадии вторичных заболеваний ВИЧ инфекции. Результаты исследования указывают на то, что у пациентов с ВИЧ инфекцией регистрируется, в основном, нормальные показатели коагулограммы, за исключением сокращения активированного частичного тромбoplastинового времени (АЧТВ), протромбинового времени (ПВ) и уровня фибриногена.*

***Ключевые слова:** туберкулез, ВИЧ-инфекция, коагулопатии, коагулограмма.*

Bokova Yu.A., Stepanova Yu.N., Tsybikov N.N

SOME MECHANISMS OF COAGULOPATHY IN PATIENTS WITH RESPIRATORY TUBERCULOSIS AND TUBERCULOSIS AND HIV COINFECTION

Chita State Medical Academy, Chita, Russia

Abstract. *Tuberculosis is called the "main killer" of people living with the human immunodeficiency virus (HIV). The high frequency of thrombosis and bleeding in these groups of patients is of greatest interest in study. The anticoagulation component thrombomodulin is important for study, and among thrombogenic compounds - tissue factor. There is every reason to believe that the composition of these compounds can act as a trigger for thrombosis and bleeding. The aim of the study was to study some mechanisms of coagulopathy in patients with tuberculosis of the respiratory organs and tuberculosis at the stage of secondary diseases of HIV infection. The results of the study indicate that patients with HIV infection mainly have normal coagulogram parameters, with the exception of a decrease in activated partial thromboplastin time (APTT), prothrombin time (PT) and fibrinogen levels.*

Key words: *tuberculosis, HIV infection, coagulopathy, coagulogram.*

Введение. Туберкулез уже не одно десятилетие остается актуальной проблемой мирового сообщества. Несмотря на большие усилия, заболеваемость туберкулезом в России остается на высоком уровне [1]. В 2021 году она составила 31,2 на 100 тыс. населения [2], в 2022 году – 31,11 на 100 тыс. населения [3]. Отмечается снижение заболеваемости 2010 по 2019 годы со средними темпами снижения в 5,7% в год [2]. Вместе с тем за последние 10 лет в России отмечалось широкое распространение туберкулеза среди пациентов с ВИЧ-инфекцией: в 2010-2019 годах заболеваемость туберкулезом в сочетании с ВИЧ-инфекцией возросла в 1,8 раза и в 2019 году составила 8,4 на 100 тыс. населения [4]. За последние три года ко-инфекция туберкулез/ВИЧ-инфекция представляет одну из самых значимых и актуальных проблем здравоохранения, так как ВИЧ-инфекция является основным фактором развития туберкулеза, что в свою очередь связано с нарушением функции CD4 лимфоцитов, которые играют важную роль в борьбе с микобактерией туберкулеза. Туберкулез назван «главным убийцей» людей, живущих с вирусом иммунодефицита человека. При выраженном иммунодефиците, когда количество CD4 лимфоцитов снижается до 300 и менее клеток, туберкулез характеризуется атипичным течением, генерализацией поражения (центральная нервная система, лимфатические узлы, кости), многообразием клинических проявлений, трудностью дифференциальной диагностики и в результате высокой частотой летальных исходов. Гематологические нарушения при ко-инфекции туберкулез/ВИЧ-инфекция (ТБ/ВИЧ) появляются спустя месяц заболевания и проявляются в виде тяжелой анемии, тромбоцитопении, увеличением скорости оседания эритроцитов, что абсолютно нехарактерно для классического течения туберкулезного процесса у лиц, не инфицированных ВИЧ. В свою очередь, в кровотоке больных туберкулезом, вирусом иммунодефицита человека и ко-инфекции туберкулез/ВИЧ циркулируют высокие концентрации эндотоксинов микобактерии туберкулеза (МБТ), а также иных представителей микробиоты. Известно, что липополисахариды микроорганизмов

повреждают сосудистую стенку, что сопровождается развитием эндотелиальной дисфункции (ЭД). Общепринято, что все маркеры эндотелиальной дисфункции делятся на большие группы: вазомоторные, гемостатические, адгезионные и ангиогенные. С учетом высокой частоты тромбозов и кровотечений у названных групп больных, максимальный интерес представляет гемостатическая группа ЭД. Гемостатические маркеры ЭД в свою очередь, делятся на 2 группы, первая из которых определяет тромборезистентность, а вторая группа - тромбогенность сосудистой стенки. Представители первой группы: оксид азота, простациклин, простагландин, тромбомодулин, ингибитор пути тканевого фактора, тканевой активатор плазминогена, урокиназа, рецепторы для плазминогена и урокиназы, антитромбин III, аннексин А5. Вторая группа представлена: фактором Виллебранда, тканевым фактором и ингибиторами активатора плазминогена. Максимальный интерес для нас представляет тромбомодулин, а среди тромбогенных соединений – тканевой фактор. Есть все основания полагать, что композиция этих соединений может выступать триггером, как тромбозов, так и кровотечений у больных туберкулезом, ВИЧ-инфекцией и ко-инфекцией ТБ/ВИЧ. Возможно, что срыв механизмов регуляции системы гемостаза наступает из-за дисбаланса аутоантител, направленных против активных факторов свертывания крови [5]. В том числе и не исключается возможность повышения аутоантител к факторам свертывания крови.

Цель. Изучить некоторые механизмы коагулопатии у больных туберкулезом органов дыхания и ко-инфекции ТБ/ВИЧ.

Методы исследования. В исследование было включено 92 неродственных пациента в возрасте от 18 до 60 лет, находящихся на стационарном лечении в ГБУЗ Забайкальском краевом клиническом фтизиопульмонологическом центре (ЗККФПЦ), состоящих на диспансерном учете в ОПЦ СПИД г. Чита. Все больные были поделены на группы. Группу 1 составили больные, имеющие туберкулез органов дыхания, группу 2 пациенты с ко-инфекцией ТБ/ВИЧ-инфекция. Группа 3 – контрольная группа, включающая здоровых лиц 25-30 лет, не имеющих хронических заболеваний и вирусных гепатитов в анамнезе (лабораторно подтвержденные). Критерии включения в исследование: возраст 18-60 лет, подтвержденный туберкулез органов дыхания, наличие или отсутствие ВИЧ-инфекции. Критерии не включения в исследование: тяжелая сопутствующая патология. Для исследования, у пациентов из вышеперечисленных групп, производился забор крови в день поступления, на 4 и 8 неделю лечения в стационаре. Полученную цитратную плазму, плазму с ЭДТА исследовали в указанные сроки. Определяли следующие показатели: активированное тромбoplastическое время (АЧТВ), международное нормализованное отношение (МНО), протромбиновое время (ПВ), тромбиновое время (ТВ), фибриноген, Д-димер и проводили общий анализ крови. Для ИФА исследования забор крови осуществлялся также в вышеперечисленные сроки, для исследования крови применялись следующие наборы: набор для определения антител к фактору коагуляции II, набор для определения тканевого фактора (TF) и набор для определения тромбомодулина (TM).

Статистические методы исследования: метод описательной статистики, процедура множественных сравнений с использованием критериев Крускалла-Уоллиса и Двасс-Стил-Кричлоу-Флигнер, в случае, когда тест Крускалла-Уоллиса показывал наличие статистически значимых различий между группами, проводилась процедура

множественных попарных сравнений Двасс-Стил-Кричлоу-Флигнер. Статистически значимыми считались данные при количественной характеристике случайностей (р-значение) менее 0,05. Количественные данные представлены в виде медианы (МЕ) 25-й 75-й квартилей.

Полученные результаты. Установлено, что статистически значимых изменений в коагулограмме, кроме увеличения АЧТВ у исследуемых групп не наблюдалось. Также важно отметить, что у больных с обширными деструктивными процессами в легких уровень фибриногена и протромбинового времени значительно выше, чем при туберкулезных процессах, не сопровождающихся деструктивными изменениями ($p=0,05$). Данный факт зарегистрирован и у исследуемых больных с коинфекцией ТБ/ВИЧ. Увеличение уровня фибриногена и протромбинового времени ассоциированы с выраженностью иммуносупрессии, определяемой количеством CD4 лимфоцитов. При анализе дисфункции эндотелия у больных туберкулезом и ТБ/ВИЧ, было отмечено, что уровень маркеров ЭД (тромбомодулин, тканевой фактор, антитела к фактору коагуляции Па) был изменен как у больных с выраженной иммуносупрессией $CD4 < 100$ кл/мкл. и обширными деструктивными процессами, так и у пациентов с небольшим поражением легочной ткани и уровнем $CD4 > 100$ кл/мкл. У пациентов на этапе поступления в стационар с туберкулезом органов дыхания было отмечено увеличение в плазме крови маркеров эндотелиальной дисфункции: уровень тромбомодулина был в 3,3 раза выше (45,90 нг/мл; $p < 0,01$), тканевого фактора в 8,8 раза больше (260 пк/мл; $p < 0,001$), чем в группе контроля. У пациентов с ТБ/ВИЧ также на этапе поступления в стационар отмечалось увеличение в плазме крови маркеров эндотелиальной дисфункции. В сравнении с группой контроля уровень тромбомодулина был выше в 3,6 раз (49,60 нг/мл; $p < 0,01$), тканевой фактор выше в 11,4 раза (334 пк/мл; $p < 0,001$). Исследование уровня антител к фактору коагуляции Па оказалось статистически незначимым.

Выводы. У больных туберкулезом и коинфекцией ВИЧ/ТБ на этапе поступления в стационар в коагулограмме зарегистрировано удлинение АЧТВ, ПВ, повышение уровня фибриногена.

У пациентов с туберкулезом органов дыхания и проявлением микобактериальной инфекции на поздних стадиях ВИЧ-инфекции увеличен уровень тромбомодулина и тканевого фактора.

Список литературы:

1. Лебедева Д.В., Полякова А.С. Туберкулез множественных локализаций: туберкулез органов дыхания с поражением центральной нервной системы. Вестник ЦНИИТ. 2021. S1. 110-111. <https://doi.org/10.7868/S2587667821050484>.
2. Министр здравоохранения РФ Михаил Мурашко: Заболеваемость туберкулезом в РФ удерживается на историческом минимуме: официальный сайт. Москва. URL: <https://minzdrav.gov.ru/news/2022/03/24/18525-ministr-zdravoohraneniya-rf-mihail-murashko-zabolevaemost-tuberkulezom-v-rf-uderzhivaetsya-na-istoricheskom-minimуме>. (дата обращения 25.06.2023).
3. Роспотребнадзор напоминает о значимости специфической профилактики туберкулеза: официальный сайт. Санкт-Петербург. URL: <https://47.rospotrebnadzor.ru/>

[cobtent/роспотребнадзор-напоминает-о-значимости-специфической-профилактики-туберкулеза](#). (дата обращения 25.06.2023).

4. Цыбикова Э.Б. Туберкулез, сочетанный с ВИЧ-инфекцией, в России в период до и во время пандемии COVID-19. ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. 2022. 14(4). 29-35. 9828-2022-14-4-29-35.
5. Цыбиков Н.Н. Материалы по взаимосвязи иммуногенеза и гемостаза в эксперименте: специальность 14.03.00 «Медико-биологические науки»: автореферат диссертации на соискание ученой степени доктора медицинских наук /Н.Н. Цыбиков. –Ленинград, 1983.-40с.-EDN HXQQEH.

616-006.04 – 092:612.017

Болотов Э.С., Четверяков А.В., Терешков П.П., Фефелова Е.В., Каюкова Е.В.

ЛОКАЛЬНЫЙ УРОВЕНЬ БЕЛКОВ ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ИММУННОГО ЦИКЛА В РЕГИОНАРНЫХ ЛИМФАТИЧЕСКИХ УЗЛАХ У БОЛЬНЫХ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ И КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКА

ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия», Чита, Россия

Резюме. Изучался локальный уровень белков противоопухолевого иммунного цикла в регионарных лимфатических узлах у больных раком молочной железы и колоректальным раком. Показано изменение PD-L1, CTLA-4, Galectin-9, LAG-3 и Tim-3 является одним из возможных механизмов развития иммунологической толерантности при злокачественных новообразованиях и их возможную роль в лимфогенном метастазировании.

Ключевые слова: противоопухолевый иммунный цикл, контрольные точки иммунитета, цитокины, рак.

Bolotov E.S., Chetveryakov A.V., Tereshkov P.P., Fefelova E.V., Kayukova E.V.

LOCAL LEVEL OF ANTITUMOR IMMUNE CYCLE PROTEINS IN REGIONAL LYMPH NODES IN BREAST CANCER AND COLORECTAL CANCER PATIENTS

Chita State Medical Academy, Chita, Russia

Abstract. The local level of antitumor immune cycle proteins in regional lymph nodes in breast cancer and colorectal cancer patients was studied. The change in PD-L1, CTLA-4, Galectin-9, LAG-3 and Tim-3 is shown to be one of the possible mechanisms for the development of immunological tolerance in malignant neoplasms and their possible role in lymphogenous metastasis.

Keywords: antitumor immune cycle, immune checkpoints, cytokines, cancer.

В 2013 году Melman I. и Chen D.S. сделали открытие в иммунобиологии онкологических заболеваний, что возобновило интерес к этой области. Они дали понятие: «Противоопухолевый иммунный цикл (ПИЦ) представляет ряд молекулярных событий между клетками иммунной системы и опухолевыми клетками, направленных на распознавание и их дальнейшую элиминацию» [1]. Основная идея заключается в

том, что иммунная система может распознавать и уничтожать злокачественные клетки, если она получает необходимые сигналы. Однако опухолевые клетки могут развивать механизмы уклонения от иммунного ответа, что делает этот процесс менее эффективным [2]. Таким образом, понимание взаимодействий между опухолью и иммунной системой способствовало усилению интереса к иммунотерапии, которая влияет на усиление противоопухолевого ответа организма.

Иммунологические контрольные точки — это молекулы, которые играют ключевую роль в регуляции активности иммунной системы. Они могут подавлять либо усиливать иммунный ответ, обеспечивая баланс между активацией иммунитета и его подавлением. Содружественная работа между ингибирующими и стимулирующими сигналами является источником иммунного ответа в организме человека против различных процессов, в том числе опухолевого [3].

Ко-стимулирующие контрольные точки иммунитета: 4-1BB, B7.2. Молекулы 4-1BB и B7.2 играют важные роли в регуляции иммунного ответа на опухолевые клетки. Их функция усиливает активацию Т-клеток, что способствует усилению иммунного ответа [3, 4].

Ко-ингибирующие контрольные точки иммунитета: CD25, PD-1, PD-L1, CTLA-4, TGF-beta, LAG-3, Tim-3, Galectin-9. Основная роль этих молекул состоит в создании и поддержании иммуносупрессивной среды в микроокружении, что приводит к подавлению иммунного ответа против опухолевых клеток [3, 4].

Рак молочной железы (РМЖ) занимает ведущее место среди злокачественных опухолей у женщин во всем мире. В эпидемиологии практически каждая 8 женщина имеет риск заболеть РМЖ. Количество случаев РМЖ составило в мире 2,296,840 случаев, что составляет 2-е место в структуре заболеваемости [5]. В России в 2023 году показатель заболеваемости составил 56 случая на 100 000 населения, выявлено всего 81 784 случая рака молочной железы, что составило 19,1% всех пациентов со злокачественными новообразованиями и 20,8% всех пациентов со злокачественными новообразованиями. В Забайкальском крае показатель заболеваемости составил 486 случая за 2023 год, 49 случая на 100 000 населения, что в среднем на 14% ниже чем в РФ [6]. Рак молочной железы делится на несколько молекулярных подтипов, которые помогают определить подходы к лечению и прогноз. Основные молекулярные подтипы включают РМЖ: 1) Люминальный А, характеризующийся высокой экспрессией гормональных рецепторов и низкой пролиферацией, что обычно обеспечивает хороший прогноз и высокую чувствительность к гормональной терапии; 2) Люминальный В, который имеет более высокую пролиферацию и может быть менее чувствительным к гормональной терапии; 3) HER2-позитивный (HER2+), который может быть как гормонально-позитивным, так и гормонально-отрицательным, и требует таргетной терапии, но имеет более агрессивное течение; 4) Тройной негативный РМЖ (ТНРМЖ), который не экспрессирует рецепторы эстрогена, прогестерона и HER2 [7]. Особенно выделяется тройной негативный рак молочной железы (ТНРМЖ), который характеризуется негативной экспрессией рецепторов эстрогена, прогестерона и HER2. Это делает его не поддающимся гормональной терапии и таргетной терапии с использованием HER2-ингибиторов [8].

В последние годы было установлено, что PD-L1 (программируемый лиганд смерти

1) часто экспрессируется на поверхности опухолевых клеток при ТНРМЖ. PD-L1 взаимодействует с рецептором PD-1 на Т-лимфоцитах, подавляя их активацию и способствуя уклонению опухоли от иммунного ответа. Изучение механизма регулирующей роли PD-L1 в ТНРМЖ открыло новые горизонты для иммунотерапии [9].

Колоректальный рак (КРР) занимает одно из ведущих мест среди злокачественных опухолей как у мужчин, так и у женщин. В мире КРР занимает 3 место среди онкологических заболеваний, всего выявлено 1 926 425 случаев в 2022 году. В Российской Федерации показатель заболеваемости КРР составил 22 случая на 100 000 населения в 2023 году [5]. В Забайкальском крае показатель заболеваемости составил 16 случаев на 100 000 населения, всего выявлен 33082 случая в 2023г. Среди КРР выделяют: 1. Дикие раки (Wild-type tumors) обычно относятся к опухолям, которые имеют нормальные ("дикие") версии ключевых онкогенов и супрессоров опухолей, таких как KRAS, NRAS и BRAF. Опухоли с нормальной версией гена KRAS, которые не имеют мутаций, могут лучше реагировать на некоторые целевые терапии, такие как ингибиторы EGFR (например, цетуксимаб). 2. Мутантные раки относятся к опухолям, которые имеют мутации в ключевых генах, что может влиять на их поведение, прогноз и ответ на лечение. 3. Микросателлитовая нестабильность. КРР с MSI-H (высокая микросателлитная нестабильность): опухоли имеют значительное количество мутаций, как правило, лучше реагируют на иммунотерапию, особенно на ингибиторы контрольных точек, такие как PD-1/PD-L1 ингибиторы. MSI-L (низкая микросателлитная нестабильность) – КРР имеет менее выраженные мутации и соответственно слабый ответ на иммунотерапию [10, 11].

Для РМЖ и КРР характерно лимфогенное метастазирование. Пораженные ЛУ являются важным механизмом распространения опухолевого процесса. Важно учитывать, что наличие метастазов в лимфатических узлах обычно является признаком более агрессивного течения заболевания и влияет на прогноз и тактику лечения. Т-регуляторные лимфоциты, выделяющие TGF-beta в лимфатических узлах, подавляют цитотоксическую активность CD8+ Т-клеток, что способствует росту опухоли в моделях мышей рака молочной железы [12]. Изменения параметров контрольных точек, предположительно, является важным маркером прогноза пациентов со злокачественными новообразованиями, следовательно, их изучение поможет понять механизмы иммунологической толерантности. Данные изменения плохо изучены в регионарных ЛУ при РМЖ и КРР. Исследования показывают, что повышенная экспрессия контрольных точек может коррелировать с плохим прогнозом и низкой жизнеспособностью опухолевых клеток.

Цель исследования: изучить локальный уровень белков ПИЦ в регионарных ЛУ у больных РМЖ и КРР.

Материалы и методы исследования.

В проспективном исследовании участвовали 8 первичных больных женщин с морфологически подтвержденным диагнозом РМЖ IA-IIIА стадии и 28 пациентов КРР I-IV стадии. Средний возраст пациентов составил 60,4 [51,4; 69,4] лет. От всех участников исследования было получено добровольное информированное согласие на проводимое исследование. В работе соблюдались этические принципы, предъявляемые Хельсинской Декларацией Всемирной Медицинской Ассоциации (World Medical Association Declaration

of Helsinki 1964, 2013 – поправки).

Материал исследования – регионарные ЛУ, полученные у пациентов РМЖ и КРР после стандартной лимфоаденоэктомии с удалением (резекцией) молочной железы и удалением части толстой кишки с окружающими лимфатическими узлами. Полученные ЛУ взвешивали, гомогенизировали. В гомогенате методом проточной цитофлуориметрии (проточный цитофлюориметр "Cytomics FC-500" (Beckman Coulter, USA)) определяли sCD25, 4-1BB, B7.2, CTLA-4, TGF-beta, PD-L1, PD-1, Tim-3, LAG-3, Galectin-9 (панель HU Immune Checkpoint Panel 1 - S/P (10-plex) w/FP (Канада)). Затем осуществляли перерасчет концентрации вещества на 1 грамм ткани.

Обсчет результатов проводили с помощью программы Jamovi версия 2.3. Перед началом анализа вариационные ряды тестировались на нормальность, при помощи критерия Шапиро-Уилка. Учитывая распределение признаков, отличное от нормального, полученные данные представлены в виде медианы, межквартильным интервалом (25-го; 75-го перцентилей). Сравнение количественных признаков выполняли с применением критерия Краскела-Уоллиса (H). При наличии статистически значимых различий с учетом поправки Бонферрони, проводилось попарное сравнение с помощью критерия Двасса-Стила-Кричлоу-Флигнера. Взаимосвязи оценивали с использованием корреляционного анализа Спирмена.

Результаты

В ходе нашего исследования мы обнаружили статистически значимые различия для следующих биомаркеров: PD-L1, CTLA-4, Tim-3 ($p < 0.05$), а также для Galectin-9 и LAG-3 ($p < 0.001$) (табл. 1)

Таблица 1

Показатели контрольных точек иммунного ответа в гомогенатах ткани лимфоузлов у больных различными видами раков

Показатели пг/г. ткани	Гомогенат лимфоузлов у пациентов с РМЖ	Гомогенат лимфоузлов у пациентов с КРР	Тест Краскал-Уоллиса ($X^2; p$)
sCD25	430 (202,0; 6518)	1500 (883,0; 3992)	$X^2 = 1,64$ $p = 0,201$
4-1BB	208 (64.3; 285)	175 (163; 270)	$X^2 = 0.095$ $p = 0.758$
B7.2	159 (138; 293)	337 (182; 893)	$X^2 = 3.27$ $p = 0.071$
CTLA-4	28.1 (23.5; 39.3)	87.6 (63.8; 130)	$X^2 = 12.14$ $p = 0.001$
TGF-beta	226 (173; 315)	130 (37.0; 261)	$X^2 = 2.66$ $p = 0.103$
PD-L1	454 (248; 1112)	198 (73.2; 529)	$X^2 = 5.4641$ $p = 0.019$
PD-1	893 (224; 3441)	640 (378; 766)	$X^2 = 0.7022$ $p = 0.402$
Tim-3	2261 (151; 6280)	6566 (2996; 16964)	$X^2 = 9.8057$ $p = 0.002$

LAG-3	29.2 (9.74; 38.0)	629 (373; 1125)	$X^2 = 27.54$ $p = 0.001$
Galectin-9	171524 (109025; 577680)	7607 (5197; 17953)	$X^2 = 18.3024$ $p = 0.001$

Наиболее выраженное влияние среди исследуемых биомаркеров оказал Galectin-9, уровень которого повышен в 22,5 раза при у пациентов РМЖ по сравнению КРР.

Кроме того, уровень LAG-3 значительно превышает значение у пациентов с КРР, увеличиваясь в 21,5 раза.

PD-L1 повышен в группе у пациентов с РМЖ в 2,3 раза. А CTLA-4 больше у пациентов с КРР по сравнению РМЖ. Также получена статистическая значимость по Tim-3 в группе с КРР больше в 2,9 раза.

Статистической значимости не выявлены для показателей: sCD25, 4-1BB, B7.2, TGF-beta, PD-1. Это подчеркивает важность изучения этих биомаркеров для понимания патогенеза злокачественных новообразований, что может открыть новые горизонты для дальнейших исследований и клинического применения в онкологии. Рекомендуется рассмотреть Galectin-9 и LAG-3 в качестве ключевых биомаркеров для понимания механизмов возникновения лимфогенного метастазирования и их роль в прогрессировании.

Механизмы регуляции ПИЦ остаются не раскрытыми и подлежат дальнейшему изучению, особенно их статус в регионарных лимфатических узлах.

Выводы.

Исследование выявило статистически значимые различия в уровнях биомаркеров в лимфатических узлах у пациентов с РМЖ и КРР. Это подчеркивает важность изучения этих биомаркеров для понимания патогенеза обоих типов рака.

Список литературы:

1. Chen D.S., & Mellman I. Oncology meets immunology: the cancer-immunity cycle / D.S. Chen. – DOI:10.1016/j.immuni.2013.07.012 // Immunity. – 2013. – Vol. 39 (1). – P. 1-10. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23890059> (date of the application: 18.10.2024).
2. Ghorani E., Swanton C., & Quezada S.A. Cancer cell-intrinsic mechanisms driving acquired immune tolerance / E. Ghorani – DOI: 10.1016/j.immuni.2023.09.004. // Immunity. – 2023. – Oct 10. – Vol. 56 (10). – P. 2270-2295. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37820584/> (date of the application: 18.10.2024).
3. Rui R., Zhou L., & He S. Cancer immunotherapies: advances and bottlenecks / R. Rui. – DOI: 10.3389/fimmu.2023.1212476 // Front Immunol. – 2023. – Aug 24. – Vol. 14. – P. 1212476. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37691932/> (date of the application: 18.10.2024).
4. Tay C., Tanaka A., Sakaguchi S. Tumor-infiltrating regulatory T cells as targets of cancer immunotherapy / C. Tay. – DOI: 10.1016/j.ccell.2023.02.014 // Cancer Cell. – 2023. – Vol. 41 (3). – P. 450-465. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36917950> (date of the application: 18.10.2024)
5. Bray F., Laversanne M., Sung H., Ferlay J., Siegel R.L., Soerjomataram I., Jemal A. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36

- cancers in 185 countries / F. Bray. – DOI: 10.3322/caac.21834 // CA Cancer J Clin. – 2024. – Vol. 74(3). – P. 229-263. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38572751> (date of the application: 18.10.2024).
6. Каприн А.Д. Злокачественные новообразования в России в 2023 году (заболеваемость и смертность) / под ред. А.Д. Каприна [и др.]. – М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2024. – илл. – 276 с. – URL: <https://oncology-association.ru/wp-content/uploads/2024/08/zis-2023-elektronnaya-versiya.pdf> (date of the application: 18.10.2024)
7. Gradishar W.J., Moran M.S., Abraham J., Abramson V., Aft R., Agnese D., Allison K.H., Anderson B., Bailey J., Burstein H.J., Chen N., Chew H., Dang C., Elias A.D., Giordano S.H., Goetz M.P., Jankowitz R.C., Javid S.H., Krishnamurthy J., Leitch A.M., Lyons J., McCloskey S., McShane M., Mortimer J., Patel S.A., Rosenberger L.H., Rugo H.S., Santa-Maria C., Schneider B.P., Smith M.L., Soliman H., Stringer-Reasor E.M., Telli M.L., Wei M., Wisinski K.B., Yeung K.T., Young J.S., Schonfeld R., Kumar R. Breast Cancer, Version 3.2024, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology / W.J. Gradishar. – DOI: 10.6004/jnccn.2024.0035 // J Natl Compr Canc Netw. – 2024. – Vol – 22(5). – P. 331-357. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39019058> (date of the application: 20.10.2024)
8. Adrada B.E., Moseley T.W., Kapoor M.M., Scoggins M.E., Patel M.M., Perez F., Nia E.S., Khazai L., Arribas E., Rauch G.M., Guirguis M.S. Triple-Negative Breast Cancer: Histopathologic Features, Genomics, and Treatment / B.E. Adrada. – DOI: 10.1148/rg.230034 // Radiographics. – 2023. – Vol. 43 (10). – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37792593/> (date of the application: 20.10.2024)
9. Liu Y., Hu Y., Xue J., Li J., Yi J., Bu J., Zhang Z., Qiu P., Gu X. Advances in immunotherapy for triple-negative breast cancer / Y. Liu. – DOI: 10.1186/s12943-023-01850-7 // Mol Cancer. – 2023. – Vol. 22 (1). – P. 145. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37660039/> (date of the application: 20.10.2024)
10. Flecchia C., Zaanan A., Lahlou W., Basile D., Broudin C., Gallois C., Pilla L., Karoui M., Manceau G., Taieb J. MSI colorectal cancer, all you need to know / C. Flecchia. – DOI: 10.1016/j.clinre.2022.101983 // Clin Res Hepatol Gastroenterol. – 2022. – Vol. 46 (9). – P. 101983 – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35732266/> (date of the application: 20.10.2024)
11. Bando H., Ohtsu A., Yoshino T. Therapeutic landscape and future direction of metastatic colorectal cancer / H. Bando. – DOI: 10.1038/s41575-022-00736-1 // Nat Rev Gastroenterol Hepatol. – 2023. – Vol. 20 (5). – P. 306-322. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36670267/> (date of the application: 20.10.2024)
12. Fransen M.F., van Hall T., Ossendorp F. Immune Checkpoint Therapy: Tumor Draining Lymph Nodes in the Spotlights / M.F. Fransen. – DOI: 10.3390/ijms22179401 // Int J Mol Sci. – 2021. – Vol. 22 (17). – P. 9401. – URL: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8431673/> (date of the application: 20.10.2024)

УДК 579.61

Борисенко А.Ю., Арефьева Н.А., Джиоев Ю.П., Большедворская П.М.
**ПОИСК И АНАЛИЗ РАЗНООБРАЗИЯ ФАГОВ, ВЫЯВЛЯЕМЫХ ЧЕРЕЗ
CRISPR/CAS-СИСТЕМЫ В ГЕНОМАХ SALMONNELLA ENTERICA
МЕТОДАМИ БИОИНФОРМАТИКИ**

*ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава
России, Иркутск, Россия.*

***Резюме.** Проблема устойчивости патогенных бактерий к антибиотикам стала глобальной и поэтому вновь возник интерес к применению бактериофагов. В работе при помощи методов биоинформатики у 86 штаммов *S. enterica* из базы данных NCBI GenBank, были обнаружены локусы CRISPR I-E типа. Обнаруженные кассеты CRISPR и выявленные в них спейсеры позволили установить генетическое влияние ряда фагов на популяцию сальмонелл. Полученные данные являются стартом для разработки технологии эффективной таргетной фаговой терапии бактериальных сальмонеллезных инфекций, циркулирующих среди человека и животных.*

***Ключевые слова:** *Salmonella enterica*, биоинформационные методы, CRISPR, спейсеры, повторы, протоспейсеры, бактериофаги.*

Borisenko A.Yu., Arefyeva N.A., Dzhioev Yu.P., Bolshedvorskaya P.M.
**SEARCH AND ANALYSIS OF THE DIVERSITY OF PHAGES DETECTED
THROUGH CRISPR/CAS SYSTEMS IN SALMONNELLA ENTERICA GENOMES
BY BIOINFORMATICS METHODS**
Irkutsk State Medical University, Irkutsk, Russia.

***Resume.** The problem of resistance of pathogenic bacteria to antibiotics has become global and therefore there is renewed interest in the use of bacteriophages. Using bioinformatics methods, 86 strains of *S. enterica* from the NCBI GenBank database were found to have CRISPR type I-E loci. The discovered CRISPR cassettes and the spacers identified in them made it possible to establish the genetic influence of a number of phages on the salmonella population. The data obtained are the start for the development of a technology for effective targeted phage therapy of bacterial salmonella infections circulating among humans and animals.*

***Keywords:** *Salmonella enterica*, bioinformatic methods, CRISPR, spacers, repeats, protospacers, bacteriophages.*

Сальмонеллы представляют собой факультативно-анаэробные грамотрицательные палочковидные бактерии, подвижные с помощью перитрихИАльных жгутиков. Род *Salmonella* колонизирует почти всех теплокровных и хладнокровных животных [5, 6]. В последние годы особо опасными стали сальмонеллы вида *S. enterica*, приобретшие множественную лекарственную устойчивость (МЛУ) к современным антибиотическим препаратам. Согласно критериям Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), бактерии считаются МЛУ, если они проявляют устойчивость к трем или более чем трем классам антибиотиков [14]. МЛУ сальмонелл в этой группе определяется как

корезистентность к антибиотикам первой линии: ампициллину, хлорамфениколу и триметоприму/сульфаметоксазолу [8]. Данная картина развития МЛУ сальмонелл также подтверждается интенсивным использованием антибиотиков в сельском хозяйстве для выращивания свиней, кур, крупно-рогатого скота. Кроме этого отмечается, что загрязнение окружающей среды имеет прямое отношение к присутствию устойчивых к антибиотикам сальмонелл в свежих продуктах [12].

Анализ литературы показывает, что сегодня основными способами борьбы с возбудителем кишечных инфекций являются повышение доз и разработка новых поколений антибиотиков. На основании этого вновь актуальным становится вопрос о применении фаготерапии против кишечных инфекций [2]. Появляется все больше работ, в которых проводятся исследования по скринингу фаговых видов с целевыми свойствами против конкретных бактериальных патогенов, что указывает на постепенный переход к фаговой терапии, приходящей на смену антибиотиковой эры [4, 7, 10]

Существуют данные о разнообразии в типах CRISPR, входящих в состав генома *S. enterica* [1]. Опираясь на уже существующие знания о строении данной системы в уже изученных бактериях, предполагается, что исследование спейсерных последовательностей в CRISPR-кассетах укажет на степень защиты бактерии от бактериофагов. Исходя из вышеизложенного, целью исследования являлось изучение разнообразия CRISPR систем в геномах штаммов *S. enterica* из международной базы данных NCBI посредством биоинформационных программ, и оценка возможностей идентификации фагов через спейсеры в CRISPR-кассетах, с которыми эти штаммы встречались и способны от них защищаться.

Материалы и методы. Материалом для исследования служили 86 геномов штаммов *Salmonella enterica* из базы данных GenBank (NCBI). Список исследуемых представлен в таблице 2 в приложении.

Для определения позиций рамок считывания в исследуемых геномах была использована программа Prodigal 2.6.3. Программа MacSyFinder v. 2., работающая на базе поискового алгоритма HMM v. 3.3.2, была использована для выявления генов Cas.

Для получения нуклеотидных последовательностей CRISPR повторов и спейсеров, а также их позиций в геномах, применялась программа PILER-CR с минимальными и максимальными ограничениями на длину спейсера и повторами 11 и 40 нуклеотидов соответственно.

Поиск протоспейсеров фагов проводился при помощи алгоритма BLASTn и в базе данных MycobacteriophageDatabase (<https://phagesdb.org/data/>). Параметры BLASTn: `evaluate 0.1, word_size 8`

Биоинформатический алгоритм идентификации локуса CRISPR представлен на рис.1.



Рисунок 1. Биоинформатический алгоритм поиска и анализа CRISPR-Cассистем в геномах бактерий

Результаты и обсуждение. В результате поиска генов Cas в 449 штаммах из базы данных GenBank было определено, что CRISPR система относится к типу I-E. В каждом анализируемом штамме присутствовали гены Cas. Для каждого гена была получена информация о его последовательности и расположении в анализируемых геномах исследуемых штаммов сальмонелл. Неоднородности строения и разнообразия CRISPR-Cас систем обнаружено не было (рис.2).



Рисунок 2. Общая схема строения CRISPR локуса *Salmonella enterica*

Идентификацию последовательностей повторов в CRISPR-последовательностях проводили при помощи программы PILER-CR. В идентифицированных локусах содержалось от 1 до 3 кассет, количество спейсеров в них варьировало от 3 до 44. Длина консенсусного повтора, разделяющего спейсеры была равна 29 н.о (рис.3).

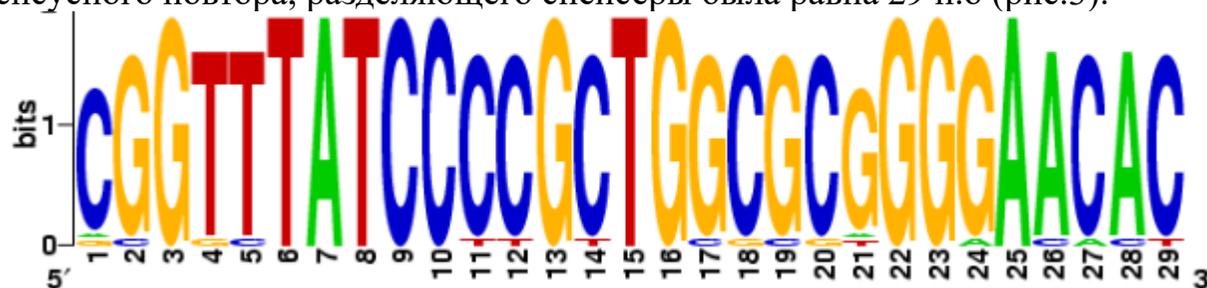


Рисунок 3. Консенсусная последовательность CRISPR-повтора

Идентификация спейсерных участков, была проведена для каждой обнаруженной последовательности. Всего было выделено 2342 спейсера. Для каждого спейсера был осуществлен поиск соответствующего протоспейсера в вирусных базах данных.

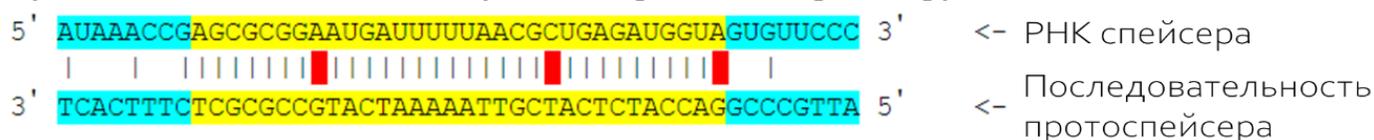


Рисунок 4. Принцип идентификации протоспейсеров фагов

В базе Mycobacteriophage Database было найдено 252 соответствующих протоспейсера, в базе данных RefSeqViral количество найденных протоспейсерных последовательностей составило 1039. Детекция протоспейсера фагов через спейсеры CRISPR последовательностей способствовала поиску соответствующих бактериофагов, к которым бактерии могут проявлять устойчивость. Установлено, что наибольшее генетическое влияние оказывали бактериофаги рода *Salmonella*- 60%, *Escherichia phage*- 18%, *Enterobacteria* - 9%, *Salmonellaphage* - 8%, *Staphylococcus phage*, *Enterococcus phage*, неизвестные бактериофаги или иные чужеродные генетические элементы - 5%. На основании вышеизложенного можно считать, что полученные результаты анализа спейсерных последовательностей CRISPR-кассет в геномах исследуемых штаммов *S. enterica* являются доказательством того, что протоспейсерами являются последовательности, отобранные в результате эволюционных взаимодействий CRISPR.

Заключение. Таким образом, результаты анализа CRISPR системы в геномах различных сероваров *S. enterica* из базы данных GenBank демонстрируют индивидуальность строения этой системы и подчеркивают необходимость использования биоинформационных инструментов в изучении вопросов перспективной фаготерапии. Полученные данные о генах и кассетах, входящих в состав CRISPR локусов, демонстрируют однородность ее строения. Вполне возможно стабильное строение CRISPR системы объясняется приспособленностью исследуемых штаммов сальмонелл к внутривидовым и межвидовым отношениям. Имеющиеся на данный момент времени косвенные данные позволяют предположить, что анализируемые штаммы *S. enterica*, циркулирующие преимущественно среди человека и животных объясняют причину однородности CRISPR систем и укоренению типа I-E в геномах бактерии. Демонстрация межвидовой защиты штаммов исследуемых сальмонелл, находящихся в одном биотопе с многочисленным семейством *Enterobacteria*, позволила убедиться в возможности межвидовой передаче защитных механизмов CRISPR систем через идентичные спейсеры. Использование полученных данных о строении CRISPR систем сальмонелл откроет новые возможности разработки технологии таргетной фаговой терапии бактериальных сальмонеллезных инфекций.

Исследование выполнено в рамках финансирования грантом Российского научного фонда, № 23-25-00520

Список литературы:

1. Johnson R, Mylona E, Frankel G. Typhoidal Salmonella: Distinctive virulence factors and pathogenesis. *Cell Microbiol.* 2018 Sep;20(9):e12939. doi: 10.1111/cmi.12939.
2. Nicholas A Feasey, Gordon Dougan, Robert A Kingsley, Robert S Heyderman, and Melita A Gordon. Invasive non-typhoidal salmonella disease: an emerging and neglected tropical disease in Africa. *Lancet.* 2012 Jun 30; 379(9835): 2489–2499. doi: 10.1016/S0140-6736(11)61752-2.
3. Shannon E Majowicz 1, Jennie Musto, Elaine Scallan, Frederick J Angulo, Martyn Kirk. The global burden of nontyphoidal Salmonella gastroenteritis. *Clin Infect Dis.* 2010 Mar 15;50(6):882-9. doi: 10.1086/650733.
4. Jilei Zhang 1, Lanjing Wei, Patrick Kelly, Mark Freeman, Kirsten Jaegerson, Jiansen Gong, Bu Xu, Zhiming Pan, Chuanling Xu, Chengming Wang. Detection of Salmonella spp. using a generic and differential FRET-PCR. *PLoS One.* 2013 Oct 16;8(10):e76053. doi: 10.1371/journal.pone.0076053.
5. Divek V T Nair, Kumar Venkitanarayanan, Anup Kollanoor Johny. Antibiotic-Resistant Salmonella in the Food Supply and the Potential Role of Antibiotic Alternatives for Control. *Foods.* 2018 Oct 11;7(10):167. doi: 10.3390/foods7100167.
6. Addisu D Teklemariam, Rashad R Al-Hindi, Raed S Albiheyri, et.al. Human Salmonellosis: A Continuous Global Threat in the Farm-to-Fork Food Safety Continuum. *Foods.* 2023 Apr 23;12(9):1756. doi: 10.3390/foods12091756.
7. Nicholas A Feasey, Gordon Dougan, Robert A Kingsley, Robert S Heyderman, Melita A Gordon. Invasive non-typhoidal salmonella disease: an emerging and neglected tropical disease in Africa. *Lancet.* 2012 Jun 30;379(9835):2489-2499. doi: 10.1016/S0140-6736(11)61752-2.
8. Kariuki S, Gordon MA, Feasey N, Parry CM. Antimicrobial resistance and management of invasive Salmonella disease. *Vaccine.* 2015 Jun 19;33 Suppl 3(0 3):C21-9. doi: 10.1016/j.vaccine.2015.03.102.
9. Kathryn Senior. Estimating the global burden of foodborne disease. *Lancet Infect Dis.* 2009 Feb;9(2):80-1. doi: 10.1016/s1473-3099(09)70008-8.
10. Alali W.Q., Thakur S., Berghaus R.D., Martin M.P., Gebreyes W.A. Prevalence and distribution of Salmonella in organic and conventional broiler poultry farms. *Foodborne Pathog. Dis.* 2010;7:1363–1371. doi: 10.1089/fpd.2010.0566.
11. Yara Seif, Erol Kavvas, Jean-Christophe Lachance, James T Yurkovich, Sean-Paul Nuccio, Xin Fang, Edward Catoi, Manuela Raffatellu, Bernhard O Palsson, Jonathan M Monk. Genome-scale metabolic reconstructions of multiple Salmonella strains reveal serovar-specific metabolic traits. *Nat Commun.* 2018 Sep 14;9(1):3771. doi: 10.1038/s41467-018-06112-5.
12. Knodler LA, Elfenbein JR. Salmonella enterica. *Trends Microbiol.* 2020 Jan;28(1):83. doi: 10.1016/j.tim.2019.10.014.
13. Magiorakos AP, Srinivasan A, Carey RB, Carmeli Y, Falagas ME, Giske CG et al (2012) Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin Microbiol Infect* 18:268–281. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2011.03570>.

14. Liljebjelke K.A., Hofacre C.L., White D.G., Ayers S., Lee M.D., Maurer J.J. Diversity of antimicrobial resistance phenotypes in Salmonella isolated from commercial poultry farms. Front. Vet. Sci. 2017;4:96. doi: 10.3389/fvets.2017.00096.

УДК 616:248:

¹Бочарова Н.В., ¹Коваленко И.С., ¹Новгородцева Т.П., ²Ермоленко Е.В.
**УРОВНИ N-АЦИЛЭТАНОЛАМИНОВ В ПЛАЗМЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ
БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ**

¹*Владивостокский филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» – Научно-исследовательский институт медицинской климатологии и восстановительного лечения, Владивосток, Россия*

²*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского» Дальневосточного отделения Российской академии наук, Владивосток, Россия*

Резюме. Методом ВЭЖХ-МС исследовано содержание в плазме крови эндогенных N-ацилэтанололаминов (NAE) у больных бронхиальной астмой (БА). Выявлено снижение количества и изменение баланса в уровне эндогенных этаноламинов жирных кислот в сравнении с группой здоровых лиц, что подтверждает важность данного класса липидных медиаторов в патологическом процессе при БА.

Ключевые слова: бронхиальная астма, воспаление, N-ацилэтанололамины,

¹Bocharova N.V., ¹Kovalenko I.S., ¹Novgorodtseva T.P., ²Ermolenko E.V.
**N-ACYLETHANOLAMINE LEVELS IN BLOOD PLASMA OF PATIENTS WITH
ASTHMA**

¹*Vladivostok Branch of Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration – Research Institute of Medical Climatology and Rehabilitative Treatment, Vladivostok, Russia*

²*A.V. Zhirmunsky National Scientific Center of Marine Biology Far Eastern Branch, Russian Academy of Sciences, Vladivostok, Russia*

Abstract. The content of endogenous N-acylethanolamines in blood plasma in patients with asthma was studied using the HPLC-MS method. A decrease in the amount and a change in the balance in the level of endogenous ethanolamines of fatty acids were revealed in comparison with a group of healthy individuals, which confirms the importance of this class of lipid mediators in the pathological process in asthma.

Key words: asthma, inflammation, N-acylethanolamines

Введение. Бронхиальная астма – заболевание органов дыхания, вызванное хроническим воспалением в нижних отделах дыхательных путей. Нормализация баланса про- и противовоспалительных стимулов и выход хронического процесса на разрешение является

ключевым фактором в контроле патологии. Поиск различных эндогенных регуляторов, способных модулировать иммунные процессы является актуальным направлением в современной медицине. Одними из таких сигнальных медиаторов липидной природы является семейство N-ацилэтанололаминов и их оксигенированных метаболитов, обладающих многочисленными функциями в физиологических и патологических процессах, включая воспаление, стресс и энергетический обмен [1, 2, 3]. NAE могут реализовывать свою сигнальную роль посредством различных путей: активации рецепторов, связанных с G-белком (каннабиноидных CB рецепторов, GPR55, GPR110, GPR119), ионных каналов (TRPV1) и ядерных рецепторов (PPAR- α и PPAR- γ) [4, 5]. N-ацилэтанололамины синтезируются из мембранных фосфолипидов в результате последовательного действия ряда ферментов. Поддержание определенного уровня NAE также определяется гидролизом и деградацией N-ацилэтанололаминов, которые в свою очередь приводят к образованию сложных липидных метаболитов с различными биологическими функциями [6]. Изменение баланса в уровне эндогенных этаноламинов жирных кислот может иметь определенную роль в хроническом воспалении при БА.

В связи с чем, целью работы явилось изучение уровней эндогенных этаноламинов жирных кислот в плазме крови у больных БА легкой степени тяжести.

Методы исследования. Исследование проведено на 97 пациентах бронхиальной астмой легкой степени тяжести частично контролируемого течения, средний возраст которых составил 44 ± 16 лет. Заболевание диагностировали в соответствии с критериями «Глобальной стратегии лечения и профилактики бронхиальной астмы» (GINA, 2020-2023). Группу сравнения составили добровольцы без патологии легких и бронхов, сопоставимые по полу и возрасту с группой БА. Исследование одобрено локальным этическим комитетом. Пациенты предоставили информированное согласие на участие в исследовании.

Количественное определение эндогенных NAE проводили в плазме крови с использованием метода ВЭЖХ-МС на масс-спектрометре LC-MS 8060 (Shimadzu, Япония). Смесь анализировали с помощью мониторинга множественных реакций (MRM). Количественную оценку каждого NAE в образце сыворотки осуществляли с помощью LabSolution (Shimadzu, Япония) с последующим сравнением площади идентифицированного на основании масс-спектра пика NAE с площадью пика внутреннего стандарта.

Статистическая обработка полученных результатов осуществлялась в программе Statistica, версия 10.0 (Stat Soft, США). Совокупности количественных показателей описывались при помощи значений медианы (Me), нижнего и верхнего квартилей (Q25 – Q75). Так как у большинства групп признаки имели распределение отличное от нормального, множественное сравнение между группами было проведено с использованием критерия Краскела-Уоллиса. Все различия считались значимыми при $p < 0,05$.

Полученные результаты. Исследование методом ВЭЖХ-МС плазмы крови здоровых лиц и пациентов с БА позволило выявить N-пальмитоилэтанололамин (NAE 16:0), N-олеоилэтанололамин (NAE 18:1), N-арахидоноилэтанололамин (NAE 20:4n-6) и N-докозагексаноилэтанололамин (NAE 22:6n-3). В группе с БА отмечено снижение

уровней всех выявленных NAE в сравнении с группой здоровых лиц. Наибольшее снижение пришлось на содержание NAE 16:0, его уровень понизился на 47% ($p < 0,001$) относительно группы здоровых лиц. Количество NAE 18:1 в плазме отличалось между исследуемыми группами здоровых и больных на 9,2% ($p < 0,01$). Уровни эндогенных этаноламинов полиненасыщенных жирных кислот – NAE 20:4n-6 и NAE 22:6n-3 в плазме крови были самыми низкими в обеих группах обследуемых. При этом NAE 20:4n-6 в группе больных БА были ниже на 41,6% ($p < 0,05$), а NAE 22:6n-3 – на 37,5% ($p < 0,05$) в сравнении с группой здоровых лиц.

Таблица

Уровень N-ацилэтаноламинов и их соотношений в плазме крови здоровых лиц и больных легкой БА

Показатель	Группа здоровых	Группа больных БА
NAE 16:0, пМ/мл	7,04 [6,65; 7,65]	3,73 [2,88; 4,08]**
NAE 18:1, пМ/мл	1,2 [1,13;1,34]	1,09 [0,92;1,13]**
NAE 20:4n-6, пМ/мл	0,08 [0,06;0,09]	0,04 [0,02;0,07]**
NAE 22:6n-3, пМ/мл	0,16 [0,15;0,16]	0,1 [0,08;0,14]*
NAE 16:0/20:4n-6, у.е.	90,79 [76,94;121,72]	90,25 [53,84;122,35]
NAE 18:1/20:4n-6, у.е.	16,76 [13,01;22,52]	24,93 [17,41;39,41]**
NAE 22:6n-3/20:4n-6, у.е.	2,06 [1,8;2,41]	2,42 [1,74;4,19]
NAE 18:1/16:0, у.е.	0,17 [0,16;0,2]	0,27 [0,27;0,3]**
NAE 22:6n-3/16:0, у.е.	0,022 [0,020;0,024]	0,027 [0,02;0,04]
NAE 22:6n-3/18:1, у.е.	0,13 [0,12;0,14]	0,1 [0,08;0,13]

Примечание: Статистическая значимость: * ($p < 0,05$); ** ($p < 0,001$).

Расчет соотношений N-ацилэтаноламинов выявил изменения баланса исследуемых липидных медиаторов. Достоверно увеличивалось содержание NAE 18:1 над NAE 20:4n-6 в группе с БА. Выявленная закономерность может быть связана с нарушением биосинтеза либо метаболизма NAE, поскольку известно, что содержание этаноламинов в плазме крови только отчасти регулируется диетой [7]. Решающее значение в поддержании физиологического уровня имеет интенсивность синтеза, либо степень активности ферментов, участвующих в метаболизме N-ацилэтаноламинов. При этом изменение соотношений различных видов NAE оказывает влияние на иммунный гомеостаз и иммунные нарушения при различных патологических процессах [8]. Таким образом, изменение уровня и количественных соотношений NAE в плазме крови в группе исследованных больных характеризует определенную роль данного класса липидных медиаторов как одного из важных участников системного воспаления при БА.

Выводы. Полученные данные свидетельствуют о снижении содержания эндогенных этаноламинов жирных кислот в плазме крови у пациентов с бронхиальной астмой, вызванным нарушением их биосинтеза или метаболизма. При этом снижение имело различную интенсивность и приводило к смещению соотношения эндогенных этаноламинов при патологии, что свидетельствует о задействовании данной сигнальной системы в патологическом процессе при БА.

Список литературы:

1. Egoraeva, A., Tyrtysnaia, A., Ponomarenko, A. et al. Anti-inflammatory Effect of Polyunsaturated Fatty Acid N-Acylethanolamines Mediated by Macrophage Activity In Vitro and In Vivo // *Inflammation*. – 2023. – Vol. 46. – P. 2306–2319. <https://doi.org/10.1007/s10753-023-01879-2>
2. Mock E.D., Gagestein B., Van der Stelt M. Anandamide and other N-acylethanolamines: A class of signaling lipids with therapeutic opportunities // *Progress in Lipid Research*. – 2023. – Vol. 89:101194, ISSN 0163-7827, <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2022.101194>
3. Tyrtysnaia A., Konovalova S., Ponomarenko A., Egoraeva A., Manzhulo I. Fatty acid-derived n-acylethanolamines dietary supplementation attenuates neuroinflammation and cognitive impairment in LPS murine model // *Nutrients*. – 2022. – Vol. 19, N 14:3879. doi: 10.3390/nu14183879. PMID: 36145255; PMCID: PMC9504857
4. Kim H., Huang B.X., Spector A.A. Molecular and signaling mechanisms for docosahexaenoic acid-derived neurodevelopment and neuroprotection // *Int. J. Mol. Sci.* – 2022. – Vo 19, N 23. – P.4635. doi: 10.3390/ijms23094635. PMID: 35563025; PMCID: PMC9100376
5. Kytikova O., Novgorodtseva T., Antonyuk M., Denisenko Y., Gvozdenko T. Molecular targets of fatty acid ethanolamides in asthma // *Medicina (Kaunas)*. – 2019. – Vol. 55(4):87. doi: 10.3390/medicina55040087. PMID: 30939862; PMCID: PMC6524029
6. Simard M., Archambault A.S., Lavoie J.P.C., Dumais E., Di Marzo V., Flamand N. Biosynthesis and metabolism of endocannabinoids and their congeners from the monoacylglycerol and N-acyl-ethanolamine families // *Biochemical Pharmacology*. – 2022. – Vol. 205, N 115261, ISSN 0006-2952, <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2022.115261>
7. Simon C.S. Interplay between n-3 and n-6 long-chain polyunsaturated fatty acids and the endocannabinoid system in brain protection and repair // *Lipids*. – 2017. – Vol. 52. – P. 885–900. <https://doi.org/10.1007/s11745-017-4292-8>
8. Jones P.J., Lin L., Gillingham L.G., Yang H., Omar J.M. Modulation of plasma N-acylethanolamine levels and physiological parameters by dietary fatty acid composition in humans // *J. Lipid. Res.* – 2014. – Vol 12, N 55. – P. 2655-2664. doi: 10.1194/jlr.P051235. Epub 2014 Sep 28. PMID: 25262934; PMCID: PMC4242457

УДК 616-005.1-08:616.831-005.1

Бутин Е.В.

ПАТОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ГЕМОСТАЗА И ВТОРИЧНОГО ПОРАЖЕНИЯ ПРИ ИШЕМИЧЕСКОМ ПОРАЖЕНИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА ФГБОУ ВО Читинская государственная медицинская академия, Чита, Россия

Резюме. В настоящей рукописи представлена важная информация о патогенетических аспектах гемостаза при ишемическом поражении головного мозга, основанная на анализе научных публикаций, индексируемых в базах данных PubMed и Web of Science. Ишемический инсульт характеризуется внезапным появлением неврологической недостаточности, связанной с острым фокальным церебральным ишемическим процессом, который приводит к инфаркту мозга. В научной литературе значительно

меньше внимания уделяется роли нарушений гемостаза в развитии ишемического инсульта, а также недостаточно обследованы изменения гемостаза и первые признаки активации коагуляционной системы. В частности, это касается таких осложнений, как геморрагическая трансформация и вторичный вазоспазм.

Ключевые слова: Ишемический инсульт, гемостаз, фактор XIII, вторичный вазоспазм.

Butin E.V.

PATHOPHYSIOLOGICAL FEATURES OF HAEMOSTASIS AND SECONDARY LESIONS IN ISCHAEMIC BRAIN DAMAGE

Chita State Medical Academy, Chita, Russia

Abstract. *This manuscript provides important information on the pathogenetic aspects of haemostasis in ischaemic brain damage based on the analysis of scientific publications indexed in PubMed and Web of Science databases. Ischaemic stroke is characterized by the sudden onset of neurological failure associated with an acute focal cerebral ischaemic process that leads to cerebral infarction. In the scientific literature much less attention is paid to the role of haemostasis disorders in the development of ischemic stroke, and the changes in haemostasis and the first signs of coagulation system activation are not sufficiently examined. In particular, this concerns such complications as haemorrhagic transformation and secondary vasospasm.*

Key words: *Ischaemic stroke, haemostasis, factor XIII, secondary vasospasm.*

Ишемический инсульт – это патологическое состояние организма, представляющее собой один из этапов местного или генерализованного поражения сосудов при патологиях сердечно-сосудистой системы [1].

Актуальность проблемы связана с частотой ее развития, поскольку инсульт является одним из наиболее распространенных неврологических заболеваний, при этом ишемический инсульт составляет более 85%. [2, 3]. Согласно классификации TOAST (Adams H.P. et al 1993) выделяют 4 подтипа ишемического инсульта: криптогенный, атеротромботический, связанный с атеросклеротическим поражением артерий, кардиоэмболический, который возникает при мерцательной аритмии или инфаркте миокарда, и лакунарный, связанный с повреждениями мозговых артерий [4, 5]. Частота встречаемости атеросклероза крупных артерий выше у мужчин, чем у женщин (48,6% против 19,4%, $p < 0,001$; 9,9% против 3,1%, $p < 0,05$ соответственно). Инсульт другой определенной этиологии чаще встречается у женщин, чем у мужчин (50,4% против 19,1%, $p < 0,001$) [6].

По данным A. Barakzie, A.J.G. Jansen, H. Cate [et al.] за 2019 год [7], инсульт поражает 13,7 миллион человек в год во всем мире, при этом летальные исходы составляют 5,5 миллионов ежегодно.

В остром периоде ишемического инсульта выделяют изменения в системе гемостаза, характеризующиеся формированием признаков тромбинемии. Ключевым центральным звеном патогенеза ишемического инсульта является усиление коагуляционного потенциала с изменением реологических свойств крови. Гемореологическая и гемостатическая составляющие в различной степени присутствуют при всех патогенетических подтипах ишемического инсульта [11]. В плазме крови измеряют

количество не только растворимых фибрин-мономерных комплексов (РФМК), но и D-димеров [12].

Прогнозирование функционального исхода у больных с ишемическим инсультом является глобальной проблемой; продолжаются непрерывные исследования, направленные на поиск наилучшего метода диагностики [15]. В лечении пациентов с ишемическим инсультом различают два основных направления: базисную и дифференцированную терапию. Базисная терапия направлена на нормализацию жизненно важных функций.

FXIII является про-гамма-трансглутаминазой, циркулирующей в кровотоке в виде гетеротетрамера (FXIII-A₂B₂). Фактор представлен 2 субъединицами: FXIIIВ₂ и 2 каталитических субъединиц (FXIII-A₂). Он стабилизирует фибрин, служит нормализатором репарации и индуктором коммуникации эндотелиальных клеток. Фактор образуется в печени (фибробластами), в моноцитах, макрофагах и мегакариоцитах, его период полужизни составляет 9-12 дней. Тромбы, образовавшиеся в присутствии фактора XIII, лизируются очень медленно, в связи с чем снижение его активности проявляется очень быстрым распадом кровяных сгустков. Между активностью фактора XIII, адгезией и агрегацией тромбоцитов существует однонаправленная зависимость. Снижение или повышение активности фактора XIII сопровождается аналогичной реакцией со стороны тромбоцитов [8,14,15]. Активность фактора проявляется как *in vitro*, так и *in vivo*. Это позволяет использовать его как в качестве основного компонента различных кровоостанавливающих препаратов, так и в биологических исследованиях для более глубокого понимания механизмов свертывания крови [9]. Количество тромбина в головном мозге повышается как при геморрагическом, так и при ишемическом инсульте, в основном из-за протромбина или тромбина, поступающего после кровоизлияния в мозг, нарушения гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) и, в меньшей степени, из-за синтеза протромбина в мозге [10].

На сегодняшний день предложено несколько вариантов реперфузии, включая тромболитическую терапию и эндоваскулярную тромбэктомия. Несмотря на это весомое улучшение, эффект реперфузии и, как следствие, клинический исход после ишемического инсульта предсказать невозможно вследствие осложнений в виде вторичного вазоспазма [11]. Развитие сосудистого вазоспазма связано с влиянием вазоактивных веществ (в частности, катехоламинов, серотонина, простагландинов), нарушением соотношения простациклин/тромбоксан А₂; торможением холинзависимой вазодилатации. Также вторичный вазоспазм развивается вследствие раскрытия Ca²⁺ каналов гладких миоцитов сосудистой стенки. Сначала вазоспазм является вазоконстрикторной реакцией мышечного слоя артерий и артериол. В дальнейшем развиваются реакции ишемического каскада, сопровождающиеся внутриклеточным вбросом ионов кальция, начинают развиваться пролиферативные процессы эндотелия, что усугубляет ишемические и метаболические процессы тканей головного мозга [11]. Геморрагическая трансформация, как одно из главных осложнений ишемического инсульта, может возникнуть вследствие эндоваскулярного лечения, а также после повреждения гематоэнцефалического барьера.

Таким образом, более тщательное изучение вопроса, касающегося нарушений гемостаза и системы свертывания крови при ишемическом инсульте, поможет предотвратить

появление осложнений, улучшит качество лечения и более точно предскажет развитие заболевания.

Список литературы:

1. Pawluk H., Woźniak A., Grzešk G., [et al.]. The Role of Selected Pro-Inflammatory Cytokines in Pathogenesis of Ischemic Stroke. *Dove Press journal: Clinical Interventions in Aging* (15): 469-484. 2020 Mar 23. DOI:10.2147/CIA.S233909.
2. Saini V., Guada L., Yavagal D.R. Global Epidemiology of Stroke and Access to Acute Ischemic Stroke Interventions. *Neurology journal* 97 (20): 6-16. 2021 Nov. DOI: 10.1212/WNL.0000000000012781.
3. Barakzie A., Jansen A.J. G., Cate H. Coagulation biomarkers for ischemic stroke. *Research and Practice in Thrombosis and Haemostasis* (7). 2023 May 26. DOI: 10.1016/j.rpth.2023.100160.
4. Никишин В.О., Голохвастов С.Ю., Литвиненко И.В., и соавт. Ишемический инсульт у лиц молодого возраста. Факторы риска, особенности этиопатогенеза. *Вестник Российской военно-медицинской академии*. 2020, приложение 3 (71). DOI: 10.32863/1682-7392-2020-3-71-68-71.
5. Boot E., Ekker M.S., Putaala J., [et al.]. Ischaemic stroke in young adults: a global perspective. *J Neurol. Neurosurg Psychiatry*. 2020; 91: 411–417. DOI: 10.1136/jnnp-2019-322424.
6. Stadnik S.M., Saiko O.V. Neuron-Specific Enolaza as a Marker of Lesion Cerebral Tissue in Patients with Ischemic Stroke. *Biomedical Journal of Scientific & Technical Research* (31): 23808-23810. 2020 Oct 06. DOI: 10.26717/BJSTR.2020.31.005030.
7. Barakzie A., Jansen A.J.G., Cate H., [et al.]. Coagulation biomarkers for ischemic stroke. *Res Pract Thromb Haemost*. 2023 May; 7(4). DOI: 10.1016/j.rpth.2023.100160.
8. Салова Е.А., Краснощекова Л.И., Точенов М.Ю. и соавт. Состояние системы гемостаза в остром периоде ишемического инсульта с учетом его гетерогенности. *Лечебное дело* №3. 2012. DOI: 10.1161/STROKEANA.120.032810.
9. Donkel S.J., Benaddi B., Dippel D.W.J., [et al.]. Prognostic Hemostasis Biomarkers in Acute Ischemic Stroke. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. Jan 17, 2019. DOI: 10.1161/ATVБAНА.118.312102.
10. Скворцова В.И., Шамалов Н.А., Бодыхов М.К. Лечение ишемического инсульта. *Трудный пациент* 5 (6–7), 2007.
11. Tsivgoulis G., Katsanos A.H., Sandset E.C., [et al.]. Thrombolysis for acute ischaemic stroke: current status and future perspectives. *The Lancet Neurology*. 22 (5): 418-429, May 2023. DOI: 10.1016/S1474-4422(22)00519-1.
12. Muszbek L., Bereczky Z., Bagoly Z., [et al.]. Factor XIII, clot structure, thrombosis. *Thrombosis Research*, 2012, 129(3), 382–387. DOI: 10.1016/j.thromres.2011.11.040.
13. Muszbek L., Bereczky Z., Bagoly Z. [et al.]. The Involvement of Blood Coagulation Factor XIII in Fibrinolysis and Thrombosis. 2008. *Cardiovascular & Hematological Agents in Medicinal Chemistry*, 6(3), 190–205. DOI: 10.2174/187152508784871990.
14. Малезик Л. П., Цыбиков Н.Н. Клеточные рецепторы к активным факторам свертывания крови. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. – 1983. – Т. 96, № 12. – С. 7-9. – EDN ZFBPRV.

15. Измestьев С.В., Фефелова Е.В., Терешков П.П., Цыбиков Н.Н. Некоторые маркеры эндотелиальной дисфункции при гипертонической болезни. Актуальные проблемы патофизиологии : Сборник научных статей Международной научно-практической конференции, Чита, 11 ноября 2022 года. Под общей редакцией Н.В. Ларёвой. – Чита: Читинская государственная медицинская академия, 2022. – С. 89-91. – EDN PKKYGC.

УДК: 616 – 092.4 – 002.193.

Власова А.Н., Фефелова Е.В.

РОЛЬ ГИДРОКСИХОЛЕКАЛЬЦИФЕРОЛА В ПАТОГЕНЕЗЕ РАЗВИТИЯ БРОНХИАЛЬНОЙ ОБСТРУКЦИИ У ДЕТЕЙ С РАЗНЫМ УРОВНЕМ SP-D
ФГБОУ ВО Читинская государственная медицинская академия, Чита, Россия

Резюме. Изучали показатели 25(OH)D3 при разных значениях белка сурфактанта SP-D у детей с редкими и частыми эпизодами бронхиальной обструкции.

Ключевые слова: бронхиальная обструкция, гидроксихолекальциферол, сурфактант, дети.

Vlasova A.N., Fefelova E.V.

THE ROLE OF HYDROXYCHOLECALCIFEROL IN THE PATHOGENESIS OF BRONCHIAL OBSTRUCTION IN CHILDREN WITH DIFFERENT LEVELS OF SP-D

Chita State Medical Academy, Chita, Russia

Abstract. We studied 25(OH)D3 levels at different levels of surfactant protein SP-D in children with rare and frequent episodes of bronchial obstruction.

Key words: bronchial obstruction, hydroxycholecalciferol, surfactant, children.

Актуальность. Бронхиальная обструкция представляет собой остро возникшее состояние, сопровождающееся резким спазмом бронхов как мелкого, так и среднего калибра, с развитием отека слизистой оболочки и вовлечением иммунокомпетентных клеток в процесс воспаления [1]. Большая роль в развитии воспалительного процесса отводится белку сурфактанта SP-D. Являясь частью врожденной иммунной системы легких, SP-D участвует в первой линии защиты от инфекций, связываясь с патогенами и способствует их уничтожению. SP-D также модулирует иммунный ответ, влияя на активность макрофагов и воспалительные процессы [2]. В иммунном ответе также огромная роль отведена метаболиту витамина D 25(OH)D3, который способствует дифференцировке иммунных клеток, включающих макрофаги и Т-лимфоциты, регулирует выработку цитокинов, таким образом влияя на воспалительный ответ [3].

Целью исследования явилась оценка показателей уровня 25(OH)D3 с разными концентрациями белка сурфактанта SP-D на фоне бронхиальной обструкции у детей.

Материалы и методы. Исследование проведено согласно Хельсинской декларации Всемирной Медицинской Ассоциацией 2000 г. и правилами клинической практики в Российской Федерации, утвержденным приказом Минздрава РФ от 19.06.2003 г. № 266.

Обследовано 183 пациента, находившихся под наблюдением. Все пациенты были разделены на три группы: 1 – с концентрацией SP-D от 100 до 500 нг/мл (21); 2 – дети с содержанием белка менее 100 нг/мл (92); контрольную группу составили 70 детей с уровнем SP-D более 500 нг/мл, имеющих 1 и 2 группы здоровья. Средний возраст обследуемых детей составил $6,0 \pm 0,1$ лет, из них 45% – девочки и 55% – мальчики.

Критериями исключения для всех групп детей явились наличие хронической и врожденных аномалий развития всех органов и систем, глистные инвазии, нежелание родителей участвовать в исследовании.

Всем детям проводили забор периферической крови натощак, с определением метаболита витамина D – 25(OH)D3 с помощью IDS OSTEIA, основанного на методе иммуноферментного анализа. SP-D белок сурфактанта получали путем сбора конденсата выдыхаемого воздуха (КВВ), оценивали методом иммуноферментного анализа «ELISA» (Нидерланды).

Полученные результаты обрабатывались с помощью пакета программ IBM SPSS Statistics v.26. При ненормальном распределении применяли критерии Краскела-Уиллиса и Манна-Уитни. Статистически значимыми считали различия с поправкой Бонферрони $p < 0,01$.

Полученные результаты и обсуждение. У детей всех групп отмечались низкие уровни метаболита витамина D, независимо от содержания SP-D (таблица 1). Однако у детей 1 группы концентрация 25(OH)D3 была ниже, чем во 2. Полученные данные можно связать с тем, что на фоне длительных и частых респираторных заболеваний, осложнившихся частыми бронхиальными обструкциями, дети получали терапию, в том числе витаминно-минеральные комплексы, включающие в состав витамин D. В то же время концентрация оставалась низкой по сравнению со здоровыми детьми ($p=0,002$).

Таблица 1

Концентрация 25(OH)D3 у детей с разным уровнем SP-D белка сурфактанта

Показатель	Содержание SP-D в группах, нг/мл			Тестовая статистика Краскела-Уоллиса
	Уровень SP-D >500, n=70	Уровень SP-D 100 -500, n=21	Уровень SP-D <100, n=92	
	к	1	2	
25(OH)D3, нмоль/л	51,7 [32,4;69,0]	22,4 [7,0;61,0]	46,0 [10,6;61,6]	H=24,5; p=0,0001. $U_{к-1}=232$, $p_{к-1}=0,0001$; $U_{к-2}=2378$, $p_{к-2}=0,004$; $U_{1-2}=540$, $p_{1,2}=0,002$

Примечание: $U_{к-1}$ – различия между контрольной и 1 группой, $p_{к-1}$ – статистическая значимость различий между контрольной и 1 группой; $U_{к-2}$ – различия между контрольной и 2 группой, $p_{к-2}$ – статистическая значимость между контрольной и 2 группой; U_{1-2} – различия между 1 и 2 группами, $p_{1,2}$ – статистическая значимость между 1 и 2 группами

Исследования показывают, что витамин D может модулировать выработку и функцию

SP-D путем влияния на экспрессию генов, связанных с выработкой SP-D в альвеолярных эпителиальных клетках и макрофагах [4, 5]. Некоторые исследования на животных и клеточных моделях показали, что витамин D способен увеличивать уровни SP-D, что может усиливать местную иммунную защиту легких [4]. Витамин D способствует балансу между проинфламаторными и противовоспалительными цитокинами в организме. Это может косвенно влиять на функцию SP-D в регуляции воспалительного ответа, особенно в контексте легочных инфекций и хронических воспалительных заболеваний легких. [4, 6, 7].

Снижение уровней SP-D у детей с бронхиальной обструкцией, обусловленное воздействием витамина D, может способствовать снижению защиты от респираторных инфекций. Уменьшение концентрации SP-D приводит к снижению хемотаксиса и усилению оксидантного стресса в дыхательной системе путем образования свободных радикалов в процессе перекисного окисления, что приводит к нарушению резистентности дыхательной системы, повышению риска восприимчивости детей к инфекционным патогенам, снижению элиминации аллергенов, что приводит к повышенному синтезу иммуноглобулина E и возникновению аллергических реакций 1 типа и бронхоспазма.

Вывод. Низкие концентрации 25(OH)D3 выявлены у детей с пониженным содержанием SP-D белка сурфактанта.

Список литературы:

1. Ibatova, S., Ergashev, A., & Ibragimova, Y. Broncho-obstructive syndrome in children. // Евразийский журнал медицинских и естественных наук. – 2023. – 3(6). – P. 151–156. <https://in-academy.uz/index.php/EJMNS/article/view/16953>.
2. Watson A., Madsen J., Clark H.W. SP-A and SP-D: dual functioning immune molecules with antiviral and immunomodulatory properties // *Frontiers in immunology*. // 2021. – №11. – P. 1-17. – <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.622598>.
3. Громова О.А., Торшин И.Ю. Витамин D - смена парадигмы. М. Гэотар - Медиа. 2017. – ISBN 978-5-9704-4058-2.
4. Poorna R, Biswal N. Respiratory infections: Role of Vitamin D and surfactant proteins A and D. *Lung India*. // 2020. – V. 37(5). – P. 421-424. doi: 10.4103/lungindia.lungindia_369_18. PMID: 32883903; PMCID: PMC7857376.
5. Martens PJ, Gysemans C, Verstuyf A, Mathieu AC. Vitamin D's Effect on Immune Function. *Nutrients*. // 2020. – V.28. – P.12(5):1248. – doi: 10.3390/nu12051248. PMID: 32353972; PMCID: PMC7281985.
6. Watson A, Madsen J, Clark HW. SP-A and SP-D: Dual Functioning Immune Molecules with Antiviral and Immunomodulatory Properties. // *Front Immunol*. – 2021. – V. 11. – P. 622598. – doi: 10.3389/fimmu.2020.622598. PMID: 33542724; PMCID: PMC7851053.
7. Gerke AK, Pezzulo AA, Tang F, Cavanaugh JE, Bair TB, Phillips E, Powers LS, Monick MM. Effects of vitamin D supplementation on alveolar macrophage gene expression: preliminary results of a randomized, controlled trial. // *Multidiscip Respir Med*. – 2014. – V. 26;9(1). – P.18. – doi: 10.1186/2049-6958-9-18. PMID: 24669961; PMCID: PMC3986866.

УДК: 616.24:616-002.2:571.27

Викторовская А.А., Бочарова Н.В.

МОДИФИКАЦИЯ СОСТАВА ЖИРНЫХ КИСЛОТ ЛЕЙКОЦИТОВ ПРИ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЕ ЛЕГКОЙ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ

Владивостокский филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» – Научно-исследовательский институт медицинской климатологии и восстановительного лечения, Владивосток, Россия

Резюме. Изучен состав жирных кислот лейкоцитов крови у пациентов с бронхиальной астмой (БА) легкой степени тяжести частично контролируемого течения. Установлено, что формирование БА сопровождается накоплением насыщенных, мононенасыщенных и снижением n-3 полиненасыщенных ЖК. Формирующаяся модификация состава ЖК лейкоцитов определяет провоспалительный фон при бронхиальной астме.

Ключевые слова: бронхиальная астма; лейкоциты; жирные кислоты.

Viktorovskaya A.A., Bocharova N.V.

MODIFICATION OF FATTY ACID COMPOSITION OF LEUKOCYTES IN ASTHMA

Vladivostok Branch of Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration – Research Institute of Medical Climatology and Rehabilitative Treatment Vladivostok branch, Vladivostok, Russia

Abstract. The composition of fatty acids in blood leukocytes was studied in patients with mild asthma of partially controlled course. It was found that the formation of asthma is accompanied by the accumulation of saturated, monounsaturated and a decrease in n-3 polyunsaturated fatty acids. The resulting modification of the fatty acids composition of leukocytes determines the proinflammatory background in asthma.

Key words: asthma; leukocytes; fatty acids.

Введение. Бронхиальная астма представляет собой хроническое воспалительное заболевание бронхолегочной системы, сопровождающееся гиперреактивностью дыхательных путей, что проявляется в виде повторяющихся эпизодов свистящего дыхания, ощущения сжатия в груди и кашля. [1] БА является серьезной проблемой для всех возрастных категорий и считается наиболее распространенным заболеванием органов дыхания. Согласно оценкам специалистов GINA, заболеваемость БА колеблется от 1% до 16% среди населения различных стран мира. [2] Хроническое воспаление регулируется различными медиаторами, среди которых особое внимание уделяется метаболитам полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК) – оксипиринам и другим производным. [3] Основным источником этих веществ являются ПНЖК, входящие в состав мембранных фосфолипидов. Арахидоновая кислота (20:4n6) занимает ключевую позицию как предшественник эйкозаноидов. [4] Метаболиты, полученные из этой кислоты, обладают выраженной провоспалительной и бронхоконстрикторной активностью. В

противовес им, оксипирины, образующиеся из n-3 ПНЖК, проявляют совершенно другие биологические свойства. Медиаторы производные эйкозапентаеновой кислоты (20:5n3) такие как резольвины, марезины, липоксины, играют важную роль в регуляции и разрешении воспаления. Изучение взаимосвязи между БА и модификацией состава ЖК и определение вклада этого процесса в развитие и прогрессирование заболевания имеет огромное значение. Проведение подобных исследований способствует разработке эффективных методов коррекции БА, направленных на улучшение качества жизни пациентов, страдающих данным заболеванием.

В связи с чем, **целью** данной работы явилось установление особенностей состава жирных кислот лейкоцитов при бронхиальной астме легкой степени тяжести.

Методы исследования. В исследовании приняли участие 52 пациента с БА легкой степени тяжести частично контролируемого течения среднего возраста 47 ± 11 лет. Также в исследовании участвовали 28 человек – группа контроля, которую составили здоровые добровольцы без патологии легких и бронхов, сопоставимых по полу и возрасту с группой пациентов с БА. Обследование пациентов проводилось после подписания информационного согласия и в соответствии со стандартами Хельсинкской декларации (пересмотр 2013 г.), с одобрения локального Этического комитета и на условиях добровольного информированного согласия. Диагностика заболеваний осуществлялась согласно протоколу Глобальной стратегии лечения и профилактики астмы (GINA, 2024). Бронхиальная астма диагностировалась на основании данных анамнеза, объективного осмотра, физикальных, инструментальных и лабораторных методов исследования.

У пациентов натошак отбиралась венозная кровь в вакуумные пробирки с ЭДТА. С помощью метода градиента на Фиколле отделялись лейкоциты.

Для последующего исследования жирных кислот проводилась экстракция липидов из выделенных лейкоцитов. Экстракцию липидов осуществляли смесью хлороформ–метанол, 1:2 (по объему) согласно методу Блайя Дайера (Bligh and Dyer, 1959). Уровень жирных кислот оценивали по содержанию метиловых эфиров ЖК (МЭЖК). Анализ МЭЖК проводила методом хроматомасс-спектрометрии с использованием хроматографа ГХ-МС QP2020 (Shimadzu, Япония) с пламенно-ионизационным детектором. Идентификация пиков МЭЖК проводилась по временам удерживания индивидуальных эфиров жирных кислот и по значениям эквивалентной длины цепи. Результаты выражались в процентах от суммы ЖК.

Статистическая обработка полученных результатов осуществлялась в программе Statistica, версия 6.1 (StatSoft, США). Совокупности количественных показателей описывались при помощи значений медианы (Me), нижнего и верхнего квартилей (Q25 – Q75). Так как у большинства групп признаки имели распределение отличное от нормального, сравнение между группами было проведено с использованием критерия Мана-Уитни. Все различия считались значимыми при $p < 0,05$.

Полученные результаты. Проанализирован состав общих жирных кислот лейкоцитов крови пациентов с БА относительно показателей условно здоровых лиц. Выявлено, что в группе пациентов с БА увеличилось относительное содержание 14:0 на 85,45% ($p < 0,05$), 15:0 на 96,6% ($p < 0,05$), 16:0 на 22,9% ($p < 0,05$), 17:0 на 114,9% ($p < 0,05$), 20:0 на 35,32% ($p < 0,05$) ЖК. Отмечено значимое снижение в группе пациентов с БА показателей 18:0

ЖК на 19,5% ($p < 0,01$). В данной группе ЖК превалирует доля 16:0.

Таблица

Состав ЖК лейкоцитов пациентов с БА и здоровых лиц, %

Показатели ЖК	Группа здоровых	Группа с БА
Насыщенные ЖК		
14:00	0,275 (0,24;0,36)	0,51 (0,44;0,59) *
15:00	0,295 (0,22;0,33)	0,58 (0,52;0,62) *
16:00	20,145 (19,78;21,57)	24,76 (23,37;28,94) *
17:00	0,47 (0,4;0,56)	1,01 (0,92;1,62) *
18:00	23,99 (20,54;26,11)	19,32 (18,77;19,95) **
20:00	1,005 (0,98;1,2)	1,36 (1,24;1,53) *
21:00	0,015 (0;0,3)	0,03 (0,02;0,05)
22:00	2,43 (1,83;2,9)	2,27 (2,14;2,46)
23:00	0,23 (0,17;0,25)	0,3 (0,28;0,38)
24:00:00	1,35 (1,22;1,5)	1,4 (1,25;1,66)
Мононенасыщенные ЖК		
16:1n7	0,865 (0,74;1,11)	1,03 (0,93;1,27)
18:1n9	9,73 (9,31;9,96)	8,82 (7,9;8,97) **
18:1n7	1,255 (1,13;1,3)	1,74 (1,64;1,92) ***
20:1n9	0,35 (0,31;0,41)	0,56 (0,43;0,67) **
22:1n9	1,025 (0,82;1,37)	0,91 (0,8;0,99)
24:1n9	0,945 (0,72;1,19)	1,72 (1,41;2,08) ***
Полиненасыщенные ЖК		
18:3n6	0,07 (0,05;0,9)	0,06 (0,03;0,18)
18:2n6	12,465 (11,77;13,37)	14,49 (12,82;18,74)
20:4n6	11,335 (9,93;12,97)	15,29 (13,45;15,9) **
20:5n3	1,87 (1,4;3,34)	0,83 (0,53;1,04) **
20:3n6	1,23 (1,21;1,45)	0,84 (0,53;1,56) *
20:2n6	0,7 (0,44;0,87)	0,85 (0,61;0,94)
22:6n3	1,64 (1,58;1,74)	1,04 (0,88;1,3) **
22:4n6	1,31 (1,1;1,61)	1,13 (1,03;1,24)
22:5n3	0,955 (0,74;1,022)	0,44 (0,27;0,53) *
Суммарные показатели ЖК		
Sum	50,57 (48,74;52,41)	51,34 (49,54;58,42)
Sum	14,545 (13,9;15,5)	14,37 (13,4;15,17)
Sum	32,66 (31,46;32,91)	36,6 (32,89;39,65) *
Sum n6	26,95 (26,27;28,68)	34,45 (30,57;36,79) ***
Sum n3	4,47 (4;5,93)	2,37 (2,31;2,69) ***
n3/n6	0,188 (0,14;0,23)	0,07 (0,6;0,08) ***

Примечание. * - Статистическая значимость различий между группами: * ($p < 0,05$); ** ($p < 0,01$); *** ($p < 0,001$).

Среди мононенасыщенных жирных кислот выявлена статистическая значимая разница между исследуемыми группами. В группе больных БА увеличилась доля 18:1n7 на

38,64% ($p < 0,001$), 20:1n9 на 60% ($p < 0,01$), 24:1n9 на 82,01 % ($p < 0,001$) ЖК относительно контрольной группы. В свою очередь уменьшилось относительное содержание 18:1n9 на 8,01% ($p < 0,01$) по сравнению с контрольной группой.

Значительные изменения в сравнении с контрольной группой выявлены в относительном содержании полиненасыщенных жирных кислот у больных БА. В группе пациентов с БА отмечено увеличение относительного содержания 20:4n6 на 34,89% ($p < 0,01$). Также наблюдается уменьшение доли 20:5n3 на 55,61% ($p < 0,01$), 20:3n6 на 31,7% ($p < 0,05$), 22:6n3 на 36,58% ($p < 0,01$), 22:5n3 на 53,92% ($p < 0,05$) ЖК.

Суммарный показатель пула n3 ПНЖК (Sum n3) в лейкоцитах больных БА в сравнении с контрольной группой уменьшился на 46,97 % ($p < 0,001$). Среди n6 ПНЖК (Sum n6) наблюдалось увеличение уровня на 27,82% ($p < 0,001$) относительно группы здоровых лиц. Показатели соотношений между суммой n3 и n6 ПНЖК (Sum n3/n6) у пациентов с БА уменьшены на 62,59% ($p < 0,001$).

Выводы. Модификация состава ЖК лейкоцитов при БА сопровождается увеличением относительного содержания представителей насыщенных жирных кислот, что может обуславливать воспалительный стимул на различных уровнях клеточной сигнализации [5]. В субклассе мононенасыщенных ЖК на фоне повышения содержания некоторых представителей МНЖК, отмечается снижение 18:1n9 – обладающей значимым противовоспалительным потенциалом [6]. В субклассе ПНЖК преобладает n-6 пул над n-3, что является базой для формирования провоспалительных липидных метаболитов и конкурентного снижения образования противовоспалительных и проразрешающих медиаторов ПНЖК. Таким образом, исследование показало, что формирование БА легкой степени тяжести частично контролируемого течения сопровождается провоспалительной модификацией состава жирных кислот лейкоцитов, что может являться одним из важных факторов в формировании и поддержании хронического воспаления при БА.

Список литературы:

1. Padem N, Saltoun C. Classification of asthma. *Allergy Asthma Proc.* 2019 Nov 1;40(6):385-388. doi: 10.2500/aap.2019.40.4253. PMID: 31690376.
2. Global Initiative for Asthma (GINA). 2024 GINA Global Strategy for Asthma Management and Prevention (GINA). (Electronic resource.)
3. Calder PC. Eicosanoids. *Essays Biochem.* 2020 Sep 23;64(3):423-441. doi: 10.1042/EBC20190083. PMID: 32808658.
4. Wang B., Wu L. Chen J. et al. Metabolism pathways of arachidonic acids: mechanisms and potential therapeutic targets. *Signal Transduct Target Ther.* 2021 Feb 26;6(1):94. doi: 10.1038/s41392-020-00443-w. PMID: 33637672; PMCID: PMC7910446.
5. Регуляторные механизмы системного воспаления при респираторной патологии: монография / Т.П. Новгородцева, Ю.К. Денисенко, О.Ю. Кытикова [и др.]; под. общ. ред. Т.П. Новгородцевой. – Владивосток: Изд-во Дальневосточного федерального университета, 2021. – 278 с.
6. Santa-Maria C., Lopez-Enriquez S., Montserrat-de la Paz S., et al. Update on anti-inflammatory molecular mechanisms induced by oleic acid // *Nutrients.* 2023. Vol. 1, N 1. doi: 10.3390/nu15010224.

УДК 616-092:578.834.1

Гайдукова Т.В., Лукьянов С.А., Шаповалов К.Г.,
Фефелова Е.В., Терешков П.П., Цыбиков Н.Н.

НЕКОТОРЫЕ МЕХАНИЗМЫ РАЗВИТИЯ КОАГУЛОПАТИИ У БОЛЬНЫХ С COVID-19

ФГБОУ ВО Читинская государственная медицинская академия, Чита, Россия

Резюме. *Определялась роль тромбоцитарно-лейкоцитарных коагратов венозной крови в развитии коагулопатии у больных COVID-19. Показано, что у пациентов с COVID-19 тяжелой степени тяжести по данным тромбодинамики формируются 4 варианта коагулопатий: выраженная гиперкоагуляция, гиперкоагуляция, нормокоагуляция, гипокоагуляция. При этом, общее число тромбоцитарно-лейкоцитарных коагратов в группе пациентов с выраженной гиперкоагуляцией возрастает в 2,5 раза ($P < 0,01$), а в группе с нормокоагуляцией снижается в 1,6 раза ($P < 0,01$) по сравнению с группой контроля. Обнаружено снижение лимфоцитарно-тромбоцитарных розеток по сравнению с контрольной группой в 2,5 и более раз, моноцитарно-тромбоцитарных – в 1,5 и более раз во всех исследуемых группах и рост количества нейтрофило-тромбоцитарных коагратов, преимущественно в группе лиц с гиперкоагуляцией.*

Ключевые слова. *Коагулопатия, COVID-19, тромбоцитарно-лейкоцитарные коаграты.*

Gaidukova T.V., Lukyanov S.A., Shapovalov K.G.,
Fefelova E.V., Tereshkov P.P., Tsybikov N.N.

SOME MECHANISMS OF COAGULOPATHY DEVELOPMENT IN PATIENTS WITH COVID-19

Chita State Medical Academy, Chita, Russia

Abstract. *The role of platelet-leukocyte coaggregates of venous blood in the development of coagulopathy in patients with COVID-19 was determined. It was shown that in patients with severe COVID-19, according to thrombodynamics data, 4 types of coagulopathy are formed: severe hypercoagulation, hypercoagulation, normocoagulation, hypocoagulation. Moreover, the total number of platelet-leukocyte coaggregates in the group of patients with severe hypercoagulation increases by 2.5 times ($P < 0.01$), and in the group with normocoagulation it decreases by 1.6 times ($P < 0.01$) compared to the control group. A decrease in lymphocyte-platelet rosettes compared to the control group by 2.5 times or more, monocytic-platelet rosettes by 1.5 times or more in all studied groups and an increase in the number of neutrophil-platelet coaggregates, mainly in the group of individuals with hypercoagulation were found.*

Key words. *Coagulopathy, COVID-19, platelet-leukocyte coaggregates.*

Известно, что у больных COVID-19 развивается коагулопатия, коррелирующая с тяжестью заболевания, развивающейся полиорганной недостаточностью и более высокой смертностью [1].

Однако патогенез нарушения свертываемости крови при COVID-19 все еще находится в

стадии изучения. Предполагается, что коагулопатия может быть обусловлена избыточной продукцией воспалительных цитокинов, повреждением эндотелия, нарушением регуляции системы гемостаза, снижением уровня естественных антикоагулянтов. Каскад коагуляции активируется, в этом случае, в качестве защитной реакции организма, направленной на ограничение распространения патогенов. При этом уровень ингибитора активатора пламиногена (РАI-1) заметно повышается, фибринолиз подавляется и затрудняется растворение множественных микротромбов, что в конечном результате приводит к внутрисосудистым нарушениям микроциркуляции и развитию органной дисфункции.

Появляется все больше и больше свидетельств, указывающих на то, что коагулопатия, вызванная COVID-19, характеризуется протромботическим состоянием, обусловленным воспалением, и возможно, образованием тромбоцитарно-лейкоцитарных коагратов (ТЛейКА) [2]. Для клинициста же важны знания о различных клинических проявлениях коагулопатии, ассоциированной с COVID-19, чтобы своевременно диагностировать, предотвращать, и лечить эти осложнения.

Целью нашей работы явилось определение роли тромбоцитарно-лейкоцитарных коагратов венозной крови в развитии коагулопатии у больных COVID-19.

Материалы и методы исследования. В исследование включены пациенты отделения интенсивной терапии и реанимации моностационара, развернутого на базе ГУЗ «Городская клиническая больница №1», г. Чита.

Критерии включения: согласие пациента на исследование, подтвержденный диагноз COVID-19 (U 07.1), тяжелое поражением легочной ткани по данным КТ-исследования (КТ-3, КТ-4) (n=93). Критерии не включения: беременность; неподтвержденный диагноз COVID-19; наличие ВИЧ-инфекции, гепатитов В и С. Критерии исключения: обострения сердечно-сосудистых заболеваний; терминальная стадия онкопатологии и декомпенсированная почечная и печеночная недостаточность; несоблюдение протокола и преаналитического этапа исследования.

Взятие крови выполняли на 7-8 день заболевания. Все пациенты получали терапевтические дозы низкомолекулярных гепаринов. Взятие крови проводили перед очередным введением низкомолекулярных гепаринов, согласно общим рекомендациям по взятию проб для лабораторных исследований [4], тем самым минимизировав влияние антикоагулянтов на гемостаз.

Контрольную группу составили относительно здоровые лица, проходившие обследование в 2018 году. У инфицированных пациентов был выявлен Уханьский штамм COVID-19. Возраст всех обследуемых находился в диапазоне от 46 до 78 лет, из них 69 % было мужчин, а 31% составляли женщины.

Коагуляционный гемостаз оценивали методом тромбодинамики на приборе «Регистратор Тромбодинамики Т-2» («Гемакор», Москва).

По результатам тромбодинамического исследования все пациенты были разделены на четыре группы: выраженная гиперкоагуляция, гиперкоагуляция, нормокоагуляция, гипокоагуляция [3].

Определение количества клеток венозной крови и лейкоцитарно-тромбоцитарных коагратов (ТЛейКА) проводили на проточном цитофлюориметре Cyto FLEX LX

(BeckmanCoulter, США), оснащенном четырьмя диодными лазерами 355, 405, 488 и 561 нм. Для выявления основных популяций лейкоцитов, субпопуляций лимфоцитов и лейкоцитарно-тромбоцитарных комплексов применялась следующая панель моноклональных антител, конъюгированных с различными флуорохромами.

Определения уровня тканевого фактора (TF), D-димера, тканевого активатора пламиногена (tPA), ингибитора активатора пламиногена-1 (PAI-1) в сыворотке крови проводили на мультиплексном анализаторе с помощью панели LEGENDplex™ Human Thrombosis Mixand Match Subpanel.

Статистическая обработка данных проводилась с использованием однофакторного дисперсионного анализа Крускала-Уолесса. Достоверность различий между группами (p) оценивали при помощи попарных сравнений Двасса-Стила-Кричлоу-Флигнера. Статистически достоверными считались данные при количественной характеристике случайностей (p-значение) не более 0,05.

Полученные результаты и их обсуждение.

При анализе показателей тромбодинамики у обследуемых пациентов с COVID-19 зафиксирована вариабельность показателей средней, начальной и стационарной скоростей образования сгустка, что позволило выделить 4 группы: выраженная гиперкоагуляция, гиперкоагуляция, нормокоагуляция и гипокоагуляция.

Размер сгустка и его плотность оказались минимальными в группе пациентов с гипокоагуляцией.

При оценке уровней фибриногена D зафиксирован рост его концентрации во всех исследуемых группах с минимальной концентрацией в группе «нормокоагуляция». Концентрация фибриногена по Клауссу была также увеличена во исследуемых группах с максимальными значениями у больных первой и второй группы.

Наличие спонтанных сгустков (Tsp) указывает на высокий протромботический потенциал плазмы крови. К образованию Tsp приводит присутствие в крови активированных факторов свертывания (например, факторов IXa и XIa), тканевого фактора, повышенная концентрация прокоагулянтных микровезикул [5]. Нами было показано, что спонтанные сгустки присутствовали только в группах с «выраженной гиперкоагуляцией» и «гиперкоагуляцией» и появлялись в среднем на 13 минуте исследования. Наличие Tsp характерно для развивающейся полиорганной недостаточности у больных COVID-19 [6]. Полученные результаты могут указывать на недооценку тромботического риска именно в этих группах пациентов.

Общее число лейкоцитов у обследуемых находилось в пределах референса, однако наблюдалось их снижение по сравнению с группой контроля за счет развития лимфоцитопении. Минимальное число тромбоцитов зарегистрировано в четвертой группе пациентов – 166,00 (142,00; 207,00) тысяч в 1 мкл крови.

Тромбоциты, помимо своей специализированной роли в гемостазе, активно модулируют реакции врожденного и адаптивного звеньев иммунной системы, играя значительную роль в воспалении. Последнее возможно при прямом взаимодействии белых кровяных пластинок с различными типами лейкоцитов [7].

Общее число TЛейкА в группе пациентов с выраженной гиперкоагуляцией возросло в 2,5 раза (P<0,01), а в группе с нормокоагуляцией снизилось в 1,6 раза (P1<0,01) по

сравнению с группой контроля. При детальном рассмотрении изменения числа различных ТЛейкА обнаружено снижение лимфоцитарно-тромбоцитарных розеток по сравнению с контрольной группой в 2,5 и более раз, моноцитарно-тромбоцитарных – в 1,5 и более раз во всех исследуемых группах и рост количества нейтрофило-тромбоцитарных коагратов, преимущественно в группе лиц с гиперкоагуляцией.

В нашем исследовании наблюдается тенденция к росту ТЛейкА с М3 и резкое снижение с М1 и М2. Сокращение их числа, вероятно, обусловлено миграцией моноцитов в паренхиму легких как для ограничения очага воспаления, так и борьбы с патогеном.

Анализ биологически активных веществ, секретируемых клетками миелоидного ряда выявил высокую концентрацию миелопероксидазы, металлопротеиназы – 9, цистатина С, что свидетельствует, с одной стороны об интенсификации процессов воспаления, с другой – о включении механизмов саногенеза – рост уровня ингибитора сериновых протеаз-цистатина С. К механизмам ограничения очага воспаления, кроме формирования лейкоцитарного вала, относится также и нарушение микроциркуляции, обусловленное, в том числе, развивающейся гиперкоагуляцией. Поэтому на следующем этапе нашего исследования мы оценили количество тканевого фактора(ТФ) в венозной крови обследуемых. Нами зафиксирован рост уровня ТФ во всех исследуемых группах с максимальной концентрацией у больных группы «гипокоагуляция», что, вероятно, может свидетельствовать о развивающейся коагулопатии потребления и меньшего включения тканевого фактора в активацию коагуляционного гемостаза, либо – высокой степенью реактивности у этой группы пациентов на введение гепарина.

Наиболее выражено увеличивалось число нейтрофило-тромбоцитарных коагратов и наблюдался рост концентрации медиаторов клеток миелоидного ряда. Известно, что активированные нейтрофилы могут выделять ряд провоспалительных цитокинов, таких как интерлейкин-6, интерлейкин-8, интерферон- γ , фактор некроза опухоли- α и др. [8]. Однако чрезмерная активация полиморфоядерных лейкоцитов может приводить к окислительному стрессу, локальному и системному воспалению, последующему повреждению эндотелия капилляров, что, безусловно, будет способствовать увеличению частоты тромботических событий. Кроме того, активированные нейтрофилы способны образовывать внеклеточные нейтрофильные ловушки (NETs). В различных исследованиях показаны повышенные количества NETs как в периферической крови, так и в легочных тканях пациентов с COVID-19 [9]. Геант и др. [10] провели многоцентровое исследование с участием 155 пациентов, страдающих COVID-19 и предположили, что нейтрофильная эластаза, дезоксирибонуклеаза и NETs участвуют в прогрессировании COVID-19. Повышение числа нейтрофилов и NETs при тяжелом течении COVID-19 может быть тесно связано с активацией лейкоцитов через путь IL-8/CXCR2. Важно отметить, что NETs также способствует повреждению ткани легких и развитию микрососудистого тромбоза, как по внешнему, так и по внутреннему пути образования протромбиназы [9].

Таким образом, сформированные ТЛейкА приносят свой вклад в развитие коагулопатии при COVID-19. ТЛейкА способствуют экспрессии ТФ тромбоцитами и моноцитами, усиливать секрецию тромбоцитарного фактора 4, обладающего антигепариновой активностью и обуславливают разную степень реактивности к терапии гепарином. Более того, ТЛейкА модулируют фибринолитические реакции, инициируют воспаление и

способствуют тромбообразованию, ухудшают параметры микроциркуляции и, в конечном итоге, приводят к формированию полиорганной недостаточности с доминантным поражением легочной ткани при COVID-19.

Выводы:

У пациентов с COVID-19 по данным тромбодинамики формируются 4 варианта коагулопатий: выраженная гиперкоагуляция, гиперкоагуляция, нормокоагуляция, гипокоагуляция.

2. При COVID-19 в периферической крови формируются различные виды тромбоцитарно-лейкоцитарных агрегатов: тромбоцито-лимфоцитарные, тромбоцито-моноцитарные и тромбоцито-нейтрофильные, вносящие свой вклад в развитие коагулопатии, воспаления, нарушения микроциркуляции и полиорганной недостаточности.

Список литературы:

1. Jin S, Jin Y, Xu B, Hong J, Yang X. Prevalence and Impact of Coagulation Dysfunction in COVID-19 in China: A Meta-Analysis. *Thromb Haemost.* 2020 Nov;120(11):1524-1535. doi: 10.1055/s-0040-1714369.
2. Бурдиенко Т.О., Гайдукова Т.В., Шаповалов К.Г., Терешков П.П., Фефелова Е.В., Цыбиков Н.Н. Роль лейкоцитарно-тромбоцитарных коагрегатов в патогенезе коагулопатии у пациентов с COVID-19 // *Дальневосточный медицинский журнал.* 2024. № 2. С. 17-22.
3. Кречетова Л.В., Нечипуренко Д.Ю., Шпилюк М.А., Безнощенко О.С., Береснева Е.А., Маркелов М.И., Иванец Т.Ю., Гаврилова Т.Ю., Козаченко И.Ф., Есян Р.М., Пырегов А.В., Хачатрян Н.А., Кодацкий Д.С., Спиридонов И.С., Долгушина Н.В., Городнова Е.А., Атауллаханов Ф.И., Румянцев А.Г., Дегтярев Д.Н. Использование теста тромбодинамики в диагностике нарушений гемостаза у больных COVID-19 разной степени тяжести. *Клиническая практика.* 2021;12(4):23–37. doi: <https://doi.org/10.17816/clinpract88138>
4. Simundic AM, Bolenius K, Cadamuro J, et al. On behalf of the Working Group for Preanalytical Phase (WG-PRE), of the European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (EFLM) and Latin American Working Group for Preanalytical Phase (WG-PRE-LATAM) of the Latin America Confederation of Clinical Biochemistry (COLABIOCLI) Joint EFLM-COLABIOCLI Recommendation for venous blood sampling v 1.1. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*; June, 2018.
5. Lipets E, Vlasova O, Urnova E, et al. Circulating contact-pathwayactivating microparticles together with factors IXa and XIa induce spontaneous clotting in plasma of hematology and cardiologic patients. *PLoS One.* 2014;9(1):e87692. doi: 10.1371/journal.pone.0087692
6. Бовт Е.А., Бражник В.А., Буланов А.Ю., и др. Результаты многоцентрового мониторинга показателей гемостаза у больных с COVID-19 // *Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского.* 2020. Т. 99, № 6. С. 62–73.
7. Finsterbusch M, Schrottmaier WC, Kral-Pointner JB, Salzmann M, Assinger A. Measuring and interpreting platelet-leukocyte aggregates. *Platelets.* 2018 Nov;29(7):677-685. doi: 10.1080/09537104.2018.1430358.
8. Li J, Zhang K, Zhang Y, Gu Z, Huang C. Neutrophils in COVID-19: recent insights and

- advances. *Virology Journal*. 2023 Aug;20(1):169. DOI: 10.1186/s12985-023-02116-w.
9. Cavalcante-Silva LHA, Carvalho DCM, Lima ÉA, Galvão JGFM, da Silva JSF, Sales-Neto JM, Rodrigues-Mascarenhas S. Neutrophils and COVID-19: The road so far. *Int Immunopharmacol*. 2021 Jan;90:107233. doi: 10.1016/j.intimp.2020.107233.
10. Guéant JL, Guéant-Rodriguez RM, Fromonot J, Oussalah A, Louis H, Chery C, Gette M, Gleye S, Callet J, Raso J, Blanchecotte F, Lacolley P, Guieu R, Regnault V. Elastase and exacerbation of neutrophil innate immunity are involved in multi-visceral manifestations of COVID-19. *Allergy*. 2021 Jun;76(6):1846-1858. doi: 10.1111/all.14746.

УДК: 616 – 022 : 001.851.5

Галак И. Р., Цыдендамбаев Б.Б., Боязитова Е.А.

СТРАТЕГИЯ ИЗУЧЕНИЯ НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ВНЕКЛЕТОЧНЫХ ЛОВУШЕК. ТОНКОСТИ И ПОДВОДНЫЕ КАМНИ ПРИ РАБОТЕ С НЕЙТРОФИЛАМИ
ФГБОУ ВО Читинская государственная медицинская академия, Чита, Россия

Резюме. Описывается собственный опыт работы с нейтрофилами и внеклеточными ловушками, трудности с которыми можно встретиться, а также пути их решения.

Ключевые слова: НЕТоз; фиколл-урографин; нейтрофилы

Galak I.R., Tsydendambaev B.B., Boyazitova E.A.

A STRATEGY FOR INVESTIGATING NEUTROPHIL EXTRACELLULAR TRAPS. SUBTLETIES AND PITFALLS OF WORKING WITH NEUTROPHILS
Chita State Medical Academy, Chita, Russia

Abstract. Describes our own experience of working with neutrophils and extracellular traps, difficulties that can be encountered, as well as ways to solve them.

Key words: NETs; ficoll-urographine; neutrophils.

Нейтрофилы, как представители основных типов клеток конституитивного иммунитета, активно участвуют в воспалительном процессе [1]. На сегодняшний день отмечается большая фенотипическая гетерогенность и функциональная универсальность этих клеток [4]. Эффекторные функции нейтрофилов по борьбе с патогенами включают дегрануляцию и окислительный взрыв, фагоцитоз, образование внеклеточных ловушек. До недавнего времени эти функции считались единственным назначением полиморфноядерных лейкоцитов. Однако современные исследования показывают, что нейтрофилы обладают более разнообразным репертуаром функциональных реакций, выходящих за рамки простого уничтожения микроорганизмов. Так, они, реагируя на многочисленные сигналы, продуцируют цитокины и другие провоспалительные факторы, которые регулируют как воспаление [3], так и работу иммунной системы в целом, а также вносят вклад в работу системы гемостаза [2].

Работа с нейтрофилами имеет свои особенности и трудности, так как эти клетки чрезвычайно реактивны и чувствительны к воздействию активаторов, особенно в

условиях *in vitro*. Важным требованием является максимально возможное устранение факторов, способных привести к активации нейтрофилов на этапе пробоподготовки.

Все используемые реагенты и лабораторная посуда должны быть стерильными. Эксперименты должны проводиться в ламинарном боксе. Все это позволяет максимально снизить риск контаминации и, как следствие, риск искажения конечных результатов.

Источником нейтрофилов могут служить периферическая кровь здоровых или больных людей/лабораторных животных. Возможно применение мочи, мокроты, экссудатов, ликвора и других биологических жидкостей, полученных у пациентов с такими патологическими состояниями, при которых в искомым жидкостях наблюдается появление клинически-значимого количества нейтрофилов. Периферическая кровь должна быть стабилизирована антикоагулянтом (K2 или K3 EDTA, цитрат натрия, Li-гепарин и др.).

Разведение крови. Полученную и стабилизированную кровь желательно разводить, так как разведение способствует получению клеточных фракций с большей чистотой, что обусловлено снижением образования коагратов, а также обеспечивает уменьшение её вязкости, что облегчает последующее её наслоение на градиент. Имеются определенные требования к тем растворам, которыми экспериментатор планирует разводить кровь. 0,9% раствор NaCl влияет далеко не лучшим образом на состояние клеток, однако он дешёвый и простой в приготовлении, поэтому может использоваться в тех ситуациях, когда попросту нет никаких иных растворов под рукой. Буферы, содержащие 4-(2-гидроксиэтил)-1-пиперазинсульфоновою кислоту (HEPES), а также специальные культуральные среды являются наиболее подходящими, но имеют высокую цену и не всегда доступны. Оптимальным вариантом, по соотношению цена-качество, является фосфатно-солевой буферный раствор (PBS) с pH 7,4, так как он сочетает в себе минимальное воздействие на клетки, дешевизну и простоту в приготовлении. После приготовления в лаборатории данный буфер без проблем стерилизуется путём автоклавирования. Буферы, в состав которых входит трис-(гидроксиметил)-аминометан (TRIS) не могут применяться в работе с клетками. Это связано с тем, что TRIS способен проникать через цитоплазматическую мембрану и изменять функциональную активность ферментов клетки. Еще одним немаловажным условием является отсутствие в растворе для разведения крови ионов Ca⁺⁺ и Mg⁺⁺, так как их присутствие будет способствовать активации нейтрофильных гранулоцитов.

Выделение нейтрофильных гранулоцитов. Доступный в лабораторных условиях метод изоляции гранулоцитов основан на изопикническом центрифугировании крови на двуступенчатом градиенте плотности фиколл-урографин. Плотность нижнего и верхнего градиента составляет 1.119 и 1.077 соответственно. После центрифугирования при 1500 об/мин в течение 35 минут происходит разделение крови на фракции, показанные на рисунке 1. Фракцию нейтрофилов трижды отмывают PBS, каждый раз центрифугируя 5 минут при 1500 об/мин, меняя буфер после каждой отмывки. Во фракции нейтрофилов всегда будет присутствие остаточных эритроцитов, уменьшить количество которых можно путём центрифугирования не цельной крови, а лейкоконцентрата, который получают путем отстаивания крови в термостате при 37°C в течение 30 минут, пробирка находится пол углом 45°, а затем при комнатной температуре 15 минут в вертикальном положении.

Гипотонический лизис эритроцитов проводить не рекомендуется, так как гемолиз способствует неспецифической активации нейтрофилов. В целом, их присутствие не оказывает значимого влияния, к тому же они не адгезируются ко дну лунки культурального планшета. Существует несколько иной способ получения нейтрофилов, в котором используется раствор декстрана. Сначала кровь центрифугируется на одноступенчатом градиенте фиколл-урографин с плотностью 1.077 аналогичным образом.



Рисунок 1. Фракции периферической крови после центрифугирования на градиенте плотности фиколл-урографин. Автор фото – И.Р. Галак

После отделения осадка, содержащего эритроциты и нейтрофилы, его разводят стерильным 6% раствором декстрана и оставляют на 30 минут. Декстран способствует склеиванию эритроцитов в монетные столбики и их быстрой седиментации, а нейтрофилы остаются в супернатанте. Отмывка нейтрофилов осуществляется аналогичным образом.

Подсчет нейтрофилов можно осуществлять в камере Горяева или в гемоцитометре Neubauer. Оптимальная концентрация клеток составляет 2000-5000 в микролитре. Для определения жизнеспособности клеток применяется 0,4% раствор трипанового синего в PBS с pH 7.4, при этом клеточная культура и раствор красителя смешиваются в соотношении 1:1, окраска берется в течение 15 секунд. Мертвые клетки – окрашены в синий цвет, а жизнеспособные остаются неокрашенными. Жизнеспособность должна составлять не менее 95% клеток. Постановка эксперимента в пробирке, а затем приготовление мазка на стекле не рекомендуется, так как сети внеклеточных ловушек могут прилипнуть к стенкам пробирки и не будут перенесены на стекло. Такую проблему можно решить путём использования специальных культуральных планшетов (рис.1), в лунки которых помещаются изолированные нейтрофилы и дополнительные факторы, влияние которых интересует экспериментатора. После проведения эксперимента, микроскопия проводится непосредственно в лунках с помощью инвертированного микроскопа. Если таких планшетов в наличии нет, то можно их заменить чашками Петри, изготовленными из полистирола, обеспечивающего адгезию клеток.

Индукторы NETs. Сегодня известно немало факторов, способных индуцировать образование внеклеточных ловушек, часть из которых отображена на рис. 2.

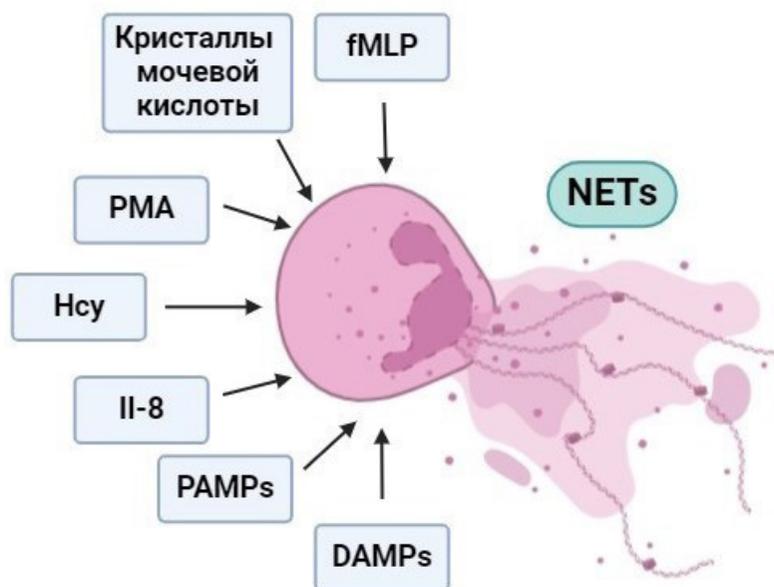


Рисунок 2. Индукторы нейтрофильных внеклеточных ловушек. PAMPs – патоген ассоциированные молекулярные паттерны. DAMPs – молекулярные паттерны ассоциированные с повреждением. PMA – форбол 12-миристат 13-ацетат. IL-8 – интерлейкин-8. Hcy – гомоцистеин. fMLP – N-формилметионил-лейцил-фенилаланин. Данная схема не является исчерпывающей, а показывает лишь основные факторы, провоцирующие образование NETs. Автор рисунка – И.Р. Галак

Идентификация внеклеточных ловушек. На сегодняшний день существует множество различных методик, позволяющих прямо или косвенно идентифицировать NETs. Наиболее точные методы определения внеклеточных ловушек основаны на определении специфических маркеров, таких как гистоны, комплекс ДНК/миелопероксидазы и др. Недостатком данных способов является их дороговизна, поскольку они требуют применения моноклональных антител и специального дорогостоящего оборудования. Окрашивание по Романовскому-Гимзе с последующей микроскопией намного дешевле, но такой способ не позволяет дифференцировать NETs от артефактов, что снижает точность. Промежуточным вариантом могут служить цитохимические реакции, позволяющие определить специфичные для нейтрофилов маркеры, а также дифференцировать цитоплазму и хроматин. В нашей лаборатории для этих целей была применена PAS-реакция (periodic acid-Shiff, Шифф-йодная кислота). В ходе такого метода окрашивания цитоплазма нейтрофилов окрашивается в сиреневый цвет. Для нейтрофилов характерно диффузное окрашивание цитоплазмы, отличное от иных PAS-положительных структур, для которых характерно очаговое окрашивание. Ядра докрашиваются малахитовым зеленым, что позволяет создать четкий контраст между цитоплазмой и хроматином нейтрофильных гранулоцитов. Достижение такого контраста даёт возможность отличить внеклеточные ловушки от различных артефактов.

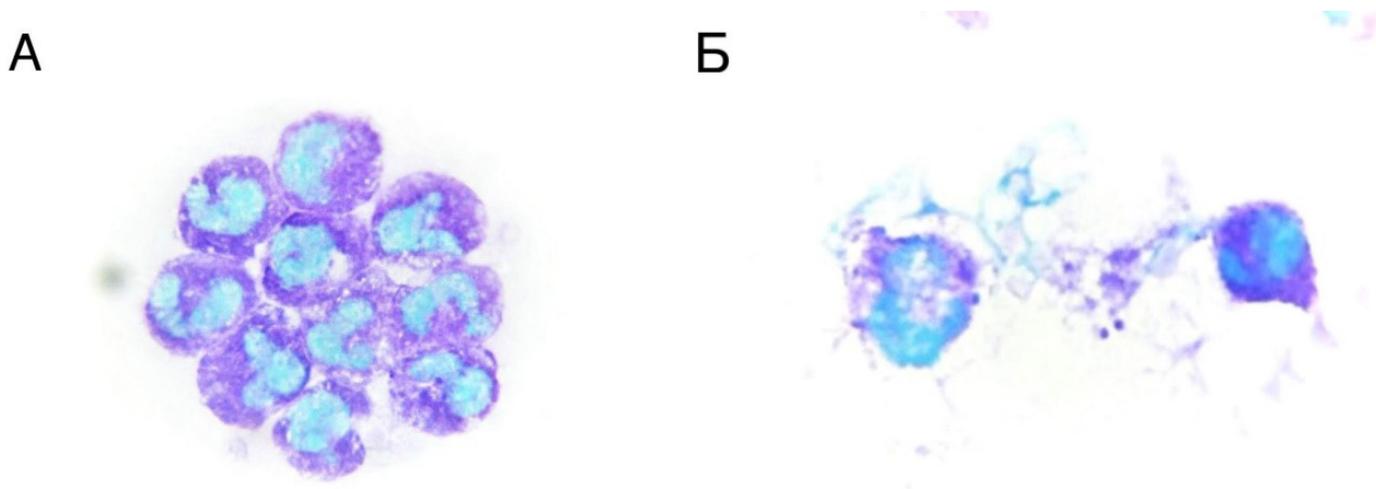


Рисунок 3. PAS-реакция: А – изолированные нейтрофилы. Коагрегация обусловлена неполным ресуспендированием. Б – нейтрофилы, инкубированные с липополисахаридом в течение 1.5 часов. Визуализируется внеклеточная сеть, состоящая из хроматина и цитоплазматических белков. Автор фото – И.Р. Галак

Заключение. Для получения достоверных результатов при работе с нейтрофилами необходимо придерживаться большого количества условий. Важную роль играет соблюдение принципов асептики в лаборатории. Если необходимо внести микроорганизмы в культуру нейтрофилов, то это необходимо делать так, чтобы не допустить контаминацию растворов, сред и др., так как дальнейшее использование контаминированных реагентов будет сильно искажать конечный результат. Важно правильно подбирать состав буфера для разведения крови, который не должен губительно влиять на нейтрофилы или активировать их, а также должен соответствовать финансовым возможностям лаборатории. Неправильное наслоение крови на градиент может привести к получению сильно загрязнённой фракции гранулоцитов. Идентификация NETs должна осуществляться доступными для конкретной лаборатории методами, однако нельзя найти идеальный метод обнаружения ловушек, который был бы одновременно точным и дешевым. Соблюдение вышеперечисленных условий, а также совершенствование методик на основе полученного опыта помогут успешно провести запланированный эксперимент.

Список литературы:

1. Кузник Б.И., Цыбиков Н.Н., Витковский Ю.А. Единая гуморальная система защиты организма // Забайкальский медицинский вестник. - 2004. - № 4. - С. 13-19.
2. Цыбиков Н.Н., Кузник Б. И., Рудник М.И. Доказательство иммунного механизма регуляции ферментов гемостаза // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1982. – Т. 93. – № 5. С. 8.
3. Rosales C Neutrophil: A Cell with Many Roles in Inflammation or Several Cell Types? // Front. Physiol. - 2018. - Vol.9. - P.113. -. DOI: 10.3389/fphys.2018.00113
4. Silvestre-Roig C, Hidalgo A, Soehnlein O. Neutrophil heterogeneity: implications for

homeostasis and pathogenesis. // Blood. - 2016. - Vol. 127(18). - P. 2173-81. - 10.1182/blood-2016-01-688887. DOI: 10.1182/blood-2016-01-688887

УДК: 616 – 092 : 616.155.194.18

Галак И.Р., Жалсараева Д.Б., Бабинский В.В., Максимова О.Г.

ПАТОГЕНЕТИЧЕСКАЯ РОЛЬ НЕДОСТАТОЧНОСТИ КРОВЕТВОРЕНИЯ В РАЗВИТИИ ПАРОКСИЗМАЛЬНОЙ НОЧНОЙ ГЕМОГЛОБИНУРИИ НА ПРИМЕРЕ КЛИНИЧЕСКОГО НАБЛЮДЕНИЯ
ФГБОУ ВО Читинская государственная медицинская академия, Чита, Россия

Резюме. Описан клинический случай орфанного заболевания – пароксизмальной ночной гемоглобинурии (болезнь Маркиафавы-Микели). На примере данного кейса рассматривается роль недостаточности кроветворения в развитии описываемой нозологии.

Ключевые слова: ПНГ-клон; идиопатическая апластическая анемия; болезнь Маркиафавы-Микели, недостаточность кроветворения

Galak I.R., Zhalsaraeva D.B., Babinsky V.V., Maksimova O.G.

PATHOGENETIC THE ROLE OF HEMATOPOIETIC DEFICIENCY IN THE DEVELOPMENT OF PAROXYSMAL NOCTURNAL HEMOGLOBINURIA ON THE EXAMPLE OF CLINICAL OBSERVATION
Chita State Medical Academy, Chita, Russia

Abstract. A clinical case of an orphan disease - paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (Markiafava-Mikeli disease) - is described. The role of hematopoietic insufficiency in the development of the described nosology is considered on the example of this case.

Key words; PNH-clone; idiopathic aplastic anemia; Marchiafava-Micheli syndrome, hematopoietic deficiency

Несмотря на то, что пароксизмальная ночная гемоглобинурия (ПНГ) является орфанным заболеванием, она занимает особое место в структуре болезней системы крови. По данным международного регистра ПНГ, заболеваемость составляет 1-1.5 на 1000 000 населения в год [2]. Заболевание встречается как у женщин, так и у мужчин. Женщины болеют несколько чаще мужчин, а доля детей составляет 15-20% всех описанных случаев [1].

ПНГ имеет сложную патофизиологию и разнообразные клинические проявления. На сегодняшний день известно, что молекулярным толчком к её развитию, является приобретенная соматическая мутация гена *PIG-A*, локализованного на коротком плече X-хромосомы. Этот ген кодирует А-субъединицу фосфатидилинозитол N-ацетилглюкозаминилтрансферазы, необходимой для синтеза гликозилфосфатидилинозитола (GPI) – мембранного якоря, с помощью которого на мембране клеток фиксируются различные белки [5]. Среди таких белков особую роль

играют CD55 - DAF (Decay-Accelerating Factor) и CD59 - MIRL (Membrane Inhibitor of Reactive Lysis). Дефицит выше указанных белков приводит к потере защиты форменных элементов крови от повреждающего действия мембраноатакующего комплекса (МАК), образующегося в ходе активации комплемента по любому из трех путей.

Однако, одной лишь мутации гена PIG-A недостаточно для развития заболевания. Это подтверждается тем, что ПНГ-подобные клетки встречаются и у здоровых лиц. Например, у людей без каких-либо проявлений ПНГ, среди общей популяции эритроцитов, в среднем 4% составляют ПНГ-эритроциты [1]. Должны быть дополнительные условия, способствующие развитию клинических проявлений ПНГ, которые на сегодняшний день изучены недостаточно. Среди них можно выделить механизмы клональной эволюции и клональной экспансии, что наблюдается у лиц с приобретенной апластической анемией, так как аутоиммунитет против нормальных CD34+ клетки и последующая недостаточность костного мозга создают благоприятные условия для последующего развития мутантных стволовых клеток с образованием ПНГ-клона [5].

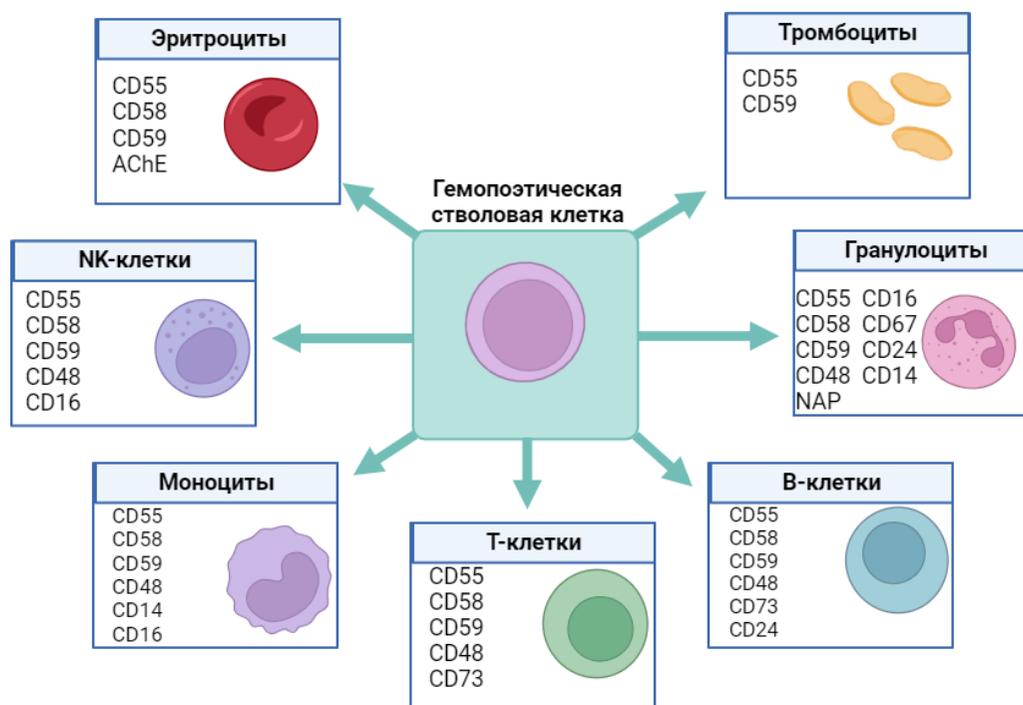


Рис. 1. GPI-заякоренные белки. К ним относятся белки, регулирующие активность комплемента и защищающие клетку от МАК (DAF или CD55 и MIRL или CD59). Некоторые ферменты (эритроцитарная ацетилхолинэстераза, нейтрофильная щелочная фосфатаза и др.). Некоторые рецепторы (FcγRIII или CD16, рецептор урокиназы, рецептор бактериальных липополисахаридов или CD14 и др.) [3, 4].

Заболевание характеризуется следующими признаками: Кумбс-отрицательной приобретенной гемолитической анемией, дисфункцией кроветворения и недостаточностью костного мозга, тяжелыми тромботическими, тромбоэмболическими и органными осложнениями [2]. Выделяют несколько типов течения болезни Маркиафавы-Микели: классическая (гемолитическая), апластическая анемия/ПНГ, промежуточная и субклиническая формы ПНГ [5, 6]. Гемолиз может носить как внутри-, так и

внесосудистый характер. Первый обусловлен действием МАК, а второй – усиленным захватом эритроцитов клетками системы мононуклеарных фагоцитов (МНФ) вследствие их опсонизации, главным образом С3b. Причиной смерти пациентов с ПНГ могут служить тяжелые осложнения инфекционной этиологии, венозные (чаще) и артериальные тромбозы, тромбоэмболии, гипо- или аплазия костного мозга, острое повреждение почек при гемолитическом кризе, хроническая болезнь почек вследствие микротромбоза капилляров клубочков и/или инфекции органов мочевыделительной системы, а также развитие миелодиспластического синдрома с трансформацией в острый лейкоз [1].

В качестве клинического случая демонстрируем выписку из истории болезни пациента А, 20 лет (дата рождения 09.03.2004), которому 17.07.2019 в ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева», пациенту был выставлен диагноз приобретенной идиопатической апластической анемии, пароксизмальной ночной гемоглобинурии. ПНГ подтверждена методом проточной цитофлуометрии, а также молекулярно-генетическим исследованием (мутация гена PIG-A). Аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток не проводилась вследствие отсутствия совместимого донора. С 01.08.2019 начата комбинированная иммуносупрессивная терапия (АТГАМ + циклоспорин + револейд). С 23.09.2019 в рамках международного клинического исследования по протоколу ALXN1210-PNH-304 получал антикомплементарную терапию равулизумабом, перед проведением которой был вакцинирован от пневмококковой и менингококковой инфекций. Трансформация в острый лейкоз/миелодиспластический синдром исключена.

03.05.2024 в 22:40 госпитализирован бригадой скорой медицинской помощи в дежурный стационар в связи с повышением температуры тела до 40°C.

Общее состояние крайне тяжелое. Положение больного пассивное, продуктивному контакту недоступен. Температура тела 40°C. Сознание по шкале комы Глазго 13. При физикальном обследовании: кожные покровы бледные, аускультивно жесткое дыхание, АД 50/20 мм.рт.ст., ЧСС 106, ЧДД 16, SpO₂ на атмосферном воздухе 90 (%). Тяжесть состояния подтверждается клиническим анализом крови, в котором выявлены тяжелая трёхростковая цитопения. Стоит отдельно отметить наличие агранулоцитоза. HGB – 48 г/л, RBC – 1.48*10¹²/л, HCT – 14.0, MCV – 94.6 фл, MCH – 32.4 пг, WBC – 0.28*10⁹/л, NEUT# - 0.08*10⁹/л, LYMPH# - 0.19*10⁹/л, MONO# - 0.01*10⁹/л, PLT - 2*10⁹/л, NRBC 0.08*10⁹/л Несмотря на нормальное значение среднего объема эритроцитов (MCV) и на небольшое увеличение среднего содержания гемоглобина в эритроците (MCH), отмечается увеличение показателей ширины распределения эритроцитов (RDW-SD и RDW-CV), что говорит о анизоцитозе, подтверждающийся микроскопией мазка (рис. 2). Помимо этого, при микроскопии выявлена диморфная популяция эритроцитов, шизоциты (3.2 %), а также подтверждается наличие нормобластов (NRBC)

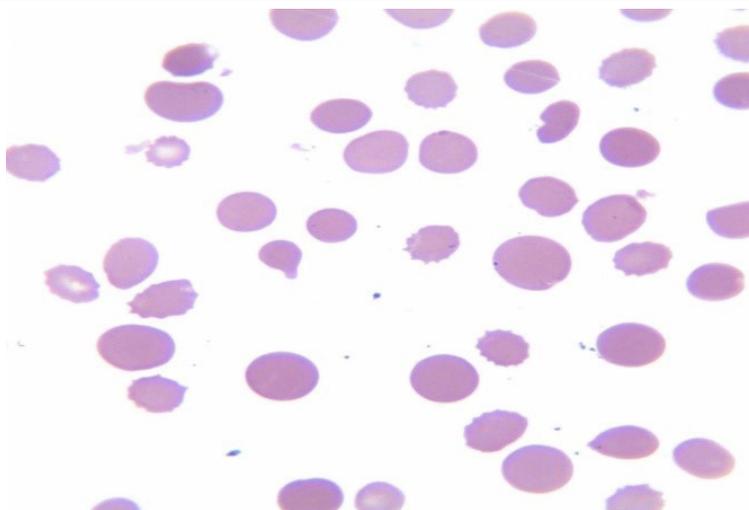


Рис. 2. Мазок периферической крови, окрашенный по Май-Грюнвальду-Гимзе, увеличение 1000х. Отмечается выраженный анизо- и пойкилоцитоз, большая часть эритроцитов представлена макросфероцитами. Автор фото – И.Р. Галак

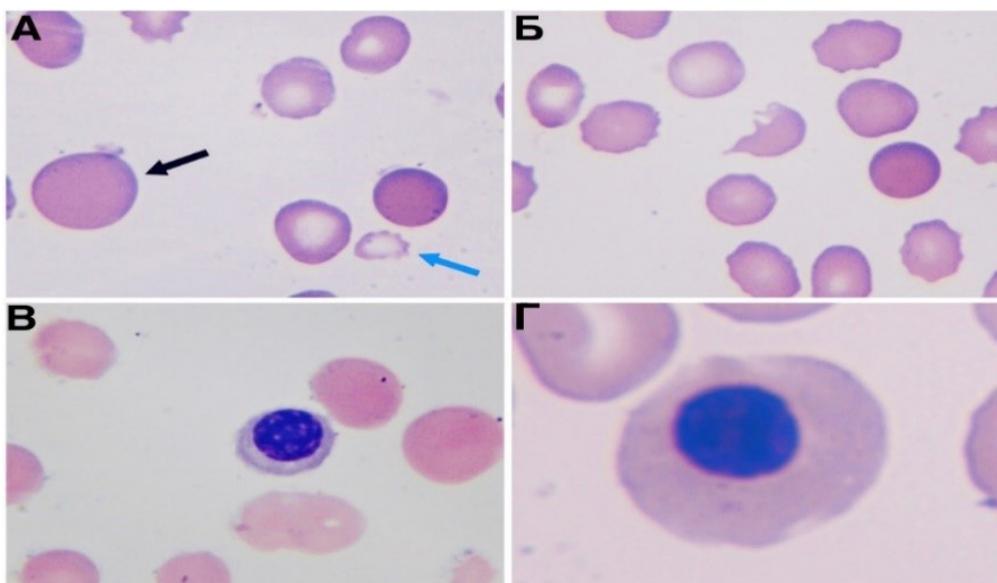


Рис. 3. А. Диморфная популяция эритроцитов, присутствуют как макро-, так и микроциты. Этим обусловлено то, что MCV находится в пределах референтных значений. Б. Шизоцит В. Полихроматофильный нормобласт. Г. Оксифильный нормобласт. Автор фото – И.Р. Галак.

Коагулограмма: ПВ 22.4 сек, МНО 2.18, АЧТВ 81.1 сек, фибриноген 1.43 г/л.
Биохимический анализ крови: Общий белок 50.97 г/л, АСТ 42.02 ЕД/л, АЛТ 30.33 ЕД/л, общий билирубин 27.68 мкмоль/л, прямой билирубин 3.26 мкмоль/л, Креатинин 337.5 мкмоль/л, мочевина 10.8 ммоль/л, сывороточное железо 2.88 мкмоль/л.

04.05.24 в 06:18 наступила остановка сердечной и дыхательной деятельности. Реанимационные мероприятия не оказали эффекта и в 06:50 констатирована смерть пациента. Тело направлено в ГУЗ «Забайкальское краевое патологоанатомическое бюро» для патологоанатомического исследования и установления непосредственной причины смерти, среди которых могут быть: инфекция на фоне агранулоцитоза, кровотечение,

тромбозы и др.

Заключение: представленный случай показывает патогенетическую роль недостаточности кроветворения в развитии пароксизмальной ночной гемоглобинурии. Действительно, элементы ПНГ встречаются у 61% больных приобретенной апластической анемией [1]. Несмотря на то, что болезнь Маркиафавы-Микели может развиваться без сочетания с приобретенной апластической анемией [4], аутоиммунная агрессия против стволовых гемопоэтических клеток и последующая гипо/аплазия костного мозга играют существенную роль в дальнейшем развитии уже имеющихся клеток с мутацией гена *PIG-A*. Приобретенная апластическая анемия не только повышает риск развития пароксизмальной ночной гемоглобинурии, но и способствует более тяжелому её течению в сравнении с классической ПНГ.

К сожалению, многие аспекты патогенеза описываемого заболевания, сегодня покрыты завесой тайны, поэтому одной из задач современной гематологии и патофизиологии – приоткрыть её, так как это может помочь найти новые пути профилактики и терапии такого тяжелого и жизнеугрожающего заболевания.

Список литературы:

1. Кузник Б.И. Клиническая гематология детского возраста: учеб. пособие / Б. И. Кузник, О. Г. Максимова. – М.: Вузовская книга, 2010. – 496с., [20] л. ил: ил. – ISBN 978-5-9502-0413-5
2. Савченко В. Г., Лукина Е. А., Масчан А.А. [и др.]. Клинические рекомендации Национального гематологического общества, Национального общества детских гематологов и онкологов и Федерации лабораторной медицины по диагностике и лечению пароксизмальной ночной гемоглобинурии у взрослых и детей 2021г.
3. Цветной атлас по клинической гематологии: молекулярная основа заболеваний : руководство / А.В. Хоффбранд, П. Вьяс, Э. Кампо [и др.]; пер. с англ. под ред. В. В. Птушкина. – Москва : ГЭОТАР-медиа, 2023. – 680 с.: ил. – DOI: 10.33029/9704-6290-4-АКГ-2023-1-680 – ISBN 978-5-9704-6290-4
4. Цыбиков Н.Н., Кузник Б. И., Рудник М.И. Доказательство иммунного механизма регуляции ферментов гемостаза // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1982. – Т. 93. – № 5. С. 8.
5. Shah N. Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria. / Shah N, Bhatt H. // In: StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. – July 31. – 2023.
6. Szlendak, Urszula [et al.]. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: advances in the understanding of pathophysiology, diagnosis, and treatment. // Polish archives of internal medicine 2022. – Vol. 132,6 –16271. – doi:10.20452/pamw.16271

УДК 616.71-008.64-008.9-092:611.018.4]-074(045)

Галашина Е.А.

ПАТОГЕНЕТИЧЕСКАЯ РОЛЬ МАРКЕРОВ РЕМОДЕЛИРОВАНИЯ КОСТНОЙ ТКАНИ В РАЗВИТИИ ОСТЕОПОРОЗА (ОБЗОР)

*Саратовский государственный университет имени В.И. Разумовского
Министерства здравоохранения РФ, Саратов, Россия*

Резюме. Целью настоящего обзора явился анализ современных представлений о патогенетическом значении маркеров ремоделирования костной ткани в развитии остеопороза. Проанализированы 570 литературных источников из электронных источников, после применения критериев исключения были включены 48. Представленные в обзоре данные о роли маркеров костного ремоделирования в патогенезе остеопороза позволяют с новой точки зрения подойти к вопросу раннего обнаружения лиц с данной патологией. Особое направление занимает изучение молекулярных процессов в регуляции костного ремоделирования.

Ключевые слова: костная ткань, остеопороз, ремоделирование, резорбция, костеобразование.

Galashina E.A.

PATHOGENETIC ROLE OF BONE TISSUE REMODELING MARKERS IN THE DEVELOPMENT OF OSTEOPOROSIS (REVIEW)

*V.I. Razumovsky Saratov State Medical University,
the Russian Federation Ministry of Healthcare, Saratov, Russia*

Abstract. Aim of this review was to analyze current concepts of the pathogenetic significance of bone tissue remodeling markers in the development of osteoporosis. 570 literature sources from electronic sources were analyzed, 48 were included after applying the exclusion criteria. The analysis revealed that the role of bone remodeling markers in the pathogenesis of osteoporosis allow us to approach the issue of early detection of individuals with this pathology from a new perspective. A special focus is study of molecular processes in the regulation of bone remodeling.

Key words: bone tissue, osteoporosis, remodeling, resorption, bone formation.

Введение. Остеопороз (ОП) – системное возраст-ассоциированное метаболическое заболевание скелета многофакторной природы, которое характеризуется нарушением баланса ремоделирования костной ткани, уменьшением МПКТ, что приводит к повышению рисков возникновения переломов от незначительной травмы [1,3]. Согласно данным ВОЗ, ОП – одно из распространенных патологий опорно-двигательного аппарата среди сердечно-сосудистых и онкологических заболеваний. В настоящее время в мире насчитывается порядка 75 млн. человек с установленным ОП.

Основными этиологическими факторами остеопороза являются женский пол, пожилой возраст, наступление менопаузы, курение, избыточное

потребление алкоголя, дефицит витамина Д, недостаток белка в пище, низкая масса тела, малоподвижный образ жизни, прием гормональных препаратов. Снижение МПКТ у женщин в постменопаузальном периоде в основном связано с возрастными изменениями в репродуктивной системе, результатом чего является быстрая потеря костной массы [9, 11].

Кость – это динамическая система и на протяжении всей жизни (кроме детского и старческого возраста) в ней поддерживается баланс между функциональной активностью остеокластов и остеобластов, участвующих в обеспечении ее структурно-метаболических свойств [5]. Согласно литературным данным, патогенез остеопороза связан с процессами аномального костного ремоделирования, что приводит к постепенному снижению значений МПКТ. В связи с этим целью настоящего обзора явился анализ современных представлений о патогенетическом значении маркеров ремоделирования костной ткани в развитии остеопороза.

Методы. Проанализированы 570 литературных источников из следующих электронных баз данных: PubMed, PubMed Central, e-Library, а также найденные из поисковых платформ Google Scholar, Springerlink и Elsevier. После применения критериев исключения в данный обзор были включены 48 наиболее значимых работ, позволяющих всесторонне осветить отдельные аспекты значения маркеров костного ремоделирования для раскрытия патогенетических механизмов развития остеопороза.

Для оценки степени потери костной массы, часто используют количественное определение продуктов распада коллагена, коллагеновых и неколлагеновых белков межклеточного матрикса кости, отражающих активность костного метаболизма, различных ферментов в биологических жидкостях организма.

Биомаркеры остеогенеза. *Остеокальцин (osteocalcin, OCN)* – специфический неколлагеновый белок межклеточного матрикса кости, являющийся показателем ремоделирования костной ткани и отражающий синтетическую активность остеобластов [8]. В исследованиях Singh S., et al. показано, что у женщин с постменопаузальным ОП уровень OCN в сыворотке крови был выше по сравнению с контрольным показателем, что, возможно, свидетельствует о повышенной скорости костного метаболизма [13]. Авторы предполагают, что изучение сывороточных уровней OCN может использоваться в качестве скрининговой модели для выявления постменопаузальных женщин с остеопорозом. В зарубежной литературе представлена публикация Kumalasari S., et al., сообщающая о значимой взаимосвязи концентрации OCN в моче и показателями МПКТ у женщин в период менопаузы [14]. Авторами было показано, что чем выше содержание изучаемого показателя в моче, тем ниже МПКТ, а наличие прямых корреляционных взаимосвязей между данными параметрами подтверждает факт существенных потерь костной массы при интенсификации обменных процессов в костной ткани.

Костно-специфическая щелочная фосфатаза (или остастаза, BALP). Костно-специфическая щелочная фосфатаза представляет собой фермент, отражающий активность остеобластов, а также положительно коррелирующий со скоростью обменных процессов в костной ткани, в том числе и при ОП [6]. В одном из ряда наблюдений Saad MA., et al. обнаружили, что сывороточный уровень BALP был существенно повышен

у женщин, находящихся в постменопаузе и связан со скоростью костного метаболизма [15].

Биомаркеры резорбции костной ткани. *Пиридинолин и деоксипиридинолин (PYD, PDP)* являются перекрестными пиридиновыми сшивками зрелого коллагена I типа. Наиболее специфичным маркером костной резорбции является *деоксипиридинолин (PDP)*, фрагменты которого обнаруживаются в биологических жидкостях организма во время дезорганизации костной ткани [4]. Demir M., et al. показали, что уровень PDP был повышен в моче у пациентов с ОП по сравнению с пациентами без признаков ОП и отражал процесс деградации коллагена I типа [12]. Таким образом, авторы делают вывод о применении исследуемого показателя в качестве прогностического критерия ОП, что важно для последующего наблюдения за этим заболеванием.

C- и N-концевые телопептиды (CT_x, NT_x) – продукты деструкции молекул коллагена типа I, образующиеся в результате действия фермента катепсина K и матриксной металлопротеиназы [7]. В сообщении Сухаревой А.С. уровень β -Cross Laps в сыворотке крови у постменопаузальных женщин с более низкой МПКТ был выше по сравнению с сывороточным уровнем данного показателя у пациенток с умеренно сниженной МПКТ и с нормальной МПКТ [10]. Проведенные наблюдения свидетельствуют о замедлении процессов обновления костной ткани и угнетении метаболических процессов в ней по мере снижения МПКТ.

Заключение. Представленные в данном обзоре данные о роли маркеров костного ремоделирования в патогенезе остеопороза позволяют с новой точки зрения подойти к вопросу раннего обнаружения лиц с данной патологией. Особое направление занимает изучение процессов молекулярной регуляции костного ремоделирования, что также имеет значение в развитии исследуемого заболевания.

Список литературы:

1. Байрамов, А.А. Процессы костного ремоделирования на этапах коррекции экспериментального индуцированного остеопороза / Е.И. Маевский, А.О. Зеленер, Т.Л. Каронова, П.Д. Шабанов // Вестник Новгородского государственного университета. - 2020. Т.117, № 1. – С.23-29.
2. Белова, С.В. Нарушение субхондрального ремоделирования и активация перекисного окисления липидов в патогенезе ранней стадии остеоартроза / С.В. Белова, Е.В. Гладкова, В.Ю. Ульянов // Профилактическая и клиническая медицина.- 2023. – Т. 87, №2. – С.34-40. -https://doi.org/10.47843/2074-9120_2023_2_34
3. Гальченко, А.В. Влияние факторов образа жизни на метаболизм костной ткани и риск развития остеопороза / А.В. Гальченко // Профилактическая медицина. - 2022. – Т. 25, № 6.- С.96-107. -<https://doi.org/10.17116/profmed20222506196>
4. Гбенникова, Т.А. Маркеры и генетические предикторы остеопороза в клинической практике / Т.А. Гбенникова, В.В. Трошина, Ж.Е. Белая // Consilium Medium. - 2019.– Т. 21, № 4. – С. 97-102. - <https://doi.org/10.26442/20751753.2019.4.190323>
5. Остеопороз у пожилых пациентов / Е.Н. Дудинская, Н.В. Браилова, В.А. Кузнецова [и др.] // Остеопороз и остеопатии. - 2019. – Т. 22, № 3. – С. 34-40. - <https://doi.org/10.14341/osteo12352>

6. Игнатъев, А.М. Инструментальные и биохимические показатели состояния костной ткани при остеомалации и остеопорозе/ А.М. Игнатъев, Н.И. Турчин // Травма. - 2020. – Т. 21, № 6. – С.16-20.
7. Перспективы использования биомаркеров остеопороза в диагностике и лечении Ф.Х. Закиров, А.А. Красильников, Е.А. Лубышев [и др.] // Хирургическая практика. - 2019. -№ 1. – С. 45-47.- <https://doi.org/10.17238/issn2223-2427.2019.1.45-47>
8. Кабалык, М.А. Биомаркеры и участники ремоделирования субхондральной кости при остеоартрозе / М.А. Кабалык // Тихоокеанский медицинский журнал.- 2017. - № 1. – С. 36-41. - <https://doi.org/10.17238/PmJ1609-1175.2017.1.37-41>
9. Симрок, В.В. Маркеры костного обмена, витамин D и паратгормон у женщин в динамике лечения постменопаузального остеопороза ибандранатом / В.В. Симрок, А.Г. Адунц, З.С. Румянцева // Университетская Клиника. - 2020. - Т. 36, № 36. - С. 12-17.
10. Сухарева, А.С. Изучение концентрации маркера костной деструкции β -CrossLapsв сыворотке крови женщин в периоде постменопаузы, проживающих в северном регионе / А.С. Сухарева // Высшая школа: научные исследования. Материалы Межвузовского научного конгресса. Москва: Издательство Инфинити, 2019. Ч. 1. - С. 68-73.
11. Ялаев Б.И., Хусаинова Р.И. Эпигенетическая регуляция ремоделирования костной ткани и ее роль в патогенезе первичного остеопороза / Б.И. Ялаев, Р.И. Хусаинова // Вавиловский журнал генетики и селекции. - 2023. - Т. 27, № 4. С. 401-410. - <https://doi.org/10.18699/VJGB-23-48>
12. Demir M. Evaluation of oxidative stress parameters and urinary deoxypyridinoline levels in geriatric patients with osteoporosis / M. Demir, T. Ulas, A. Tutoglu, A. Boyaci [et al.] // J Phys Ther Sci. - 2014. - Vol. 26(9). – P. 1405-1409. - <https://doi.org/10.1589/jpts.26.1405>
13. Singh S. Serum Osteocalcin as a Diagnostic Biomarker for Primary Osteoporosis in Women / S. Singh, D. Kumar, AK. Lal // J Clin Diagn Res. - 2015. – Vol. 9(8). – P. 4-7. - <https://doi.org/10.7860/JCDR/2015/14857.6318>
14. Kumalasari C. Correlation of Osteocalcin Urine Levels with Bone Mass Density in Menopause Women in H. Adam Malik General Hospital Medan / C. Kumalasari, MF. Ganis Siregar, D. Edianto // Indian Journal of Public Health Research & Development. - 2020. – Vol. 11(1). – P. 1011-1016. - <https://doi.org/10.37506/ijphrd.v11i1.636>
15. Saad MA. Could procollagen type I N-terminal propeptide (PINP) and bone alkaline phosphatase (B-ALP) be valid alternative diagnostic markers to dual X-ray absorptiometry (DEXA) in elderly females with osteoporosis? An Egyptian radiological and laboratory monocentric study MA. Saad, RA. Aboelwafa, EH. Elsayed // Egyptian Rheumatology and Rehabilitation. - 2021. 48.20. - <https://doi.org/10.1186/s43166-021-00069-y>

УДК 616-092.11

Гераськин И.В. Дерюгина А.В. Гераськин В.А. Антошина В.В.
**ИЗМЕНЕНИЕ СТРУКТУРНЫХ И ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ПАРАМЕТРОВ
ГЕМОГЛОБИНА У ПАЦИЕНТОВ НЕОНАТАЛЬНОГО ПЕРИОДА ПОСЛЕ
ГЕМОТРАНСФУЗИЙ.**

*Нижегородский государственный университет имени Н. И. Лобачевского.
Нижний Новгород, Россия
Приволжский исследовательский медицинский университет.
Нижний Новгород, Россия*

***Резюме.** Исследована динамика фетального гемоглобина в структуре общего гемоглобина крови у пациентов периода новорожденности. Определено влияние гемотрансфузий в неонатальном периоде на концентрацию фетального гемоглобина и снижение сродства общего гемоглобина крови к кислороду. Показано, что сложная, многокомпонентная структура гемоглобина новорожденного в течении короткого времени гемотрансфузии, быстро трансформируется как структурно - так и функционально. Практика гемотрансфузий проводится по единой схеме у взрослых и у пациентов неонатального периода, что определяет необходимость детализации возрастных особенностей динамики фетального гемоглобина и транспорта кислорода.*

***Ключевые слова:** гемотрансфузии, неонатальный период, сродство гемоглобина к кислороду, фетальный гемоглобин, физиологические гемоглобины крови.*

Geraskin I.V. Deryugina A.V. Geraskin V.A. Antoshina V.V.

**CHANGES IN THE STRUCTURAL AND FUNCTIONAL PARAMETERS OF
HEMOGLOBIN IN NEONATAL PATIENTS AFTER HEMOTRANSFUSION**

***Resume.** The dynamics of fetal hemoglobin in the structure of total blood hemoglobin in neonatal patients has been studied. The effect of blood transfusions in the neonatal period on the concentration of fetal hemoglobin and a decrease in the affinity of total blood hemoglobin to oxygen was determined. It has been shown that the complex, multicomponent structure of newborn hemoglobin is rapidly transformed both structurally and functionally during a short time of hemotransfusion. The practice of hemotransfusion is carried out according to a single scheme in adults and in neonatal patients, which determines the need to detail the age-related features of the dynamics of fetal hemoglobin and oxygen transport.*

***Key words:** hemotransfusion, neonatal period, hemoglobin affinity to oxygen, fetal hemoglobin, physiological hemoglobins of blood.*

Актуальность. Несмотря на то, что анемия является частым осложнением у новорожденных, продолжает сохраняться высокая степень неопределенности в практике переливания. Неонатальный период, как никакой иной возрастной период жизни пациента, является потенциально наиболее сложным для врачебного решения о проведении гемотрансфузии. Данные о временных и скоростных параметрах динамики структурных

гемоглобинов крови, их значения в формировании адаптационных и компенсаторных механизмов у новорожденных детей немногочисленны и недостаточно изучены [5, 7].

В основу определения параметров гемотрансфузий у новорожденных детей заложены те-же критерии значимости количественных показателей гемоглобина, как и в правилах переливания для взрослых пациентов. Пороговые значения для определения параметров гемотрансфузий у новорожденных детей обычно основаны на концентрации общего гемоглобина крови (totHb), количестве эритроцитов и гематокрита (Ht). Доказательства целесообразности такого выбора ограничены и не учитывают многочисленные патофизиологические адаптационные и компенсаторные механизмы у новорожденных, способствующие формированию адекватной доставки кислорода при прогрессирующей анемии и десатурации [6, 3, 2].

Цель. Определить влияние гемотрансфузий, выполненных в неонатальном периоде, на состав и функции физиологических гемоглобинов крови пациентов.

Методы исследования. Данные для исследований зафиксированы у пациентов неонатологического профиля при осуществлении лечебно-диагностических мероприятий. В отделениях неонатологии и интенсивной терапии новорожденных параметры оксиметрии и газового состава крови регистрировались автоматическим газоанализатором ABL-800. Выполнен анализ данных лабораторных исследования у 201 пациента периода новорожденности, определено 632 показателей фракций гемоглобинов крови. Для обработки комплекса полученных показателей применена методика случайной выборки величин сравнения.

Статистическая обработка полученных результатов осуществлялась при помощи прикладного пакета программ Microsoft Office Excel - 2016. Для сравнения выборок был использован параметрический t-критерий Стьюдента. Средние значения (M) и стандартные отклонения (σ) определены значениями данных вариационных рядов. Учитывались выборочные параметры: n - количество исследований, Me - медиана, Mean - среднее арифметическое, f-число степеней свободы, p - величина статистической значимости различий средних величин. Распределение признаков соответствует нормальному - распределение Гаусса. Результаты считали достоверными при $p \leq 0,05$. [1].

Полученные результаты. Данные, полученные при статистическом анализе изучаемых в исследовании динамики показателей уровней фетального гемоглобина - HbF % и сродства общего гемоглобина крови к кислороду - (p50) mmHg у новорожденных представлены на рисунках 1-2. Определяемые величины достоверно различались в обеих группах сравнения: (1) – группа без гемотрансфузий и (2) – группа при проведении гемотрансфузий, ($p < 0,05$). Снижение уровня HbF% от уровня общего гемоглобина крови - (totHb), выражено более значительно в группах пациентов периода новорожденности (2) после гемотрансфузий.

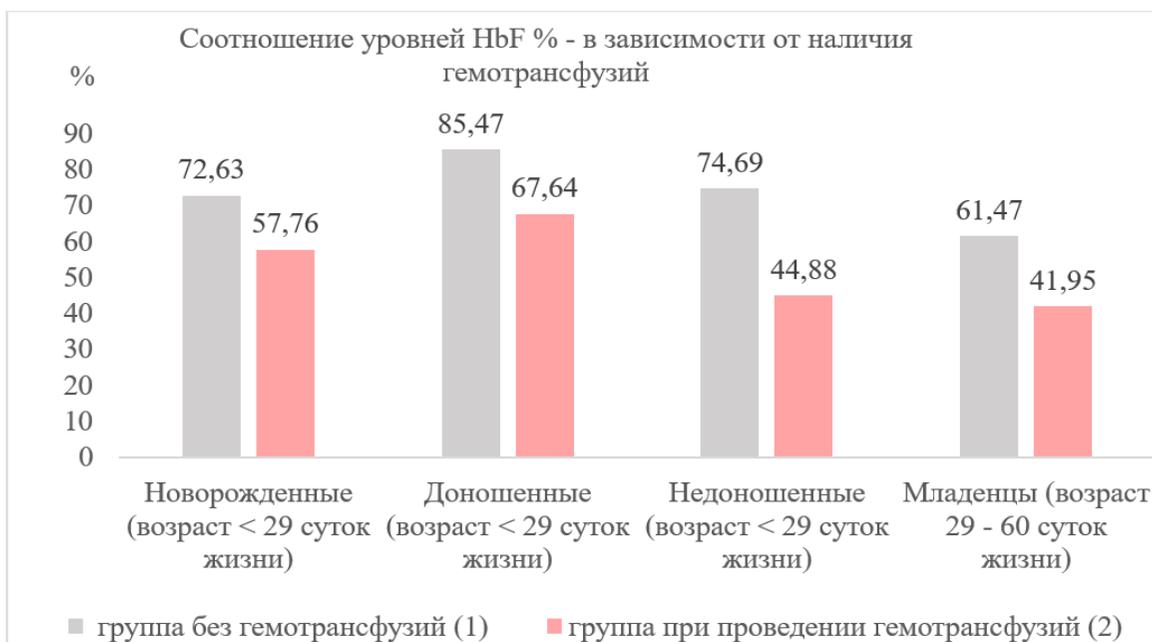


Рисунок 1 - Соотношение уровней HbF % - в зависимости от наличия гемотрансфузий.

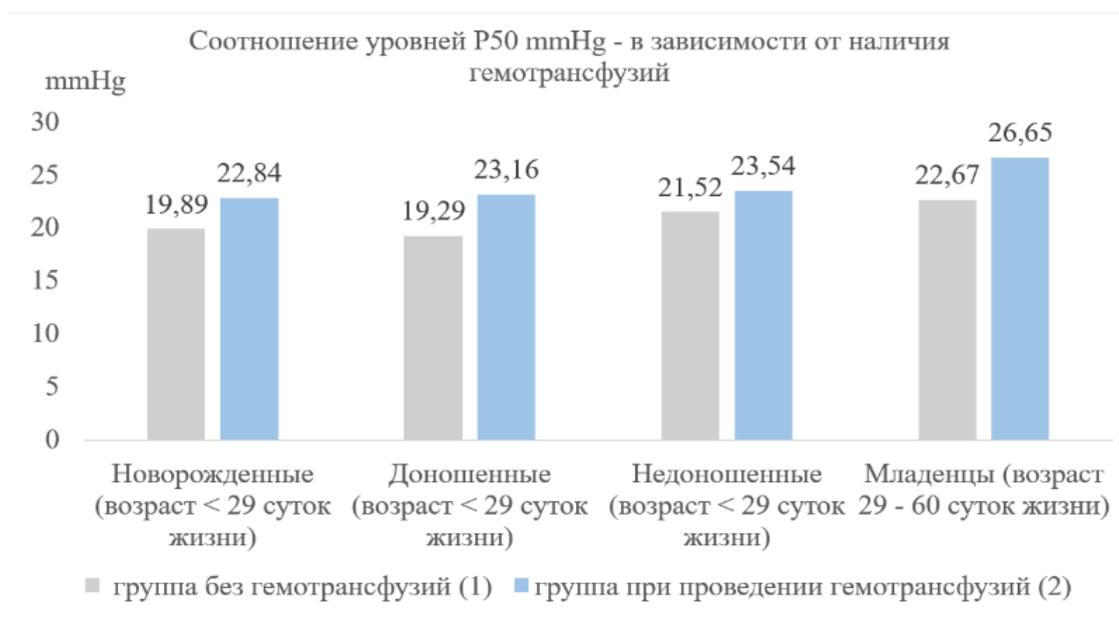


Рисунок 2 - Соотношение уровней P50 mmHg - в зависимости от наличия гемотрансфузий.

Отрицательные значения разности $p50$ mmHg, зафиксированные до и после гемотрансфузий характеризуют уменьшение сродства гемоглобина крови к O_2 . Причем, отрицательные величины разности $p50$ mmHg зарегистрированы во всех группах исследований.

Определяемое у пациентов периода новорожденности уменьшение значений HbF %, сопровождалось уменьшением ($p50$) mmHg. Данная динамика подтверждалась возрастанием необходимого парциального давления кислорода pO_2 mmHg для достижения эффекта 50% насыщения гемоглобина крови. Увеличение $p50$ в результате гемотрансфузий у новорожденных отражает снижение аффинности общего гемоглобина

к O₂, происходящее на фоне изменения соотношения структурных фракций HbF % и HbA % [4]. У реципиента периода новорожденности возрастает содержание в крови гемоглобина взрослого типа HbA % с низкой аффинностью к O₂, за счет поступления гемоглобина взрослого донора.

При проведении гемотрансфузии пациенту периода новорожденности или младенчества в течении короткого времени (гемотрансфузия по продолжительности не более 2 часов) формируется новая многокомпонентная структура крови реципиента, состоящая из эритроцитов и гемоглобина как новорожденного, так и взрослого донора. В кровеносной системе ребенка-реципиента возрастает ОЦК на величину объема трансфузии взвеси эритроцитов, увеличивается содержание гемоглобина взрослого (HbA при переливании эритроцитов крови взрослого донора) и снижается концентрация фетального гемоглобина в единице объема крови реципиента. Мы обозначили данные изменения концентрации плодного гемоглобина как «эффект разведения HbF» и определили при гемотрансфузии метод расчёта коэффициента разведения фетального гемоглобина (K-HbF).

$$K\text{-HbF} = 1 + \frac{\text{вес реципиента (кг)} \times V \text{ трансфузии (мл/кг)}}{V \text{ ОЦК реципиента (мл/кг)} \times \text{вес реципиента (кг)}}$$

Полученная расчетная величина позволяет определить выраженность снижения концентрации HbF у реципиента. Для этого необходимо произвести деление значения концентрации HbF у реципиента зафиксированного до начала гемотрансфузии на рассчитанную величину коэффициента разведения фетального гемоглобина (K-HbF). Пропорционально снижению концентрации HbF при гемотрансфузии происходит увеличение значений показателя p50 mmHg totHb, уменьшается концентрация оксигенированного гемоглобина HbF, способного к диссоциации в тканях с более выраженным ацидозом.

Выводы. При гемотрансфузиях у пациентов периода новорожденности снижается концентрация HbF и уменьшается сродство totHb общего гемоглобина к O₂, что способствует смещению диссоциации гемоглобина крови влево, уменьшению количества O₂, поступающего в тканевые участки с более выраженной гипоксией.

Список литературы:

1. Полякова В.В., Шаброва Н.В. Основы теории статистики // М-во образования и науки Рос. Федерации, Екатеринбург: Изд-во Урал. ун-та, 2015, С. 148 ISBN 978-5-7996-1520-8.
2. Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации (Минздрав России) от 2 апреля 2013 г. N 183нг. Москва "Об утверждении правил клинического использования донорской крови и (или) ее компонентов"
3. Федеральный закон "О донорстве крови и ее компонентов" от 20.07.2012 N 125-ФЗ 20 июля 2012 года N 125-ФЗ Статья 12.
4. Andersen C. Critical haemoglobin thresholds in premature infants. Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed. 2001 Vol. 84., P146-8. doi: 10.1136/fn.84.3. f146.
5. Boix H., Sánchez-Redondo M.D., Cernada M., et al., Recomendaciones para la transfusión de hemoderivados en neonatología // Anales de Pediatría 2022, Vol. 97, № 1, P. 60. doi. org/10.1016/j.anpedi.2022.05.004

6. Lindern J.S., Lopriore E. Management and prevention of neonatal anemia: current evidence and guidelines // Expert Rev Hematol., 2014 Vol. 7, P. 195-202 doi.org/10.1586/17474086.2014.878225
7. Rebecca N. Baergen, MD «Manual of Benirschke and Kaufmann's Pathology of the Human Placenta» New York 2005 P.376 ISBN 0-387-22089-5

УДК: 616.127-005.8(07)

Гугунишвили А.Т., Фисюк Е.А.

**ИЗУЧЕНИЕ РАСПРОСТРАНЕННОСТИ ФАКТОРОВ РИСКА РАЗВИТИЯ
ИНФАРКТА МИОКАРДА В РАННЕМ ВОЗРАСТЕ**

ФГБОУ ВО Тверской государственный медицинский университет, Тверь, Россия

Научный руководитель – к.м.н., доцент кафедры общей хирургии

Морозов А.М.

Резюме. Заболевания сердечно-сосудистой системы, как в России, так и во всём мире занимают первое место по смертности. Заболевания, связанные с сердечной системой, всё чаще стали проявляться и в раннем возрасте. Целью является проведение анализа выявления триггерных факторов раннего возникновения инфаркта миокарда. При подробном анализе каждого триггерного фактора инфаркта миокарда можно отметить, что в большей степени подвержены риску респонденты от 18 до 22 лет из-за влияния таких триггерных факторов, как употребления алкоголя и никотина.

Ключевые слова: генетические факторы; инфаркт; триггеры инфаркта; кофеин; курение.

Gugunishvili A.T., Fisyuk E.A.

**TO STUDY THE PREVALENCE OF RISK FACTORS FOR MYOCARDIAL
INFARCTION AT AN EARLY AGE**

Tver State Medical University, Tver, Russia

Scientific supervisor – Candidate of Medical Sciences, Associate Professor of the Department of General Surgery Morozov A.M.

Abstract. Diseases of the cardiovascular system, both in Russia and around the world, occupy the first place in terms of mortality. Diseases associated with the cardiac system have become increasingly apparent at an early age. The aim is to analyze the identification of trigger factors for the early occurrence of myocardial infarction. When analyzing each trigger factor in detail, it can be noted that respondents aged 18 to 22 are more at risk due to the influence of trigger factors such as alcohol and nicotine.

Keywords: genetic factors; heart attack; heart attack triggers; caffeine; smoking.

Введение. Заболевания сердечно-сосудистой системы, как в России, так и во всём мире занимают первое место по смертности. Исследование, проводившееся INTERHEART показало, что есть девять традиционных факторов риска сердечно-сосудистой системы –

дислипидемия, курение, артериальная гипертензия (АГ), сахарный диабет (СД), ожирение, нездоровое питание, сниженная физическая активность, чрезмерное злоупотребление алкоголем. Стоит отметить, что стресс так же является важным фактором, который может послужить триггером для развития заболеваний сердечно-сосудистой системы. Заболевания, связанные с сердечной системой, всё чаще стали проявляться и в раннем возрасте, всё больше регистрируется поступлений мужчин и женщин моложе 45 лет и на данный момент данные заболевания не ассоциируются с людьми старшего поколения [4,5,9,10].

Исходя из современной статистики число молодых людей, у которых развивается такое сердечно-сосудистое заболевание, как атеросклероз, растет, особенно у детей с такими факторами риска, как семейная гиперхолестеринемия (СГ), сахарный диабет 1 типа, хроническое заболевание почек и артериальная гипертензия. Атеросклероз является заболеванием, провоцирующим инфаркт миокарда, на него приходится около 90% случаев развития инфаркта миокарда [1,8]. Патогенез сердечно-сосудистых заболеваний является одним из наиболее сложных вследствие взаимодействия многочисленных факторов, то есть мультифакториальности, в том числе генетических, образа жизни и окружающей среды, что оказывает непосредственное влияние на время развития, течения и проявления заболевания. Для врача важно выявить триггерные факторы, приводящие к развитию инфаркта миокарда, и нивелировать их [5,7].

Большинство не задумывается о том, что кофеин может оказывать влияние на возникновение боли в области сердца. Боль в области сердца любого характера и интенсивности, как правило, сопровождается чувством тревоги и страха и мотивирует пациента обратиться к врачу, перед которым стоит сложная задача определения причины появления кардиалгии и выбора тактики терапии [2,6,11,13,14].

Так же одним из основополагающих факторов для развития ИМ является курение. Вероятность развития сердечной недостаточности увеличивается на 75% у нынешних курильщиков, на 44% у тех, кто когда-либо курил, и на 16% среди людей, бросивших курить. Кроме того, по прошествии 30 лет после отказа от курения риск снижался на 28% [2].

Стресс, состояния тревоги и депрессии рассматриваются в качестве значимых предикторов развития инфаркта миокарда, особенно у лиц молодого и среднего возраста. Во многих исследованиях приводят примеры, что пациенты, находящиеся постоянно в тревожном состоянии или подвержены высокому уровню стресса, имеют в 2-3 раза более высокий риск развития острого инфаркта миокарда по сравнению с лицами, которые менее подвержены стрессу [3].

Цель. Провести анализ выявления триггерных факторов раннего возникновения инфаркта миокарда.

Методы исследования. В ходе настоящей работы был проведен анонимный опрос с помощью анкеты, которая содержала 25 вопросов. В ходе работы были опрошены 125 респондентов, среди них 79 женщин (63,2%) и 46 мужчин (36,8%) (уровень значимости $p < 0,001$), которые составили 5 возрастных групп: 18-22 лет – 72 респондента (57,94%), 22 – 26 лет – 26 респондентов (20,63%), 26 – 30 лет – 13 респондентов (0,32), 30 – 32 лет – 5 респондента (3,97%), 32 – 35 лет – 9 респондентов (7,14%) [12]. В качестве оценки

статистической достоверности использовался критерий согласия Пирсона (хи-квадрат).

Результаты. В ходе исследования были оценены показатели роста и массы тела. Исходя из представленных данных были рассчитаны средние значения ИМТ по Кетле в соответствии с классификацией ИМТ от ВОЗ (1997). В среднем нарушение массы тела встречалось у 13,6% мужчин и 18,4% женщин (уровень значимости $p < 0,001$). При детальном рассмотрении получены следующие результаты: среди женщин 7,2% - дефицит массы тела, 8,8% - избыточная масса тела, а ожирение 1-ой и 2-ой степени проходит по 1,6% и 0,8%. У мужчин дефицит массы тела наблюдался у 0,8%, избыточная масса тела – 9,6%, ожирение 1-ой, 2-ой и 3-ей у 2,4%, 0,0% и 0,8% соответственно. Нормальная масса тела у 23,2 % мужчин и 44,8% женщин.

Следующим фактором является курение. Исходя из опроса выяснилось, что курит сигареты 63 респондента (50,4%), из которых мужчин – 24 респондента (19,2%), женщин – 39 (31,2%) (Уровень значимости $p = 0,008$). Среднее выкуривание сигарет в количественном эквиваленте составляет 10 штук. Так же имеются респонденты, которые употребляют электронные сигареты, их количество составляет 49 (39,2%). Из полученных данных – (37,1%) 46 респондентов курит от 2-ух до более 3-х лет, из них 20 мужчин (16%) и 26 женщин (20,8%). Намного меньше тех, кто курит более 10 лет, что составляет 3,2% (4 респондента), из них 3 женщины (2,4%) и 1 мужчина (0,8%).

Вопрос про физическую активность показал следующие результаты: количество респондентов, ведущих активный образ жизни составляет 82 респондента (65,6%). Наибольший процент респондентов присутствует в возрастной группе от 18 до 22 лет - 44 респондента (35,2%). В возрастной группе от 18 до 22 лет ведёт активный образ жизни: 14 мужчин (11,2%) из которых 7 респондентов ежедневно проходит по 10.000 шагов, другие 7 респондентов регулярно ходят в зал. На долю женщин – 30 (24%) из которых 14 респондентов проходит по 10.000 шагов (11,2%) и 16 респондентов регулярно ходят в зал (12,8%). С каждой возрастной группой можно заметить снижение данного показателя: 22-26 лет - 21 респондент 16,8% из которых 10 мужчин (8%) активно занимается спортом. На долю женщин приходится 11 респондентов (8,8%). В возрастной группе 30-32 лет - 10 респондентов 8%. Количество мужчин в возрастной группе от 30-32 лет составляет 4 респондента (3,2%) из которых 2 (1,6%) респондентов ходит по 10.000 шагов в день, и остальная часть посещает зал, доля женщин составляет 6 респондентов (4,8%). Из 6 респондентов 2 (1,6%) посещает зал и 4 респондента проходят 10.000 тысяч шагов. Возрастная группа 32-35 лет – 7 респондентов 5,6% ходят в зал или проходят 10.000 тысяч шагов. Долю мужчин и женщин составляет 4 (3,2%) и 3 (3,8%) респондента соответственно. Таким образом можно проследить тенденцию, что риск ИБС увеличивается. Оставшийся процент респондентов проходит менее 7000 тысяч шагов (24%) 30 респондентов, что составляет 10 мужчин (8%) и 20 женщин (16%) или не занимается спортом вообще (10,4%) 13 респондентов.

Алкоголь употребляет 95 респондентов (76%), 33 (26,4%) респондента мужского пола и 62 (49,6%) женского (уровень значимости $p < 0,001$). Как и мужчины, так и женщины склонны употреблять алкоголь 2-3 раза в месяц - 34 (27,2%) и средней объем употребляемого количества до 500 мл - 43 (34,8%). Женщины чаще всего употребляют среднеалкогольные напитки (9—30% об.; вино, шампанское, вермут, ликероводочные

изделия и т.д.) и слабоалкогольные напитки (1,5—8% об.; пиво, сидр и т.д.) - 56 (44,8%), мужчины же отдают предпочтение крепкоалкогольным напиткам (31—65% об.; водка, настойки, джин, ром, чача, виски, текила, абсент, коньяк, бренди и т.д.) - 27 (21,6%).

55,2% респондентов находится в состоянии стресса в учебный период (сессия и учебный процесс в течение года). Мужчины - 11 (8,8%) и женщины - 22 (17,6%) на период учёбы, вовремя сессии мужчины - 11 (8,8%), а женщины - 21 (16,8%). Так же 25,6% находится в состоянии стресса вне учёбы (работа и межличностные отношения в социуме). 18,4% респондента стрессоустойчивы, на долю мужчин приходится 11 (8,8%), а женщин - 12 (9,6%).

Оценивая гигиену питания были получены следующие ответы: на мужчин пригодиться 24 респондента (19,2%) кто ест домашнюю еду, среди женщин - 60 (48%) (уровень значимости $p < 0,001$). 35,2 % покупает готовую еду или фастфуд, мужчины по сравнению с женщинами чаще покупают уже готовую еду - 13 (10,4%), только 9 женщин предпочитает готовую еду (7,2%) (уровень значимости $p = 0,228$). Фастфуд употребляет 17 мужчин (15,2%), женщины - 2 (1,6%) (уровень значимости $p < 0,001$). В основном респонденты предпочитают готовить еду дома и контролировать употребление масла или же тушить и варить продукты минимизируя употребление жира и отдавая предпочтения не жирного мясу - 54,4% (курица, индейка, говядина).

При анализе наследственной предрасположенности к сердечно-сосудистым заболеваниям получены следующие данные: атеросклероз у близких родственников 25,6% - 32 респондента, диабет же у близких родственников имеет большее количество респондентов - 58 респондентов 46,4%, варикозное расширение вен – 60,8%.

Выводы. При подробном анализе каждого триггерного фактора инфаркта миокарда можно отметить, что в большей степени подвержены риску респонденты от 18 до 22 лет из-за влияния таких факторов, как употребления алкоголя и никотина, а также из-за наследственных генетических заболеваний. По статистике, полученной из проведенного опроса, наибольшее влияние среди всех упомянутых триггерных факторов оказывают: курение, стресс, употребление алкоголя и снижающаяся с возрастом физическая активность. Однако, уже сейчас можно сказать, что здоровый образ жизни, соблюдение рациона питания, отказ от курения и алкоголя, своевременное прохождение диспансеризации значительно снижают риск раннего инфаркта миокарда.

Список литературы:

1. Obesity and Cardiometabolic Risk Factors: From Childhood to Adulthood. / D. Drozd, J. Alvarez-Pitti, M. Wójcik et al. / *Nutrients*. – 2021. – Vol. 13, No 11. – P. 4176. – DOI 10.3390/nu13114176. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34836431/> (дата обращения: 08.09.2024).
2. The impact of diabetes on heart failure development: The cardio-renal-metabolic connection / Valensi P., Prévost G., Pinto S., Halimi J.M., et al. // *Diabetes Res Clin Pract.* – 2021. – Vol. 175. – P. 108831. – DOI 10.1016/j.diabres.2021.108831. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33895192/> (дата обращения: 08.09.2024).
3. Артериальная гипертензия в молодом возрасте: современное состояние проблемы / И.С. Сабиров, И.Т. Муркамилов, В.В. Фомин [и др.] // *The Scientific Heritage*. – 2021.

- № 72-2(72). – С. 15-23. – DOI 10.24412/9215-0365-2021-72-2-15-23. – URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=46454850> (дата обращения: 08.09.2024).
4. Ибрагимов, М.А. Краткий обзор методов профилактики инфаркта миокарда / М. А. Ибрагимов // Инновации. Наука. Образование. – 2020. – № 23. – С. 2751-2756. – URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=44489220> (дата обращения: 08.09.2024).
 5. Новикова, И.А. Профиль факторов риска инфаркта миокарда: фокус на молодой возраст / И.А. Новикова, О.В. Хлынова, Л.А. Некрутенко // Анализ риска здоровью. – 2021. – № 3. – С. 160-166. – DOI 10.21668/health.risk/2021.3.16. – URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=46661799> (дата обращения: 08.09.2024).
 6. О возможности применения опросников и шкал боли в клинической практике (обзор литературы) / А.М. Морозов, Т.В. Сороковинова, Т.В. Меньшикова [и др.] // Вестник неврологии, психиатрии и нейрохирургии. – 2024. – Т. 17, № 6(173). – С. 697-709. – DOI 10.33920/med-01-2406-02. – URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=68017136> (дата обращения: 08.09.2024).
 7. Операции по трансплантации коронарных артерий (обзор литературы) / А.М. Морозов, А.Н. Сергеев, Э.М. Аскеров [и др.] // Вестник медицинского института "РЕАВИЗ": реабилитация, врач и здоровье. – 2023. – Т. 13, № 4. – С. 45-51. – DOI 10.20340/vmi-rvz.2023.4.CLIN.3. – URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=54476445> (дата обращения: 08.09.2024).
 8. Роль неинвазивных методов исследования в современной клинической практике / Т. В. Сороковинова, А.М. Морозов, С.В. Жуков [и др.] // Современные проблемы науки и образования. – 2022. – № 2. – С. 137. – DOI 10.17513/spno.31502. – URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=48418800> (дата обращения: 08.09.2024).
 9. Савина, А.А. Динамика заболеваемости болезнями системы кровообращения взрослого населения Российской Федерации в 2007-2019 гг / А.А. Савина, С.И. Фейгинова // Социальные аспекты здоровья населения. – 2021. – Т. 67, № 2. – С. 1. – DOI 10.21045/2071-5021-2021-67-2-1. – URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=46156531> (дата обращения: 08.09.2024).
 10. Свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2022620562 Российская Федерация. База данных учебно-методических материалов по дисциплине "Анатомия человека": № 2022620324: заявл. 22.02.2022: опубли. 16.03.2022 / М.А. Беляк, К.В. Буканова, Э.В. Буланова [и др.]. – URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=48137431> (дата обращения: 08.09.2024).
 11. Свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2022621316 Российская Федерация. Вопросы оказания неотложной медицинской помощи на догоспитальном этапе: № 2022621093: заявл. 19.05.2022: опубли. 03.06.2022 / М.А. Беляк, К.В. Буканова, Э.В. Буланова [и др.]; заявитель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Тверской государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации. – URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=49194135> (дата обращения: 08.09.2024).
 12. Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2021661873 Российская Федерация. Программа для проведения дистанционного социологического анкетирования: № 2021660772: заявл. 05.07.2021: опубли. 16.07.2021

- / С.В. Жуков, М.В. Рыбакова, П.И. Дементьева [и др.]. – URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=46483561> (дата обращения: 08.09.2024).
13. Современное понятие о боли и обезболивании / А.М. Морозов, С.В. Жуков, Н.А. Шатохина, Э.В. Буланова // Тверской медицинский журнал. – 2020. – № 1. – С. 60-70. – URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=42329414> (дата обращения: 08.09.2024).
14. Хабилов, Ф.А. Кардиалгия - взгляд невролога / Ф.А. Хабилов, Э.Ф. Рахматуллина, О.С. Кочергина // Практическая медицина. – 2020. – Т. 18, № 1. – С. 43-49. – URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=42765201> (дата обращения: 08.09.2024).

УДК 616-092.18

Гусев А.В., Бурдиенко Т.О.

ЛЕЙКОЦИТАРНО-ТРОМБОЦИТАРНЫЕ КОАГРЕГАТЫ В НОРМЕ И ПАТОЛОГИИ

ФГБОУ ВО Читинская государственная медицинская академия, Чита, Россия

Резюме. Последние четыре десятилетия в нашей стране и за рубежом активно изучаются клеточные коагрегаты. Они образуются в норме и при различных заболеваниях. Вступая во взаимодействия клетки фиксируются с помощью молекул адгезии, находящихся на их поверхности. Основной физиологический смысл образования коагрегатов в том, что при таком взаимодействии происходит взаимоактивация в выделении биологически активных веществ. Коагрегаты могут быть маркерами различных патологических процессов и мишенью для терапии.

Ключевые слова: лейкоцитарно-тромбоцитарные коагрегаты; PLA.

Gusev A.V., Burdienko T.O.

LEUKOCYTE-PLATELET aggregates ARE IN standard AND PATHOLOGY *Chita State Medical Academy, Chita, Russia*

Abstract. Over the past four decades, cellular aggregates have been actively studied in our country and abroad. They are formed normally and in various diseases. When interacting, cells are fixed with the help of adhesion molecules located on their surface. The main physiological meaning of the formation of aggregates is that with such interaction, mutual activation occurs in the release of biologically active substances. Aggregates can be markers of various pathological processes and a target for therapy.

Key words: leukocyte-platelet aggregate; PLA.

Агрегаты тромбоцитов и лейкоцитов (PLA) представляют собой соединение клеток, связанных специфическими рецепторами. PLA определяются как гетеротипичные комбинации по крайней мере одного тромбоцита с одним лейкоцитом [1]. Они возникают в условиях стресса, гиперкоагуляции, иммунных реакций, повреждения сосудов, а также активации лейкоцитов или тромбоцитов [2]. Таким образом, PLA исследуются как потенциальные биомаркеры при многих патологических процессах,

включая хроническую обструктивную болезнь легких, васкулит, связанный с антинейтрофильными цитоплазматическими антителами (ANCA), коагулопатию потребления при ксенотрансплантации, кожные реакции Артюса и инфекции – среди прочих COVID-19 и сепсис [3].

PLA также можно широко использовать как маркер патологии при сердечно-сосудистых заболеваниях. Показано, что уровни PLA выше при ишемической болезни сердца, чем у здоровых людей [4,5].

PLA включают различные подтипы лейкоцитов: гранулоциты (PLA-G), нейтрофилы (PLA-N), эозинофилы (PLA-E), моноциты (PLA-M) и лимфоциты (PLA-Ly) – В (PLA-LyB), Т (PLA-LyT), Т-хелперы (PLA-LyTh), Т-цитотоксические (PLA-LyTc), а также естественные клетки-киллеры (PLA-NK) [6].

Средний размер PLA составляет около 9 микрометров (мкм) [7]. В здоровой популяции людей тромбоциты образуют агрегаты в основном с моноцитами (4,1-7,2%), за которыми следуют нейтрофилы (3,7-5,7%) и лимфоциты (2,4-5,2%) [1], но референтные диапазоны неизвестны из-за отсутствия проверенного протокола для исследования концентраций PLA.

Моноциты включают три функционально различных подтипа. Классические моноциты (M1) демонстрируют на своей поверхности высокую плотность кластеров дифференцировки 14 (CD14), и отсутствие CD16. Промежуточные моноциты (M2) имеют значительную экспрессию CD14 и CD16. Неклассические моноциты (M3) демонстрируют CD16 в качестве своих основных маркеров, но также положительны для CD14 [8]. Промежуточные моноциты (M2) отличаются огромным потенциалом для образования активных форм кислорода. Они также демонстрируют высокую экспрессию CD74, молекулы, необходимой для атерогенеза, и хемокинового рецептора C-C типа 5 (CCR5), который участвует в адгезии к эндотелию и миграции в атерому.

Показано, что тромбоциты могут связывать апоптотические лейкоциты. Так, у здоровых людей апоптотические лейкоциты чаще связаны с тромбоцитами, чем присутствуют в виде свободных клеток в крови [9].

PLA встречаются как в виде свободных комплексов, так и связанных со стенками сосудов [10].

Активация тромбоцитов или лейкоцитов приводит к образованию PLA. Биологически активные вещества, связанные с тромбообразованием, такие как аденозиндифосфат (АДФ), коллаген, фактор активации тромбоцитов (PAF) и тромбин, повышали уровень PLA по сравнению с отсутствием стимуляции [11]. Аналогичным образом, провоспалительный N-формил-метионил-лейцил-фенилаланин (fMLP), серотонин и фактор-1 α , полученный из стромальных клеток (CXCL12), повышали образование PLA по сравнению с отсутствием стимуляции, но этот эффект был ниже, чем вызванный протромботическими агентами. Липополисахарид (LPS), интерлейкин 1 β (IL1 β), медиаторы воспаления, усиливали образование PLA только при низких концентрациях. Другие факторы, включая снижение pH (6,5-7,0), напряжение сдвига, экстракорпоральное кровообращение и повреждение сосудов, также стимулировали образование PLA [12].

Напротив, низкое соотношение тромбоцитов к лейкоцитам [13], оксид нитрида (NO), натрийуретический пептид С-типа, метилирование рецептора агрегации тромбоцитов

и эндотелия-1 (PEAR-1) [14] снижали образование PLA. Наличие более высокого, чем физиологического, числа лейкоцитов ингибировало образование PLA после стимуляции агонистом рецептора, активируемого протеиназой (PAR) (рецептор тромбина на тромбоцитах).

В адгезии тромбоцитов к лейкоцитам участвуют поверхностные рецепторы/Тромбоциты во время активации высвобождают гранулы, содержащие P-селектин, и экспонируют P-селектин на поверхности. Затем P-селектин связывается с лигандом гликопротеина P-селектина (PSGL-1) на лейкоцитах, что приводит к образованию PLA. Альтернативный способ образования PLA осуществляется через рецептор комплемента 3 (CD11b/CD18, Mac-1) на лейкоцитах с участием растворимого лиганда CD40 или фибриногена и гликопротеина IIb/IIIa (GP IIb/IIIa) на тромбоцитах [15].

Высвобождение воспалительных и тромботических агентов, таких как свободные радикалы, внеклеточные везикулы, металлопротеиназы и нейтрофильные внеклеточные ловушки (NET), происходит во время образования PLA и способствует развитию вторичной альтерации.

Исторически более 40 лет исследований PLA предоставили все больше информации о них, но до сих пор неизвестно, как именно они образуются, и какова их детальная функция в патогенезе патологических процессов. Основной причиной отсутствия этой информации является отсутствие единого протокола для оценки PLA с использованием проточной цитометрии как наиболее распространенного инструмента в клинических испытаниях. В связи с этим исследователи применяют различные методы, и их результаты в некоторых случаях значительно расходятся с другими. Несмотря на это, имеющиеся данные позволяют считать PLA наиболее чувствительным маркером активации тромбоцитов. Это развитие открывает широкие возможности для применения. PLA может помочь диагностировать заболевания, прогнозировать развитие осложнений, контролировать реакцию на антиагрегантную терапию и прогнозировать общий риск будущих сердечно-сосудистых событий. Как биомаркер, зависящий от тромбоцитов и лейкоцитов, они также могут помочь обнаружить и оценить плеiotропные результаты лечения. Кроме того, у PLA есть шанс стать целью новых лекарств. Необходимы дальнейшие исследования, прежде всего, для внедрения последовательного протокола для оценки PLA и сообщения результатов.

Список литературы:

1. Nagasawa A., Matsuno K., Tamura S. The basis examination of leukocyte-platelet aggregates with CD45 gating as a novel platelet activation marker / A. Nagasawa, K. Matsuno, S. Tamura, K. Hayasaka, C. Shimizu [et al.]. doi 10.1111/ijlh.12051 // Int J Lab Hematol. – 2013. – Vol. 35(5). – P 534–41. URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/ijlh.12051> (date if the application: 01.10.2024).
2. Pluta K., Porębska K., Urbanowicz T. Platelet-Leucocyte Aggregates as Novel Biomarkers in Cardiovascular Diseases / K. Pluta, K. Porębska, T. Urbanowicz, A. Gąsecka, A. Olasińska-Wiśniewska [et al.]. – doi: 10.3390/biology11020224 // Biology (Basel). – 2022. – Vol. 11(2). – P 224. URL: <https://www.mdpi.com/2079-7737/11/2/224> (date if the application: 28.09. 2024).

3. Hottz E.D., Quirino-Teixeira A.C., Merij L.B. Platelet-leukocyte interactions in the pathogenesis of viral infections / E.D. Hottz, A.C. Quirino-Teixeira, L.B. Merij, M.B.M. Pinheiro, S.V. Rozini [et al.]. – doi: 10.1080/09537104.2021.1952179 // *Platelets*. – 2022. – Vol. 33(2). – P 200–207. URL: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/09537104.2021.1952179> (date if the application: 27.09. 2024).
4. Фефелова Е.В. Изменение адгезивных свойств лейкоцитов под воздействием гипергомоцистеинемии // Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра Сибирского отделения Российской академии медицинских наук. – 2010. – № 3 (73). – С. 267–269.
5. Фефелова Е.В., Терешков П.П., Цыбиков Н.Н. Изменение фенотипа лимфоцитов периферической крови здоровых и больных ишемической болезнью сердца при экзогенной гипергомоцистеинемии / Е.В. Фефелова, П.П. Терешков, Н.Н. Цыбиков М.В. Максименя // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2020. – Т. 64. № 3. – С. 87–92
6. Finsterbusch M., Schrottmaier W.C., Kral-Pointner J.B. Measuring and interpreting platelet-leukocyte aggregates / M. Finsterbusch, W.C. Schrottmaier, J.B. Kral-Pointner, M. Salzmann, A. Assinger – doi 10.1080/09537104.2018.1430358 // *Platelets*. – 2018. – Vol. 29(7). – P 677–685. URL: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/09537104.2018.1430358> (date if the application: 27.09. 2024).
7. Granja T., Schad J., Schüssel P. Using six-colour flow cytometry to analyse the activation and interaction of platelets and leukocytes--A new assay suitable for bench and bedside conditions / T. Granja, J. Schad, P. Schüssel, C. Fischer, H. Häberle [et al.]. – doi 10.1016/j.thromres.2015.07.009 // *Thromb Res*. – 2015. – Vol. 136(4). – P 786–96. URL: [https://www.thrombosisresearch.com/article/S0049-3848\(15\)30058-X/abstract](https://www.thrombosisresearch.com/article/S0049-3848(15)30058-X/abstract) (date if the application: 10.09. 2024).
8. Ziegler-Heitbrock L., Ancuta P., Crowe S. Nomenclature of monocytes and dendritic cells in blood / L. Ziegler-Heitbrock, P. Ancuta, S. Crowe, M. Dalod, V. Grau [et. al.]. – doi 10.1182/blood-2010-02-258558 // *Blood*. – 2010. – Vol. 116(16). – P e74–80. URL: <https://ashpublications.org/blood/article/116/16/e74/27833/Nomenclature-of-monocytes-and-dendritic-cells-in> (date if the application: 27.09. 2024).
9. Hartz S, Menart B, Tschoepe D. Leukocyte apoptosis in whole blood involves platelet-dependent coaggregation / S. Hartz, B. Menart, D. Tschoepe. – doi 10.1002/cyto.a.10026 // *Cytometry A*. –2003. – Vol. 52(2). – P 117–21. URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/cyto.a.10026> (date if the application: 20.09. 2024).
10. Ed Rainger G., Chimen M. The role of platelets in the recruitment of leukocytes during vascular disease / Ed G. Rainger, M. Chimen, M.J. Harrison, C.M. Yates, P. Harrison [et al.]. – doi 10.3109/09537104.2015.1064881 // *Platelets*. –2015. – Vol. 26(6). – P 507–20. URL: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/09537104.2015.1064881> (date if the application: 10.09. 2024).
11. Li N., Goodall A.H., Hjerdahl P. A sensitive flow cytometric assay for circulating platelet-leucocyte aggregates / N. Li, A.H. Goodall, P. Hjerdahl. – doi 10.1046/j.1365-2141.1997.4993305.x // *Br J Haematol*. – 1997. – Vol. 99(4). – P:808–816. URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1046/j.1365141.1997.4993305.x?sid=nlm%3>

- Pubmed** (date if the application: 15.09. 2024).
12. Vermillion M.S., Lyons C.E., Najarro K.M. Immune Activation of Platelets in Response to Serial Phlebotomy in Pigtailed Macaques (*Macaca nemestrina*) / M.S. Vermillion, C.E. Lyons, K.M. Najarro, R.J. Adams, K.A. Metcalf Pate // *Comp Med.* – 2017. – Vol. 67(4). – P 360–367. URL: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC5557209/> (date if the application: 11.09. 2024).
 13. Chung A.W., Radomski A., Alonso-Escolano D. Platelet-leukocyte aggregation induced by PAR agonists: regulation by nitric oxide and matrix metalloproteinases / A.W. Chung, A. Radomski, D. Alonso-Escolano, P. Jurasz, M.W. Stewart [et al.]. – doi 10.1038/sj.bjp.0705997 // *Br J Pharmacol.* – 2004. – Vol. 143(7). – P 845–55. URL: <https://bpspubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1038/sj.bjp.0705997> (date if the application: 15.09. 2024).
 14. Izzi B., Gianfagna F., Yang W.Y. Variation of PEAR1 DNA methylation influences platelet and leukocyte function / B. Izzi, F. Gianfagna, W.Y. Yang, K. Cludts, De A. Curtis. – doi 10.1186/s13148-019-0744-8 // *Clin Epigenetics.* – 2019. – Vol. 11(1). – P 151. URL: <https://clinicaepigeneticsjournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13148-019-0744-8> (date if the application: 15.09. 2024).
 15. Patko Z., Csaszar A., Acsady G. Roles of Mac-1 and glycoprotein IIb/IIIa integrins in leukocyte-platelet aggregate formation: stabilization by Mac-1 and inhibition by GpIIb/IIIa blockers / Z. Patko, A. Csaszar, G. Acsady, K. Peter, M. Schwarz. – doi 10.3109/09537104.2011.625098 // *Platelets.* – 2012. – Vol. 23(5). – P368-75. URL: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/09537104.2011.625098> (date if the application: 03.09. 2024).

УДК 616 – 092:611.018.74

Давыдов А.О.

МЕХАНИЗМЫ РАЗВИТИЯ ДИСФУНКЦИИ ЭНДОТЕЛИЯ ПРИ ГИПЕРГОМОЦИСТЕИНЕМИИ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

ФГБОУ ВО Читинская государственная медицинская академия, Чита, Россия

Резюме. В настоящее время механизмы повреждения эндотелия, вызванного гомоцистеином, включают прямое повреждение эндотелиоцитов, нарушение продукции NO, накопление АФК и окислительный стресс, дисфункцию сигнального пути H₂S, клеточное гипометилирование, гомоцистеинилирование белков и нарушение липидного обмена. Новая концепция заключается в том, что цикл Hсу-метионина является метаболической сенсорной системой для регулируемого метилирования патологического сигнала.

Ключевые слова: дисфункция эндотелия, гипергомоцистеинемия, механизмы повреждения.

Davydov A.O.

MECHANISMS OF ENDOTHELIAL DYSFUNCTION DEVELOPMENT IN HYPERHOMOCYSTEINEMIA (LITERATURE REVIEW)

Chita State Medical Academy, Chita, Russia

Abstract. *Currently, the mechanisms of endothelial damage caused by homocysteine include direct damage to endothelial cells, impaired NO production, accumulation of ROS and oxidative stress, dysfunction of the H₂S signaling pathway, cellular hypomethylation, homocysteinylation of proteins and impaired lipid metabolism. The new concept is that the Hcy-methionine cycle is a metabolic sensory system for regulated methylation of the pathological signal.*

Keywords: *endothelial dysfunction, hyperhomocysteinemia, damage mechanisms.*

Гомоцистеин (Hcy) – промежуточная аминокислота, образующаяся при превращении метионина в цистеин [1]. Когда уровень Hcy в плазме натошак составляет более 15 мкмоль/л, это называется гипергомоцистеинемией (ННсу) [2]. Сосудистый эндотелий является необходимым барьером для сосудистого гомеостаза, а его нарушение является инициацией атеросклероза (АС). Однако механизм, повреждающего действия Hcy до сих пор изучен не полностью. В этом обзоре мы попытаемся суммировать механизмы повреждения эндотелия, вызванного Hcy.

Одной из основных причин развития ННсу являются гомозиготные мутации в ферментах, участвующих в его метаболизме [3]. Однако ННсу, вызванный гетерозиготными мутациями в родственных ферментах, часто протекает бессимптомно, с умеренно повышенным или нормальным уровнем Hcy в плазме [4].

Концентрация Hcy в плазме значительно увеличивается при недостатке незаменимого кофактора витамина В₁₂/В₆ или косубстрата фолата [5]. Наблюдается рост плазменного уровня Hcy с возрастом [6]. Показано, что в плазме у женщин в пременопаузе концентрация Hcy обычно на 20% ниже, чем у мужчин того же возраста, достигая его средних значений у мужчин в постменопаузе [7].

Кроме этого, некоторые препараты, снижающие уровень липидов, такие как фибраты [8] и ниацин, могут повышать уровень Hcy в плазме. Поэтому преимущество лечения повышенных концентраций холестерина в организме следует создавать с возможными долгосрочными рисками повышенного Hcy.

Исследования показывают, что ННсу сопровождает онкологические процессы, псориаз, гипотиреоз, диабет и почечная дисфункция [9].

Сосудистый эндотелий (ЭК) является гомеостатическим барьером для циркулирующей крови и стенок сосудов, как привратник здоровья сердечно-сосудистой системы [10]. Нарушение эндотелиальной функции и барьера может привести к серии каскадных реакций, таких как воспалительная реакция [11], рекрутинг моноцитов [12], образование бляшек, структурное ремоделирование, тромбоз [13].

Поврежденные ЭК секретируют большое количество цитокинов, молекул адгезии и хемокинов. Показано, что Hcy индуцирует синтез и экспрессию интерлейкинов (IL)-1 β , IL-6, IL-8, IL-18, фактора некроза опухоли (TNF)- α [14], что может привести к накоплению в субэндотелии АФК, активации инфламмосомы и фактора каппа-В (NF- κ B), повышению

уровня ингибитора активатора плазминогена-1 (PAI-1) [15].

Показано, что Hcy может индуцировать развитие апоптоза, пироптоза и ферроптоза эндотелиоцитов. Гибель ЭК будет сопровождаться развитием воспаления в сосудистой стенке и формированием атеросклеротической бляшки.

Hcy посттрансляционно ингибирует активность диметиларгининдиметиламиногидролазы (DDAH), фермента, который разрушает ADMA [16]. Следовательно, Hcy может сохранять накопление ADMA и ингибировать синтез NO. Hcy также может ингибировать NOS и снижать синтез NO в ЭК, активируя протеинкиназу C (PKC). Снижение синтеза NO вызывает повреждение эндотелия, усугубляя окислительный стресс и снижая иммунный ответ [17]. Оксид азота является ключевой сигнальной молекулой в эндотелиоцитах, действующей как вазодилаторный фактор, ингибитор активации ЭК, инфильтрации макрофагов, образования/миграции пенных клеток, агрегации тромбоцитов, тромбоза, ремоделирования сосудистой стенки.

Hcy индуцирует развитие окислительного стресса в ЭК, опосредуя выработку АФК или нарушая антиоксидантную систему. Кроме этого, он изменяет активность НАДФН-оксидазы ЭК для накопления АФК. Важным механизмом повреждения ЭК, вызванного Hcy, является стресс эндоплазматической ретикулы (ERS), приводящий к накоплению аномально свернутых белков в эндоплазматической ретикуле, что в свою очередь способствует развитию аутоиммунного компонента воспаления [18].

Известно, что Hcy метаболизируется в цистеин путем транссульфуризации, который затем разлагается до сульфата и дигидросульфида, известного как сероводород (H₂S) [19]. H₂S регулирует ангиогенез, пролиферация и миграцию эндотелиоцитов и обеспечивает эндотелиальную продукцию NO [20]. Гипергомоцистеинемия стимулирует образование H₂S, сопровождающееся повреждением эндотелия.

S-аденозилметионин, образующийся при появлении метионина в Hcy, является донором метильной группы почти для всех механизмов метилирования ДНК, РНК, белка и других компонентов в клетках [21]. Стоит отметить, что гидролиз S-AdoHcy до Hcy превращается в синтез S-AdoHcy из SAM/AdoMet термодинамически более выгоден. Реакция в направлении гидролиза из-за быстрого очищения Hcy путем клеточного экспорта и метаболического преобразования в нормальных условиях. Однако, когда уровни Hcy аномально повышаются, это может вызвать повышение уровня AdoHcy. Важно, что AdoHcy является высшим эндогенным ингибитором клеточных метилтрансфераз, HNHcy легко образует гипометилирующую среду, что еще более эффективно обеспечивает механизм метилирования, связанный с гомеостазом интимы. Гипометилирование ЭК может снизить уровень аквапорина-1, что приводит к нарушению водопроницаемости и эндотелиальной дисфункции, повысить экспрессию молекул адгезии межклеточной адгезионной молекулы-1 (ICAM-1) и сосудистой адгезионной молекулы-1 (VCAM-1) посредством подавления экспрессии белка GPX1, вызывая повреждение и повреждение ЭК [22].

Еще один механизм повреждающего действия HNHcy – это гомоцистеинилирование белков. Оно классифицируется как S-гомоцистеинилирование и N-гомоцистеинилирование, с образованием гомоцистеин тиолактона (HTL),

вызывающего модификацию белковых структур и активацию аутоиммунных процессов [10].

Высокая плотность липопротеинов способствует сохранению функции эндотелия, однако было установлено, что, когда ЛПВП гомоцистеинилируется N-гомоцистеином, это уменьшает миграцию ЭК и ослабляет ЛПВП-осредпоованное заживление эндотелия по сравнению с контролем [23]. Было установлено, что ангиотензинпревращающий фермент (АПФ) может быть напрямую гомоцистеинилирован Hcy, что приводит к снижению его активности.

Таким образом, изучение механизмов повреждения эндотелия Hcy необходимо для дальнейшего определения стратегических целей и патогенетических методов восстановления эндотелия.

Список литературы:

1. Chen N, Liu J, Qiao Z, Liu Y, Yang Y, Jiang C, et al. Chemical proteomic profiling of protein N-homocysteinylation with a thioester probe. // *Chem Sci.* – 2018. V. 9. – P. 2826–30. – doi: 10.1039/C8SC00221E
2. Li H, Liu Z, Liu L, Li W, Cao Z, Song Z, et al. Vascular protection of TPE-CA on hyperhomocysteinemia-induced vascular endothelial dysfunction through AA metabolism modulated CYPs pathway.// *Int J Biol Sci.* – 2019. – V.15. – P. 2037–50. – doi: 10.7150/ijbs.35245
3. Nakladal D, Lambooy SPH, Misuth S, Cepcova D, Joschko CP, van Buiten A, et al. Homozygous whole body Cbs knockout in adult mice features minimal pathology during ageing despite severe homocysteinemia. // *FASEB J.* – 2022. – V. 36. P. e22260. – doi: 10.1096/fj.202101550R
4. Cui X, Navneet S, Wang J, Roon P, Chen W, Xian M, et al. Analysis of MTHFR, CBS, glutathione, taurine, and hydrogen sulfide levels in retinas of hyperhomocysteinemic mice. // *Invest Ophthalmol Vis Sci.* – 2017/ – V. 58. – P.1954–63. – doi: 10.1167/iovs.16-21247
5. Zheng Z, Liu L, Zhou K, Ding L, Zeng J, Zhang W. Anti-oxidant and anti-endothelial dysfunctional properties of nano-selenium in vitro and in vivo of hyperhomocysteinemic rats. // *Int J Nanomedicine.* – 2020. – V. 15. – P.4501–21. – doi: 10.2147/IJN.S255392
6. Фефелова Е.В., Измestьев С.В., Терешков П.П., Цыбиков Н.Н., Дутова А.А., Бямбаагийн Ариунсанаа, Бородулина И.И. К патогенезу формирования гомоцистеином дисфункции эндотелия у никотинозависимых лиц // Кубанский научный медицинский вестник. – 2013. – № 5 (140). – С. 184-188.
7. Bai J, Lechuga TJ, Makhoul J, Yan H, Major C, Hameed A, et al. ERalpha/ERbeta-directed CBS transcription mediates E2beta-stimulated hUAEC H2S production. // *J Mol Endocrinol.* – 2022. – [Epub ahead of print]. – doi: 10.1530/JME-22-0175
8. Raza-Iqbal S, Tanaka T, Anai M, Inagaki T, Matsumura Y, Ikeda K, et al. Transcriptome analysis of K-877 (a novel selective PPARalpha modulator (SPPARMalphalpha))-regulated genes in primary human hepatocytes and the mouse liver. // *J Atheroscler Thromb.* – 2015. – V. 22. – P.754–72. – doi: 10.5551/jat.28720
9. Hamed AM, El-Kharashi OA, Boctor SS, Abd-Elaziz LF. Potential involvement of PPAR alpha activation in diminishing the hepatoprotective effect of fenofibrate in NAFLD:

- accuracy of non- invasive panel in determining the stage of liver fibrosis in rats. // *Biomed Pharmacother.* – 2017. – V.85. P. 68-78. – doi: 10.1016/j.biopha.2016.11.114
10. Фефелова Е.В., Терешков П.П., Исакова Н.В., Измestьев С.В., Бикбаева М.В., Цыбиков Н.Н. Роль гипергомоцистеинемии в механизмах развития гиперкоагуляции у больных ИБС // *Забайкальский медицинский вестник.* – 2019.– № 2. – С. 90-98.
 11. Цыбиков Н.Н., Фефелова Е.В., Терешков П.П., Измestьев С.В. Дисфункция эндотелия при экспериментальной гипергомоцистеинемии // *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* – 2016. – Т. 60. № 3. – С. 42-46.
 12. Фефелова Е.В. Изменение адгезивных свойств лейкоцитов под воздействием гипергомоцистеинемии // *Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра Сибирского отделения Российской академии медицинских наук.* – 2010. – № 3 (73). – С. 267-269.
 13. Кузник Б.И., Цыбиков Н.Н. Белки теплового шока, атеросклероз, ДВС-синдром и тромбоз // *Проблемы клинической медицины.* – 2009. – № 1 (19). – С. 110-117.
 14. Jiang T, Zhang W, Wang Z. Laquinimod protects against TNF-alpha-induced attachment of monocytes to human aortic endothelial cells (HAECs) by increasing the expression of KLF2. // *Drug Des Devel Ther.* – 2020. – V. 14. – P.1683-91. – doi: 10.2147/DDDT.S243666
 15. Sun T, Ghosh AK, Eren M, Miyata T, Vaughan DE. PAI-1 contributes to homocysteine-induced cellular senescence. // *Cell Signal.* – 2019. – V. 64. – P. 109394. – doi: 10.1016/j.cellsig.2019.109394
 16. Gopu CL, Hari PR, George R, Harikrishnan S, Sreenivasan K. Simultaneous determination of homocysteine and asymmetric dimethylarginine in human urine by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. // *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* – 2013. – V. 939. – P. 32-7. – doi: 10.1016/j.jchromb.2013.09.010
 17. Smith DE, Hornstra JM, Kok RM, Blom HJ, Smulders YM. Folic acid supplementation does not reduce intracellular homocysteine, and may disturb intracellular one-carbon metabolism. // *Clin Chem Lab Med.* – 2013. – V. 51. – P.1643–50. – doi: 10.1515/cclm-2012-0694
 18. Фефелова Е.В., Измestьев С.В., Терешков П.П., Дутов А.А., Мартынова А.В., Цыбиков Н.Н. Содержание цитокинов, циркулирующих эндотелиоцитов и аутоантител к альбумину, модифицированному гомоцистеином, у никотинзависимых лиц // *Дальневосточный медицинский журнал.* – 2014. – № 1. – С. 22-24.
 19. Rahman MA, Glasgow JN, Nadeem S, Reddy VP, Sevalkar RR, Lancaster JR JR., et al. The role of host-generated H2S in microbial pathogenesis: new perspectives on tuberculosis. // *Front Cell Infect Microbiol.* – 2020. – V. 10. – P. 586923. – doi: 10.3389/fcimb.2020.586923
 20. Xiao L, Dong JH, Teng X, Jin S, Xue HM, Liu SY, et al. Hydrogen sulfide improves endothelial dysfunction in hypertension by activating peroxisome proliferator-activated receptor delta/endothelial nitric oxide synthase signaling. // *J Hypertens.* – 2018. – V. 36. – P.651–65. – doi: 10.1097/HJH.0000000000001605
 21. Liu Q, Lin B, Tao Y. Improved methylation in E. coli via an efficient methyl supply system driven by betaine. // *Metab Eng.* – 2022. – V. 72. – P.46–55. – doi: 10.1016/j.ymben.2022.02.004
 22. Barroso M, Florindo C, Kalwa H, Silva Z, Turanov AA, Carlson BA, et al. Inhibition of cellular methyltransferases promotes endothelial cell activation by suppressing glutathione

peroxidase 1 protein expression. // *J Biol Chem.* – 2014. – V. 289. – P.15350–62. – doi: 10.1074/jbc.M114.549782

23. Kameda T, Horiuchi Y, Shimano S, Yano K, Lai SJ, Ichimura N, et al. Effect of myeloperoxidase oxidation and N-homocysteinylation of high-density lipoprotein on endothelial repair function. // *Biol Chem.* – 2022. – V. 403. – P. 265–77. – doi: 10.1515/hsz-2021-0247

УДК: 616.927-022

¹Джиоев Ю.П., ^{1,2,3,4}Арефьева Н.А., ¹Борисенко А.Ю.,

^{1,3}Эрдынеев С.В., ¹Карноухова О.Г., ⁵Мирошниченко Л.А.,

¹Антипин Д.А., ¹Вершинина Т.И., ¹Семинский И.Ж.

**ИНДИКАТОРЫ ПАТОГЕНЕЗА САЛЬМОНЕЛЛЕЗОВ, ВЫЗЫВАЕМЫХ
SALMONELLA ENTERICA И ПЕРСПЕКТИВЫ ИХ ФАГОТЕРАПИИ (ОБЗОР)**

¹*ФГБОУ ВО Иркутский государственный медицинский университет,
Иркутск, Россия*

²*ФГБНУ Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека,
Иркутск, Россия*

³*ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт
Сибири и Дальнего Востока, Иркутск, Россия*

⁴*ФГБОУ ВО Иркутский государственный университет, Иркутск, Россия*

⁵*Институт математики им. С. Л. Соболева СО РАН, Новосибирск, Россия*

Резюме. Источниками сальмонеллезов, вызываемых *S. enterica* являются более 2500 его сероваров. Сальмонеллезы наиболее адаптированы к домашним животным и их продукты являются основным путем передачи инфекции человеку. Для человека патогенез инфекции проходит в кишечной биоте, проявляясь острой лихорадкой, тошнотой, болью в животе и диареей. Проводится обзорный анализ индикаторов патогенеза сальмонеллезов, вызываемых зоонозными бактериями пищевого происхождения *S. enterica* по экологическим и генетическим критериям. Будет оценен вклад каждого критерия в патогенезе сальмонеллезов.

Ключевые слова: *Salmonella enterica*, салмонеллезы, индикаторы патогенеза, таргетная фаготерапия

¹Dzhioev Yu.P., ^{1,2,3}Arefyeva N.A., ¹Borisenko A.Yu., ^{1,3}Erdyneev S.V.,
¹Karnoukhova O.G., ⁵Miroshnichenko L.A., ¹Antipin D.A., ¹Vershinina T.I., ¹Seminsky I.Zh.

INDICATORS OF PATHOGENESIS OF SALMONELLOSIS CAUSED BY SALMONELLA ENTERICA AND PROSPECTS OF THEIR PHAGE THERAPY

¹*Irkutsk State Medical University, Irkutsk, Russia*

²*Scientific Center for Family Health and Human Reproduction, Irkutsk, Russia*

³*Irkutsk Research Anti-Plague Institute of Siberia and the Far East, Irkutsk, Russia*

⁴*Irkutsk State University, Irkutsk, Russia*

⁵*Sobolev Institute of Mathematics SB RAS, Novosibirsk, Russia*

Abstract. The sources of salmonellosis caused by *S. enterica* are more than 2500 of its serovars. Salmonellosis is most adapted to domestic animals and their products are the main route of infection transmission to humans. For humans, the pathogenesis of infection occurs in the intestinal biota, manifested by acute fever, nausea, abdominal pain and diarrhea. A review analysis of the pathogenesis indicators of salmonellosis caused by zoonotic foodborne bacteria *S. enterica* is carried out according to environmental and genetic criteria. The contribution of each criterion to the pathogenesis of salmonellosis will be assessed.

Keywords: *Salmonella enterica*, salmonellosis, pathogenesis indicators, targeted phage therapy

Введение. *Salmonella* – род зоонозных пищевых патогенов, состоящий из двух видов: *S. enterica* и *S. bongori* и они глобально распространены. *S. enterica* делится на 7 подвидов, которые известны как нетифозные (NTS). Серотипы этого подвида являются причиной более 99% клинических случаев сальмонеллеза у людей. Они ответственны не только за гастроэнтерит, диарею и миалгию, но и за спленомегалию, гепатомегалию и инфекции мочевыводящих путей (рис.1.) [1,2].

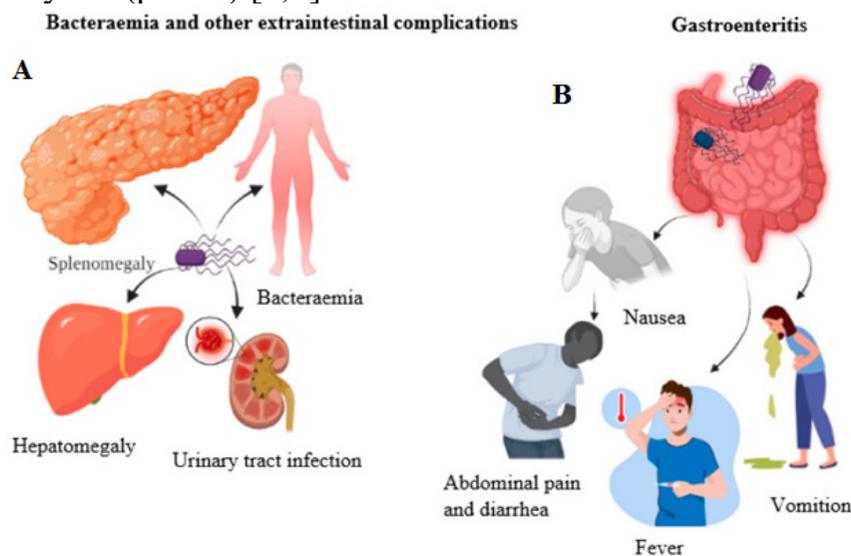


Рис. 1. Клиника сальмонеллезов человека. А: бактериемия, спленомегалия, гепатомегалия и инфекции мочевыводящих путей. В: гастроэнтерит, головная боль, тошнота, рвота, боль в животе, бескровная диарея и миалгия. [1,2].

Патогенез сальмонеллезов. У бактерий двухкомпонентные системы (TCS) являются широко используемыми устройствами регуляции генов, реагирующих на изменяющиеся условия роста. Многие патогенные бактерии сталкиваются с различными микросредами во время своего инфекционного цикла и их способность эффективно адаптироваться к различным нишам внутри и снаружи хозяина часто опосредована TCS, что является важным показателем их патогенности [3]. Также патогенез сальмонеллезов формируется через несколько последовательных этапов (рис.2) [4]. 1. Штаммы *S. enterica*, попадая в кишечную слизь прикрепляются к эпителию посредством адгезинов (SP-3 и SP4) и экспрессируют комплекс T3SS, расположенный в SPI-1 и поглощаются клеткой. 2. Здесь *S. enterica* высвобождает нейтрофилы, преобразующие тиосульфат в тетратионат. 3. Внутри цитоплазмы *S. enterica* находится в вакуолях (SCV). 4. Когда *S. enterica* пересекает эпителий, она поглощается макрофагами и далее происходит их миграция через кровоток в печень и селезенку.

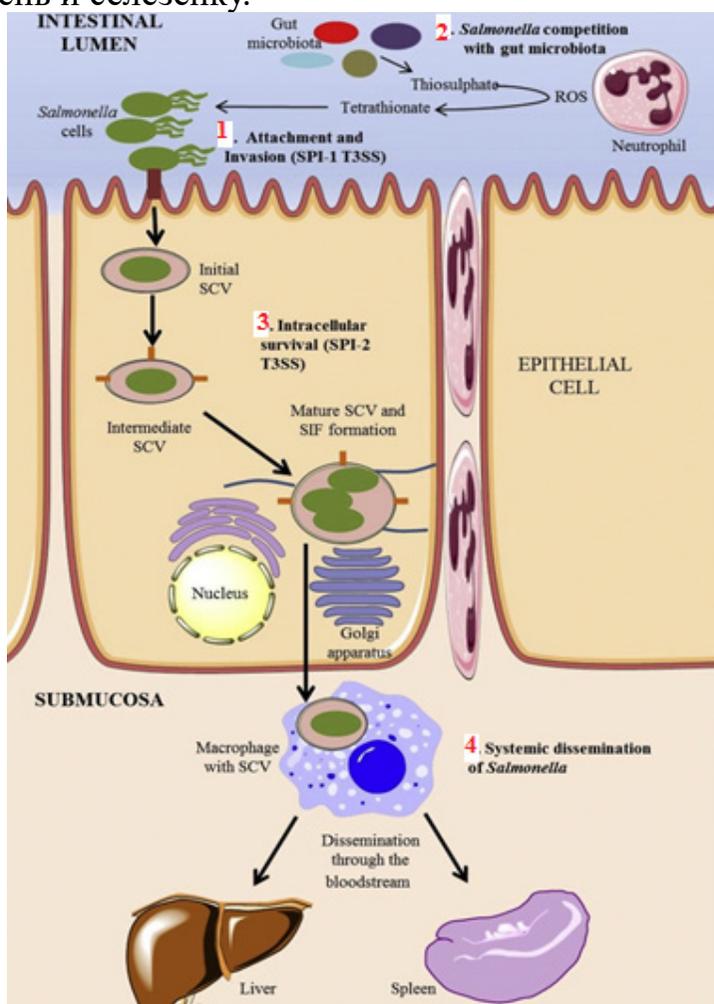


Рис. 2. Модель патогенеза сальмонеллы у людей. [4].

Экологические индикаторы. Среди важных индикаторов патогенеза сальмонеллезов является экологическая зоонозная среда, в которой *S. enterica* формируется как пищевой патоген человека (рис. 3) [2]. Экологическими резервуарами сальмонеллеза служат: насекомые, рептилии, люди и животные. А продукты от животных и растений: птица, говядина, свинина, яйца, молоко и его продукты, овощи, мука, орехи и т. д., являются источниками заражения.

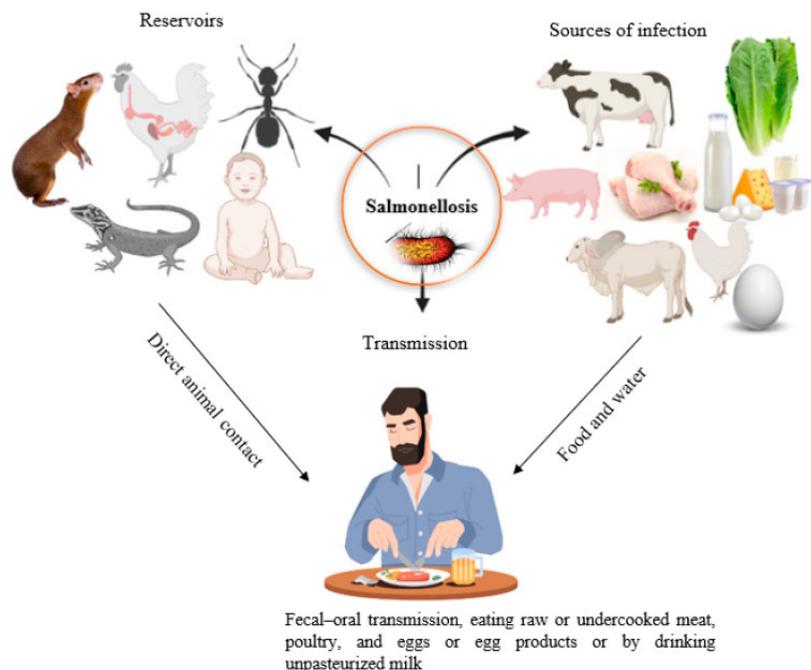


Рис. 3. Диаграмма, показывающая первичный резервуар, источник заражения и механизм передачи сальмонеллеза человека. [2].

Генетические индикаторы. К генетическим индикаторам патогенеза *S. enterica* можно отнести гены их патогенности, устойчивости к антибактериальным препаратам и cas белков CRISPR/Cas систем. В геномах *S. enterica* выявлены два острова патогенности: SPI-1 и SPI-2, кодирующие системы секреции III типа-T3SS. Гены SPI-1 (inv A, sop B, mgt C, spi 4D) позволяют проникать сальмонелле в эпителиальные клетки кишечника и ее колонизации. Гены SPI-2 (активаторы: fis, IHF, phoP, ompR, slyA и hilD; репрессоры: hns, hha, ydgT и pmrA) необходимы для репликации сальмонелл внутри макрофагов и запуска процессов сальмонеллезов. Эти гены могут служить руководством для определения патогенности изолятов сальмонелл [4]. Нерегулируемое использование антибиотиков привело к множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ) многих сероваров *S. enterica*. Ожидается, что во всем мире количество смертей от патогенов с МЛУ увеличится до 10 миллионов к 2050 году [5]. Основными генами к МЛУ у *S. enterica* являются: bla TEM, qnr A, flo R, tet A, tet B, tet G, inv A, sop B, mgt C, sip 4D, spv C, ssa Q. [6,7]. CRISPR/Cas системы бактерии являются структурой адаптивной иммунной защиты бактерии от фагов и плазмид. Двумя основными компонентами систем CRISPR-Cas являются модули адаптации и эффектора. Модуль адаптации состоит из белков Cas1 и Cas2, где Cas1 является ферментативно активной субъединицей, а Cas2 образует структурный каркас комплекса. Во многих системах CRISPR-Cas дополнительные гены белков cas, такие как cas4, cas3, cas9 также вносят вклад в стадию адаптации (рис. 4) [9].

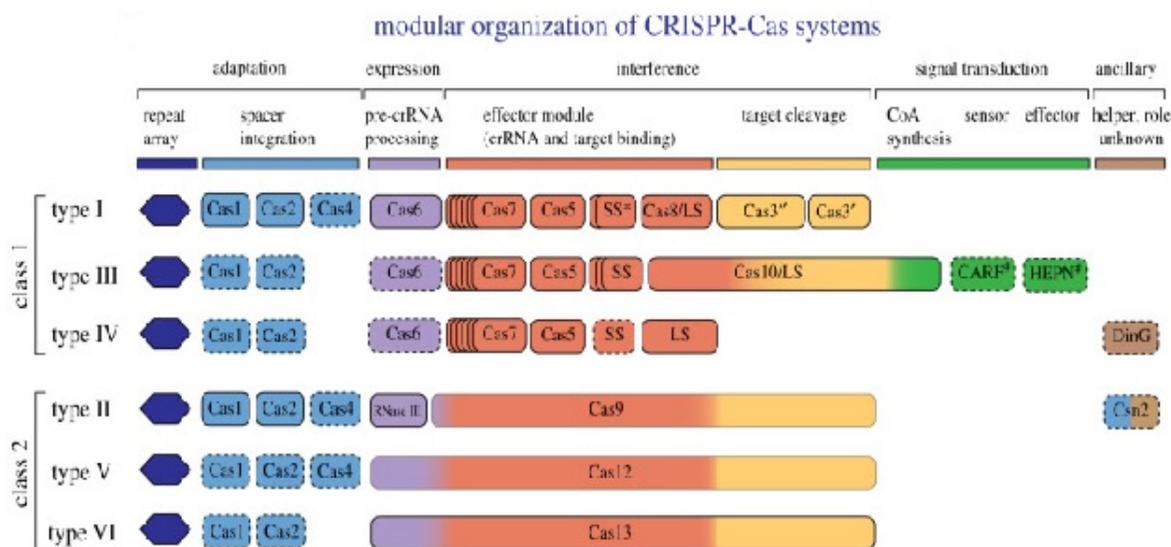


Рис. 4. Основные строительные блоки типов CRISPR-Cas систем. [9].

Таргетная фаготерапия. Проблема борьбы с МЛЮ патогенами становится глобальной и стала необходимостью разработать новые подходы для профилактики и лечения вызываемых ими заболеваниями. Эта проблема усугубляется еще и тем, что современная фармацевтическая наука пока бессильна найти вещества, к которым бы бактерии не выработали устойчивость. Исходя из этого закономерно возродился интерес к фаготерапии [10]. Преимущество фагов в том, что они, обладая узкой специализацией могут «пожирать» патогенные бактерии и структуры их биопленок, не затрагивая нормальных обитателей кишечной биоты. В ряде работ предлагаются подходы по скринингу таргетных фагов через CRISPR-Cas системы бактерии [11,12,13,14]. В этих исследованиях предлагается проводить скрининг таргетных фагов через спейсеры, в выявленных CRISPR-кассетах, комплементарных протоспейсерам детектируемых фагов. Они содержат информацию о всех фагах, с которыми данный штамм бактерии встречался и, соответственно, уже имеет устойчивость к ним. Этим подходом в перспективе будет возможность создать платформу для разработки технологии таргетной фаготерапии ко всем патогенным бактериям, обладающих МЛЮ.

Работа поддержана грантом Российского научного фонда (проект № 23-25-00520).

Список литературы:

1. Bhunia, A.K. (2018). Introduction to Foodborne Pathogens. In: Foodborne Microbial Pathogens. Food Science Text Series. Springer, New York, NY.
2. Teklemariam AD, et.al. Human Salmonellosis: A Continuous Global Threat in the Farm-to-Fork Food Safety Continuum. Foods. 2023 Apr 23;12(9):1756. doi: 10.3390/foods12091756.
3. Wang Q, et.al. The RcsCDB signaling system and swarming motility in *Salmonella enterica* serovar typhimurium: dual regulation of flagellar and SPI-2 virulence genes. J Bacteriol. 2007 Dec;189(23):8447-57. doi: 10.1128/JB.01198-07.
4. Lamas A, et.al. A comprehensive review of non-enterica subspecies of *Salmonella enterica*. Microbiol Res. 2018 Jan;206:60-73. doi: 10.1016/j.micres.2017.09.010.
5. De la Cruz MA, et.al. The two-component system CpxR/A represses the expression of

- Salmonella virulence genes by affecting the stability of the transcriptional regulator HilD. *Front Microbiol.* 2015 Aug 6;6:807. doi: 10.3389/fmicb.2015.00807/.
6. He Y., et al. Antibiotic resistance genes from livestock waste: occurrence, dissemination, and treatment. *NPJ Clean Water.* 2020;3(1):1–11. doi: 10.1038/s41545-020-0051-0.
 7. Uzairue LI, et.al. Antimicrobial resistance and virulence genes of invasive *Salmonella enterica* from children with bacteremia in north-central Nigeria. *SAGE Open Med.* 2023 May 20;11:20503121231175322. doi: 10.1177/20503121231175322.
 8. Parks AR, et al. In *Salmonella enterica*, the pathogenicity island 2 (SPI-2) regulator PagR regulates its own expression and the expression of a five-gene operon that encodes transketolase C. *Mol Microbiol.* 2023 Oct;120(4):575-586. doi: 10.1111/mmi.15143.
 9. Koonin EV, Makarova KS. Origins and evolution of CRISPR-Cas systems. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 2019 May 13;374(1772):20180087. doi: 10.1098/rstb.2018.0087.
 10. Domingo-Calap P., Delgado-Martínez J. (2018). Bacteriophages: protagonists of a post-antibiotic era. *Antibiotics* 7:66. 10.3390/antibiotics7030066.
 11. Степаненко Л.А., Джюев Ю.П., и др. Характеристика CRISPR/Cas-системы *Mycobacterium tuberculosis* H37RV как платформа для создания персонифицированной фаготерапии. *Вестник Российской Военно-медицинской академии.* 2018. № 4.(64). С. 71-78.
 12. Борисенко А.Ю., Джюев Ю.П., и др. Биоинформационный поиск и анализ структур CRISPR/Cas-систем в геноме штамма *Staphylococcus aureus* и оценка профилей фаговых рас, детектируемых через CRISPR-кассету бактерий. *Acta Biomedica Scientifica.* 2018. Т. 3. № 5. С. 49-53.
 13. Джюев Ю.П., и др. Анализ проблемы "супербактерий" и современные подходы к ее решению. *Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология.* 2019. Т.9. № 4. С. 665-678.
 14. Степаненко Л.А., Джюев Ю.П., и др. Разработка подходов скрининга высокоспецифичных бактериофагов на основе биоинформационного анализа структур CRISPR-cas систем *Corynebacterium diphtheriae*. *Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология.* 2021. Т. 11. № 2 (37). С. 216-227.

УДК 616.211-006.5-089.87

Дутова С.В., Маниковская Т.М., Сердцев М.И.,

Нестеренко Е.С., Филиппова О.П., Баясхаланова Ц.Б., Егорова Е.В., Фелелова Е.В.

**ОСОБЕННОСТИ МОРФОЛОГИЧЕСКОЙ ХАРАКТЕРИСТИКИ
ЭОЗИНОФИЛЬНОГО ТИПА ПОЛИПОЗНОГО РИНОСИНОСИТА В
ЗАВИСИМОСТИ ОТ НАЛИЧИЯ АЛЛЕРГОЛОГИЧЕСКОГО АНАМНЕЗА
ФГБОУ ВО Читинская государственная медицинская академия, Чита, Россия**

Резюме. В данной научной работе рассматриваются морфологические особенности полипозной ткани носа эозинофильного типа в контексте наличия или отсутствия аллергологического анамнеза у пациентов с хроническим полипозным риносинуситом. Актуальность исследования обусловлена высокой распространенностью полипозных

изменений слизистой оболочки носа и отсутствием единого подхода к пониманию их этиологии и патогенеза. Работа включает анализ гистологических характеристик эозинофильного типа полипа, концентрации IL-4, IL-6 в сыворотке и гомогенатах полипозной ткани. В исследование были включены 26 пациентов, разделенных на две группы в зависимости от наличия аллергологического анамнеза, с целью выявления отличий в клеточном инфильтрате. Результаты работы могут способствовать более глубокому пониманию патогенеза полипозного риносинусита и оптимизации методов его лечения, включая таргетную терапию.

Ключевые слова: полип, риносинусит, иммунный ответ, морфология.

Dutova S.V., Manikovskaya T.M., Serdtsev M.I.,

Nesterenko E.S., Filippova O.P., Bayaskhalanova Ts.B., Egorova E.V., Fefelova E.V.

FEATURES OF THE MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS OF THE EOSINOPHILIC TYPE OF POLYPOUS RHINOSINUSITIS DEPENDING ON THE PRESENCE OF AN ALLERGIC HISTORY

Chita State Medical Academy, Chita, Russia

Abstract. *This scientific work examines the morphological features of eosinophilic nasal polypous tissue in the context of the presence or absence of an allergic anamnesis in patients with chronic polypous rhinosinusitis. The relevance of the study is due to the high prevalence of polypous changes in the nasal mucosa and the lack of a unified approach to understanding their etiology and pathogenesis. The work includes an analysis of the histological characteristics of various types of polyps, as well as a study of the influence of immune mechanisms and inflammatory processes on the development of the disease. The study included 26 patients, divided into two groups depending on the presence of an allergic anamnesis, in order to identify differences in the cellular infiltrate. The results of the work can contribute to a deeper understanding of the pathogenesis of polypous rhinosinusitis and optimization of its treatment methods, including targeted therapy.*

Keywords: *polyp, rhinosinusitis, immune response, morphology.*

Актуальность. Полипозные, полипозно-кистозные изменения слизистой оболочки полости носа являются наиболее распространенной патологией ЛОР-органов, однако, единого подхода к пониманию этиологии и патогенеза процесса образования полипов нет. Полипозный риносинусит – это хроническое заболевание, основным клиническим признаком которого является рост полипов на слизистой носа и в околоносовых пазухах [5].

Полип представляет собой участок измененного эпителия полости носа, который расположен на утолщенной базальной мембране. В рамках гистологической классификации выделяют 4 типа полипов: отечный или эозинофильный (наиболее часто встречающийся), характеризующийся отеком, гиперплазией бокаловидных клеток, утолщением базальной мембраны и инфильтрацией лейкоцитами с большим содержанием эозинофилов; фиброзно-воспалительный тип, характеризующийся хроническим воспалением и метаплазией поверхностного эпителия; железистый тип, который встречается нечасто

и характеризуется выраженной гиперплазией серозно-слизистых желез; атипический тип полипов, встречающийся редко и требующий дифференциальной диагностики с неоплазией [1]. В контексте эозинофильного типа полипа нет четких критериев количественных показателей клеток на единицу площади для его выделения, тип полипа определяется преобладающим видом инфильтрата [8,9].

Кроме того, отдельно выделяют полипоз, возникающий в результате нарушения аэродинамики полости носа, обусловленного особенностями архитектоники полости носа, полипоз, развивающийся в результате хронического гнойного (бактериального) или грибкового воспаления околоносовых пазух (вследствие чего образуется нейтрофильный тип полипа) и полипоз, развивающийся на фоне аспириновой триады (ассоциированный с атопической бронхиальной астмой, атопией) [3].

Полипозный риносинусит является сложным заболеванием с многофакторным патогенезом, включающим взаимодействие иммунных механизмов, воспалительных процессов и анатомических изменений в области носа и синусов. Наиболее часто встречающимся в клинической практике типом полипов является эозинофильный, при котором возникает хроническое воспаление и активация иммунной системы. Изменение баланса между провоспалительными и противовоспалительными цитокинами сопровождается увеличением уровня таких цитокинов, как IL-4, IL-5 и IL-13, которые способствуют эозинофильному воспалению. В результате активации иммунного ответа происходит инфильтрация слизистой оболочки эозинофилами. Эти клетки выделяют медиаторы воспаления, способствующие дальнейшему повреждению тканей и образованию полипов. Кроме того, в патогенезе немаловажную роль играют генетические факторы, а также нарушение дренажной функции и сопутствующие заболевания [2].

Согласно литературе, эозинофильный тип полипозного риносинусита имеет связь с наличием аллергологического анамнеза у пациента (аллергия, астма, чувствительность к аспирину) [7]. Однако, особенности клеточного инфильтрата при эозинофильном полипозе и их взаимосвязь с аллергологическим анамнезом в литературе описаны недостаточно.

В лечении полипозного риносинусита преобладает вариант хирургического подхода, при котором для выбора тактики не учитывается морфологический тип полипа. Однако, в современную клиническую практику активно внедряется и консервативный подход. На сегодняшний день разработана схема таргетной терапии в отношении полипов с преимущественно эозинофильной инфильтрацией. В ряде клинических исследований приняты следующие показания к назначению таргетной терапии: эозинофилы в тканях ≥ 10 в поле зрения большого увеличения ($\times 400$) или эозинофилы в крови ≥ 250 клеток/мкл ИЛИ общий IgE ≥ 100 МЕ/мл. Моноклональные антитела, входящие в состав генно-инженерного препарата, блокируют цитокины определенных групп (IL-4, IL-5, IL-13), что способствует снижению интенсивности воспаления и инфильтрации в ткани слизистой оболочки полости носа, на фоне чего уменьшается выраженность клинических проявлений, ввиду уменьшения размеров полипа [2, 4, 6].

Цель: изучить морфологические особенности полипозной ткани носа эозинофильного типа в зависимости от аллергологического анамнеза.

Материалы и методы: В исследование были включены 26 пациентов, страдающих

хроническим полипозным риносинуситом эозинофильного типа, разделенных на группы: 1 – аллергологический анамнез отсутствует, 2 – с аллергологическим анамнезом.

Группа контроля представлена пациентами без хронического риносинусита и сопутствующей патологии, оперированных по поводу септопластики. Средний возраст больных контрольной группы и не имеющих в анамнезе хронических заболеваний составил 43,0 (33,0; 44,0) года.

Проведение работы одобрено локальным этическим комитетом при ФГБОУ ВО Читинская государственная медицинская академия 11 ноября 2020 года (№ 104).

Критериями не включения явились: возраст ниже 18 или старше 80 лет; прием системных стероидов в течение 3 месяцев до включения в исследование; ГЭРБ; тяжелое психическое расстройство; беременность или кормление грудью; иммунодефициты; саркоидоз, муковисцидоз, системный васкулит; нестабильные сердечно-сосудистые заболевания; нерегулируемый диабет, наличие ВИЧ-инфекции, гепатитов В и С, обострения сердечно-сосудистых заболеваний, онкопатология, декомпенсированная почечная и печеночная недостаточность.

Биоптат полипов и участки удаленной слизистой во время операции у пациентов контрольной группы использовали для морфологического исследования (количественный и качественный состав исследуемых образцов) и для оценки уровня цитокинов.

Концентрации цитокинов (IL-4, IL-6) определяли в сыворотке крови и гомогенатах тканей с помощью системы мультиплексного анализа «Human Essential Immune Response Panel» компании «Biolegend» (США).

Статистическая обработка данных проводилась в программе jamovi 2.3.28 с использованием однофакторного дисперсионного анализа Крускал-Уоллисса. Результаты в таблицах представлены как медиана (Me) и (25; 75) процентиль. Достоверность различий между группами (p) оценивали при помощи попарных сравнений Двасса-Стила-Кричлоу-Флигнера. Статистически достоверными считались данные при количественной характеристике случайностей (p-значение) не более 0,05.

Результаты. В рамках цитоморфометрического анализа был произведен подсчет клеточного состава ткани полипов.

Таблица 1

Показатели	1 группа	2 группа	3 группа	Тестовая статистика
Нейтрофилы в полипозной ткани/мм ²	0,00 (0,00;0,00)	0,00 (0,00;25,50) P1<.001	0,00 (0,00;8,00) P2<.001, P3<.001	W1=3,17, W2=3,65, W3=0,34
Эозинофилы в полипозной ткани/мм ²	0,00 (0,00;1,00)	34,00 (27,00;48,00) P1<.001	203,00 (156,00;300,0) P2<.001 P3<.001	W1=6,44, W2=5,67, W3=5,70
Лимфоциты в полипозной ткани/мм ²	25,00 (15,00;31,00)	136,00 (101,00;173,0) P1<.001	78,00 (73,00;87,00) P2<.001 P3<.001	W1=6,35, W2=5,53, W3=4,72

Плазмоциты в полипозной ткани/мм ²	2,00 (1,00;2,00)	8,00 (5,50;9,50) P1<.001	14,00 (12,00;16,00) P2<.001 P3<.001	W1=5,76, W2=5,58, W3=4,02
Бокаловидные клетки в мерцательном эпителии/мм ²	3,00 (2,00;4,00)	33,0 (2,00;4,00) P1<.001	25,00 (22,00;27,00) P2<.001 P3=0,06	W1=6,36, W2=5,54, W3=-3,21
Общее число клеток/мм ²	25,00 (18,00;34,0)	225,00 (205,00;274,00) P1<.001	316,00 (294,00;447,00) P2<.001 P3<.001	W1=6,35, W2=5,53, W3=4,60
A4.IL-4 (pg/ml)	5,66 (2,32;7,95)	13,50 (9,25;18,70) P1<.001	53,40 (24,40;65,10) P2<.001 P3<.001	W1=5,06, W2=5,58, W3=4,93
IL-6(pg/ml)	5,85 (5,76;6,56)	16,40 (12,30;19,50) P1<.001	100,00 (82,80;161,00) P2<.001 P3<.001	W1=5,96, W2=5,53, W3=5,19
A4.IL-4 polip (pg/mg)	0,83 (0,79; 0,94)	3,24 (2,75; 9,78) P1<.001	13,00(11,30; 15,10) P2<.001 P3=0,07	W1=6,35, W2=5,53, W3=3,16
IL-6 polip (pg/mg)	1,70 (1,00; 2,00)	9,14 (3,88; 10,70) P1<.001	27,60 (26,00; 230,50) P2<.001 P3<.001	W1=6,35, W2=5,52, W3=5,27

Примечание. P1, P2 – уровень значимости по сравнению с группой контроля для 2 и 3 групп соответственно, P3 – по сравнению с пациентами, имеющими и не имеющими аллергологический анамнез.

В ткани полипов наибольшее общее число клеток было зафиксировано во второй группе и составило 225 ед./мм², наименьшее в группе контроля – 25 ед. /мм². Число бокаловидных клеток было максимальным во второй группе и составило 33 ед./мм², в 1 группе – 3 ед./мм², во 3 группе – 25 ед./мм². Численность плазмоцитов была максимальна в 3 группе.

Количество эозинофилов преобладало в полипозной ткани у пациентов 3 группы и составляло 203 ед./мм², наименьшая величина эозинофильной инфильтрации была определена в группе контроля. Во второй группе данный показатель составил 34 клеток на мм², что меньше в 6 раз показателей второй группы без аллергологического анамнеза.

Минимально лимфоцитарная инфильтрация была выражена у пациентов из группы контроля, максимально у пациентов второй группы.

При анализе концентрации цитокинов наименьший уровень IL-4 был определен у пациентов из группы контроля. Максимальный уровень был зафиксирован в группе 3. Уровень IL-6 был максимален в 3 группе и составил 100,00 pg/ml. При анализе концентрации вышеназванных цитокинов в гомогенате тканей полипов получили следующий результат: наименьший уровень IL-4 наблюдался в 1 группе и составил 0,827pg/mg, наибольший в группе 3 и составил 13,00 pg/mg.

Выводы. Исследование показало, что у пациентов с аллергологическим анамнезом количество эозинофилов в ткани полипов в 6 раз выше, чем у пациентов с эозинофильным

типом полипа без аллергического анамнеза. Также при анализе цитокинового статуса в группе пациентов с анамнестическими данными о наличии атопии наблюдаются более высокие значения концентрации IL-4 (разница в 4 раза), IL-6 (разница в 3 раза) как в периферической крови, так и в полипозной ткани, что косвенно говорит о более выраженном течении воспалительного процесса. Эти данные могут быть значимыми при прогнозе ответа на таргетную терапию против IL-4, которая может применяться при эозинофильном типе полипозного риносинусита.

Список литературы:

1. Галигберов А. А. Некоторые морфологические особенности полипозных и полипозно-кистозных изменений слизистой оболочки носа и околоносовых пазух //Бюллетень физиологии и патологии дыхания. – 2008. – №. 28. – С. 50-53.
2. Дементьева М. А., Гумилевская О. П., Гумилевский Б. Ю. Механизмы патогенеза и биологической терапии хронического полипозного риносинусита (обзор литературы) //Вестник новых медицинских технологий. – 2024. – Т. 31. – №. 3. – С. 23-28.
3. Крюков А. И., Туровский А. Б., Сединкин А. А. Диагностика и лечение полипозного синусита //РМЖ. – 2011. – Т. 19. – №. 6. – С. 377-380.
4. Моисеева Ю. П., Пискунов Г. З. Биологическая терапия-новые возможности лечения т2-индуцированного полипозного риносинусита //Фармакология & Фармакотерапия. – 2022. – №. S1. – С. 44-47.
5. Нуриддинов Х. Н. Эндоскопическая картина при полипозном риносинусите //Scientific progress. – 2022. – Т. 3. – №. 4. – С. 42-47.
6. Bachert C. et al. Efficacy and safety of dupilumab in patients with severe chronic rhinosinusitis with nasal polyps (LIBERTY NP SINUS-24 and LIBERTY NP SINUS-52): results from two multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled, parallel-group phase 3 trials //The Lancet. – 2019. – Т. 394. – №. 10209. – С. 1638-1650.
7. Gelardi M. et al. Allergic and non-allergic rhinitis: relationship with nasal polyposis, asthma and family history //Acta Otorhinolaryngologica Italica. – 2014. – Т. 34. – №. 1. – С. 36.
8. Jeong W. J. et al. Eosinophilic allergic polyp: a clinically oriented concept of nasal polyp // Otolaryngology--Head and Neck Surgery. – 2011. – Т. 144. – №. 2. – С. 241-246.
9. Toro M. D. C. et al. Achieving the best method to classify Eosinophilic Chronic Rhinosinusitis: a systematic review //Rhinology. – 2021. – Т. 59. – №. 4. – С. 330-339.

УДК 616.211 – 006.5 –092.036 – 07

Иванов М.О., Егорова Е.В., Фефелова Е.В., Цыбиков Н.Н.

АНАЛИЗ ФАКТОРОВ РИСКА РАЗВИТИЯ ПОЛИПОЗНОГО РИНОСИНУСИТА ФГБОУ ВО Читинская государственная медицинская академия, Чита, России

***Резюме.** Целью исследования явилось определение наиболее значимых факторов риска развития полипозного риносинусита у больных хроническим гнойным риносинуситом с использованием многофакторного регрессионного анализа.*

Показано, что высокой прогностической значимостью развития полипоза слизистой

носа у больных гнойным риносинуситом имеют концентрации белка теплового шока 70, интерлейкина 10 и содержание HAD 1-3 в сыворотке крови. Набор этих тестов позволяет предсказать в 99 % развитие хронического полипозного риносинусита.

Ключевые слова: хронический полипозный риносинусит, цитокины, дефензины, белки теплового шока, регрессионный анализ.

Ivanov M.O., Egorova E.V., Fefelova E.V., Tsybikov N.N.

MULTIVARIATE REGRESSION ANALYSIS OF RISK FACTORS FOR THE DEVELOPMENT OF POLYPOSIS RHINOSINUSITIS

Chita State Medical Academy, Chita, Russia

Summary. *The aim of the study was to determine the most significant risk factors for the development of polyposis rhinosinusitis in patients with chronic purulent rhinosinusitis using multivariate regression analysis.*

Using the method of binary logistic regression we have shown that the concentrations of heat shock protein 70, interleukin 10 and HAD 1-3 in serum have a high prognostic significance for the development of nasal polyposis in patients with purulent rhinosinusitis. A set of these tests allows to predict in 99 % the development of chronic polyposis rhinosinusitis.

Key words: *chronic polyposis rhinosinusitis, cytokines, defensins, heat shock proteins, regression analysis.*

Хронический риносинусит с полипами носа (ХГПРС) относится к группе хронических рецидивирующих воспалительных заболеваний слизистой оболочки носа и околоносовых пазух и связан с ремоделированием тканей, дисфункцией естественных защитных механизмов пазух, индукцией различных воспалительных кластеров. Симптомы болезни обусловлены двусторонним и мультифокальным развитием полипов и включают в себя – заложенность носа, гипосмию, выделения, лицевую боль или давление, которые продолжаются не менее 3 месяцев и вызывают существенное ухудшение качества жизни [1]. Этиопатогенез ХГПРС остается неясным. Считается, что определенную роль играют такие факторы, как бактериальные биопленки и общее состояние организма человека. Несмотря на значительные достижения медицины, некоторые пациенты с ХГПРС страдают от резистентного заболевания, которое не поддается медикаментозному и хирургическому лечению. У этих пациентов часто наблюдаются полипы носа с тканевой эозинофилией, биопленкой слизистой оболочки с преобладанием *S. aureus*, сопутствующей астмой и серьезно сниженным качеством жизни [2].

Типичная гистологическая особенность полипов носа включает иммуновоспаление, обусловленное Т-хелперами 2 типа (Th2) и сопровождающееся утолщением базальной мембраны, гиперплазией эпителия, фиброзом слизистой оболочки. Полип состоит из Т- и В-лимфоцитов, врожденных лимфоидных клеток 2-й группы (ILC2), эозинофилов и нейтрофилов, тучных клеток и макрофагов, эпителиальных клеток, фибробластов. Цитокины, продуцируемые этими клетками, являясь ключевыми факторами, модулирующими межклеточную связь иммунологических реакций, развития кроветворения, ответ организма на инфекционные агенты и белки теплового

шока, играют одну из центральных ролей в патогенезе изучаемого страдания [3-4]. Th2 опосредуют активацию и поддержание гуморального иммунного ответа против внеклеточных паразитов, бактерий, аллергенов и токсинов, секретируя IL-4, IL-5, IL-9 и IL-13 и усиливая выработку иммуноглобулинов (Ig) и аутоантител к ним [5], активируя эозинофилы и противодействуя активации Th1. При этом IL-4 и IL-13 секретируются не только Th2-лимфоцитами, но и ILC2, эозинофилами, базофилами, естественными киллерами, тучными клетками [6].

Однако, кроме вышеописанного эндотипа полипа существуют еще незозинофильная инфильтрация полипов, где в формировании полипозной ткани участвуют нейтрофилы и Т-хелперы 17 типа (Th17), или Th22 [7].

Кроме адаптивного звена иммунной системы у больных с ХГПРС наблюдается активация врожденного звена иммунной системы – макрофагов, нейтрофилов, мукоцилиарного клиренса и антимикробных белков [8].

Антимикробные пептиды (АМП) представляют собой класс низкомолекулярных пептидов, обычно состоящих из 12-50 аминокислотных остатков [9]. Они являются важными эффекторами врожденной иммунной системы и первой линией защиты от патогенной инфекции [10]. У позвоночных организмов их можно обнаружить в лейкоцитах и поверхностных эпителиальных клетках в таких местах, как ротоглоточная область, легкие и полость носа. Дефензины и кателицидины представляют собой обычные группы антимикробных пептидов, обнаруживаемые у позвоночных [11].

Патофизиологические концепции участия воспалительных цитокинов в развитии ХГПРС развиваются. Хотя центральное место окружения цитокинов Th2, связанное с эозинофильной инфильтрацией, сохраняет центральную роль в генезе полипов, недавно была подчеркнута роль других субпопуляций цитокинов – IL-1 и TNF- α , участвующих на ранних стадиях воспалительного каскада и, помимо цитокинов Th2, обеспечивающих рекрутирование иммунокомпетентных клеток. IL-6 и онкостатин М играют важную роль в ремоделировании тканей, особенно в изменении проницаемости эпителиального барьера и фиброзе. Ингибируя выработку воспалительных цитокинов, связанных с патогеном, IL-10 способствует поддержанию воспаления. В противном случае TGF- β является центральным профиброзным фактором в прогрессировании ХГПРС. В совокупности эти воспалительные цитокины усиливают микроокружение Th2, что приводит к специфической, сложной и до конца не изученной реакции клеток при ХГПРС.

Материалы и методы исследования.

В исследование включены 80 пациентов с диагнозом хронический риносинусит различной этиологии, находившихся на лечении в оториноларингологическом отделении ЧУЗ «Клиническая больница «РЖД-Медицина» города Чита» с 2016 по 2020 гг. Средний возраст обследуемых составил $30 \pm 5,1$ лет, из них мужчин было 51,4% человека, женщин 48,6%. Пациенты были разделены на 2 группы, согласно нозологической форме заболевания: 1 группа – 40 человек с хроническим гнойным риносинуситом; 2 группа – 40 человек с хроническим гнойно-полипозным риносинуситом. Группа контроля составили 20 здоровых добровольцев сопоставимых по полу и возрасту с группами исследования. На участие в исследование было получено информированное согласие всех пациентов, а также разрешение Локального этического комитета при ФГБОУ ВО «Читинская

государственная медицинская академия» (№ 81 от 28. 10.2016).

Критерием включения в исследование являлся диагноз хронический риносинусит (воспаление слизистой оболочки ОНП и полости носа длительностью более 12 недель, сопровождающееся двумя или более симптомами, одним из которых является затруднение носового дыхания или выделения из носа). На момент взятия крови все пациенты не применяли никакой медикаментозной терапии сроком не менее 1 месяца.

Критериями исключения из исследования были: наличие у пациента различных тяжелых инфекционных процессов, наличие кист в околоносовых пазухах, возраст младше 25 и старше 35 лет. Также критерием исключения были заболевания крови (гемобластозы, гемофилии, тромбофилии, тромбоцитопеническая пурпура), болезни эндокринной системы (сахарный диабет, гипотиреоз/тиреотоксикоз, патология надпочечников), нарушения сердечного ритма (хроническая форма фибрилляции предсердий, желудочковая экстрасистолия), хроническая почечная недостаточность, хроническая печеночная недостаточность, воспалительные заболевания (острые и хронические в стадии обострения), хронический алкоголизм, тяжелые желудочковые нарушения ритма, фибрилляции предсердий, иммунодефицит в анамнезе.

Всем обследуемым проведен комплекс общеклинических исследований, бактериологический анализ, эндоскопический осмотр, определяли уровни цитокинов (ИЛ-1 β , ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10 в сыворотке крови и назальном секрете производили иммуноферментным методом с использованием коммерческих наборов реагентов ТОО «Протеиновый контур-тест» (г. Санкт-Петербург)), ЛКБ (НАД 1-3) (набор Nuscult biotech), уровень белка теплового шока (HSP 70) и Ат к нему в сыворотке крови и назальном секрете (методом ИФА, применяя наборы реактивов Enzo Life Science (США)), коагуляционную активность назального секрета оценивали на аппарате АСКа 2-01-"Астра".

Для анализа факторов риска развития полипозного риносинусита мы использовали математическую модель множественной логистической регрессии, позволяющую описать взаимосвязи в многомерном пространстве и построить статистическую модель прогноза вероятности развития осложнений [12]. Окончательная модель при ее построении имела максимальную статистическую достоверность.

Полученные результаты.

Задачей нашего исследования было проведение многофакторного регрессионного анализа и определение наиболее значимых факторов, играющих роль в формировании полипов носа. Согласно данным, полипоз сопровождается больных хроническим гнойным риносинуситом, респираторные заболевания, обостряемыми приемом аспирина, некоторыми системными васкулитами и муковисцидозом [13-14].

Для выделения факторов, ответственных за развитие полипозного риносинусита нами в качестве переменных данных использовались клинические маркеры риносинуситов, уровни ИЛ-1 β , ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10, HSP 70, НАД 1-3 аутоантител к ним в сыворотке крови и назальном секрете, показатели коагулограммы назального секрета.

В результате пошаговой регрессии было подобран оптимальный набор независимых предикторов развития полипозного риносинусита у больных, страдающих хроническим гнойным риносинуситом, сочетание которых объясняет практически 80% всей выборки

(R2=0,787).

В качестве прогностических коэффициентов были отобраны такие переменные, как уровень белков теплового шока 70, интерлейкин 10 и содержание HAD 1-3 в сыворотке крови.

Концентрация HSP 70 ($\beta=3,09$; $p=0,006$) и содержание ИЛ-10 ($\beta=2,04$; $p=0,019$) как предикторов имели высокий бета коэффициент и уровень значимости, поэтому были включены в построение математической модели.

Далее, нами из полученных данных было построено уравнение множественной регрессии (Формула №1)

$$A = -55,117 + (3,0982 * \text{HSP 70}) + (2,0379 * \text{ИЛ-10}) + (0,0417 * \text{HAD 1-3})$$

Формула №1. Уравнение множественной линейной регрессии развития полипозного риносинусита у больных, страдающих хроническим гнойным риносинуситом.

A – формирование полипов; HSP 70 – Уровень HSP 70 в сыворотке крови (мкг/мл); ИЛ-10 – уровень ИЛ-10 в сыворотке крови (пг/мл); HAD 1-3 – содержание α -дефензимов (нг/мл).

Для подсчета вероятности формирования полипов слизистой носа использовалось уравнение логит-преобразования, результатом которого и будет являться значение, располагающееся в интервале от 0 до 1. (Формула №2)

$$P = \frac{1}{1 + e^A}$$

Формула №2. Логит-преобразование. P - вероятность того, что разовьётся полипозный риносинусит; e - основание натуральных логарифмов 2,7; A – уравнение множественной линейной регрессии.

После создания формулы нами была произведена проверка эффективности модели и найдено пороговое значение вероятности. Значение отсечки является числом, расположенным в месте перекреста максимального числа истинно положительных (90%) и истинно отрицательных значений (85%). Для данной модели оно составило 0,5. Следовательно, если значение P будет больше значения отсечки, то можно сказать, что у пациента с хроническим гнойным риносинуситом разовьётся полипозный риносинусит.

С помощью применения метода бинарной логистической регрессии нами было показано, что высокой прогностической значимостью развития полипоза слизистой носа у больных гнойным риносинуситом имеют концентрации белка теплового шока 70, интерлейкина 10 и содержание HAD 1-3 в сыворотке крови. Набор этих тестов позволяет предсказать в 99 % развитие хронического полипозного риносинусита.

Нами уже были предприняты попытки определить биомаркеры развития хронического полипозного риносинусита [15]. Однако, в 2016 году мы проводили только корреляционный анализ взаимосвязи показателей. Проведение многофакторного анализа позволило более точно выделить факторы, ответственные за развитие полипозного риносинусита. Так, согласно отношению шансов, рост концентрации белков-шаперонов на 1 мкг/мл в сыворотке крови увеличивает риск развития полипов в 22 раза, а концентрации ИЛ-10 на 1 пг/мл – более, чем в 7 раз.

Таким образом, по данным проведенного многофакторного регрессионного анализа наиболее значимыми факторами развития хронического полипозного риносинусита являются уровни HSP70, ИЛ-10 и HAD 1-3 в сыворотке крови.

Список литературы:

1. Amirapu S, Biswas K, Radcliff FJ, Wagner Mackenzie B, Ball S, Douglas RG. Sinonasal Tissue Remodelling during Chronic Rhinosinusitis. *Int J Otolaryngol.* 2021. 2021. C.7428955. doi: 10.1155/2021/7428955.
2. Shaghayegh G, Cooksley C, Ramezanpour M, Wormald PJ, Psaltis AJ, Vreugde S. Chronic Rhinosinusitis, S. aureus Biofilm and Secreted Products, Inflammatory Responses, and Disease Severity. *Biomedicines.* 2022. № 10(6). C.1362. doi: 10.3390/biomedicines10061362.
3. Carsuzaa F, Béquignon É, Dufour X, de Bonnecaze G, Lecron JC, Favot L. Cytokine Signature and Involvement in Chronic Rhinosinusitis with Nasal Polyps. *Int J Mol Sci.* 2021. №23(1). C. 417. doi: 10.3390/ijms23010417.
4. Tsybikov N.N., Egorova E.V., Fefelova E.V., Kuznik B.I., Magen E. Heat shock protein 70 and anti-heat shock protein 70 antibodies in nasal secretions of patients with chronic rhinosinusitis // *Allergy and Rhinology.* 2016. Т. 7. № 1. С. null. doi: 10.2500/ar.2016.7.0149
5. Tsybikov N.N., Kuznik B.I., Egorova E.V., Fefelova E.V., Magen E. Anticytokine autoantibodies in chronic rhinosinusitis // *Allergy and Asthma Proceedings.* 2015. Т. 36. № 6. С. 473-480. doi: 10.2500/aap.2015.36.3880
6. Jonstam K, Alsharif S, Bogaert S, Suchonos N, Holtappels G, Jae-Hyun Park J, Bachert C. Extent of inflammation in severe nasal polyposis and effect of sinus surgery on inflammation. *Allergy.* 2021. №76(3). C.933-936. doi: 10.1111/all.14550.
7. Ishikawa C, Takeno S, Okamoto Y, Kawasumi T, Kakimoto T, Takemoto K, Nishida M, Ishino T, Hamamoto T, Ueda T, Tanaka A. Oncostatin M's Involvement in the Pathogenesis of Chronic Rhinosinusitis: Focus on Type 1 and 2 Inflammation. *Biomedicines.* 2023. №11(12). C.3224. doi: 10.3390/biomedicines11123224.
8. Viksne, R.J.; Sumeraga, G.; Pilmane, M. Antimicrobial and Defense Proteins in Chronic Rhinosinusitis with Nasal Polyps. *Medicina.* 2023. № 59. С. 1259. doi: 10.3390/medicina59071259
9. Lazzaro BP, Zasloff M, Rolff J. Antimicrobial peptides: Application informed by evolution. *Science.* 2020. Т. 1, №368(6490). C.5480. doi: 10.1126/science.aau5480.
10. Santacroce L, Topi S, Charitos IA, Lovero R, Luperto P, Palmirotta R, Jirillo E. Current Views about the Inflammatory Damage Triggered by Bacterial Superantigens and Experimental Attempts to Neutralize Superantigen-Mediated Toxic Effects with Natural and Biological Products. *Pathophysiology.* 2024. № 31(1). C.18-31. doi: 10.3390/pathophysiology31010002.
11. Kumar P, Kizhakkedathu JN, Straus SK. Antimicrobial Peptides: Diversity, Mechanism of Action and Strategies to Improve the Activity and Biocompatibility In Vivo. *Biomolecules.* 2018. № 8(1). C.4. doi: 10.3390/biom8010004.
12. Мудров В.А. Алгоритм применения гос-анализа в биомедицинских исследованиях с помощью пакета программ SPSS// *ЭНИ Забайкальский медицинский вестник.* 2021. № 1. С.148-153. doi: 10.52485/19986173_2021_1_148

13. Nazari J, Shahba F, Jafariaghdam N, Mohebbi S, Arshi S, Bemanian MH, Fallahpour M, Shokri S, Atashrazm F, Amini S, Roomiani M, Jamee M, Babaheidarian P, Khoshmirsafa M, Nabavi M. Immune endotyping and gene expression profile of patients with chronic rhinosinusitis with nasal polyps in the aspirin-exacerbated respiratory disease (AERD) and the non-AERD subgroups. *Allergy Asthma Clin Immunol.* 2024.. № 20(1). С.14. doi: 10.1186/s13223-024-00876-w.
14. Alnemare AK, Almutairi AB, Almutairi AF, Bin Mahfoz T, Almutairi SB, Alnemare AK, Almjlad RB, Alhumam MN, Alghassab RE. Prevalence of Risk Factors of Chronic Rhinosinusitis With Nasal Polyps Among the Saudi Population. *Cureus.* 2023. № 15(9). С. e45420. doi: 10.7759/cureus.45420.
15. Tsybikov N.N., Egorova E.V., Fefelova E.V., Kuznik B.I., Magen E. Biomarker assessment in chronic rhinitis and chronic rhinosinusitis: endothelin-1, TARC/CCL17, neopterin, and α -defensins. *Allergy and Asthma Proceedings.* 2016. Т. 37. № 1. С. 35-42. doi.org/10.2500/aap.2016.37.3899

УДК: 616-005.1-08-053.2:616.9

Игнатъева А.В., Цыбиков Н.Н.

**СОДЕРЖАНИЕ ОТДЕЛЬНЫХ ФАКТОРОВ СВЕРТЫВАНИЯ КРОВИ И
ФИБРИНОЛИЗА У ДЕТЕЙ, РОДИВШИХСЯ ОТ МАТЕРЕЙ С COVID-19
ФГБОУ ВО Читинская государственная медицинская академия, Чита, Россия**

Резюме. Проведена оценка отдельных факторов свертывания крови и фибринолиза у детей, родившихся от матерей с короновирусной инфекцией. Одним из свойств вируса SARS-CoV-2 является тропность к эндотелию сосудов с развитием эндотелиита и коагулопатии из-за характерных расстройств в системе свертывания крови.

Ключевые слова: дети, COVID-19, гемостаз, оценка свертывания, коагулопатия.

Ignatyeva A.V., Tsybikov N.N.

**THE CONTENT OF INDIVIDUAL BLOOD CLOTTING AND FIBRINOLYSIS
FACTORS IN CHILDREN BORN TO MOTHERS WITH COVID-19
Chita State Medical Academy, Chita, Russia**

Summary. An assessment was made of individual factors of blood coagulation and fibrinolysis in children born to mothers with coronavirus infection. One of the properties of the SARS-CoV-2 virus is its affinity for the vascular endothelium with the development of endothelitis and coagulopathy due to characteristic disorders in the blood coagulation system.

Keywords: children, COVID-19, hemostasis, coagulation assessment, coagulopathy.

Инфекционное заболевание COVID-19, вызываемое коронавирусом SARS-CoV-2 вызвало глобальную пандемию в марте 2020 года.

В настоящее время известно, что вирус SARS-CoV-2 обладает тропностью к эндотелию

сосудов с развитием эндотелиита с последующим возникновением тромбозов в сосудах легких и других органах. [3, 6].

Вирус SARS-CoV-2 использует рецептор ангиотензин-превращающего фермента 2 типа (ACE2) для своего проникновения в клетки [5]. Это приводит к разрушению эндотелиальных и эпителиальных клеток, что, в свою очередь, вызывает высвобождение цитокинов, фактора Виллебранда и ингибитора активации плазминогена 1-го типа. Данные процессы способствуют как воспалению, так и тромбообразованию [1, 4, 8]. Связывание SARS-CoV-2 с ACE2 также инициирует активацию и экспрессию тканевого фактора (TF), что усиливает гемокоагуляционные процессы [1].

На основе множества исследований установлены определенные нарушения свертывающей системы крови, свойственных COVID-19: коагулопатия, характеризующаяся повышенным образованием тромбина и D-димера, сниженной фибринолитической активностью, а также удлинением протромбировавшегося времени [7, 8, 9-11].

При тяжелых формах COVID-19 у детей, как и у взрослых, наблюдаются аналогичные патогенетические нарушения: гипервоспаление, эндотелиит, гиперкоагуляция. Наряду с высоким уровнем биологических маркеров воспаления, характерны значительные изменения параметров гемостаза – высокий уровень фибриногена и D-димера. Кроме того, при мультисистемном воспалительном синдроме у детей отмечается тромбоцитопения, а при ассоциированном с ним гемофагоцитарном синдроме – нарастание D-димера, снижение фибриногена, развитие коагулопатии [2].

В литературе описаны, зарегистрированные случаи заражения COVID-19 у младенцев, рожденных от матерей, инфицированных COVID-19, из них большинство с положительной полимеразной цепной реакцией (ПЦР) COVID-19 не имели симптомов заболевания, либо имели отрицательный ПЦР-тест к COVID-19 [12, 13]. Таким образом, остается актуальным вопрос о способе передачи вируса от матери к плоду и воздействию на новорожденного.

Цель: изучить содержание отдельных факторов свертывания крови и фибринолиза у детей, рожденных от женщин с COVID-19.

Исследование проведено на базе ГУЗ Краевая детская клиническая больница отделения патологии новорожденных и детей раннего возраста и Биохимическая лаборатория диагностической поликлиники Клиники ЧГМА. Определялись следующие параметры отдельных факторов свертывания крови и фибринолиза: фибриноген (Fibrinogen, ng/ml), тканевой фактор (TF, pg/ml), IX фактор свертывания крови (Factor IX, pg/ml), тканевой активатор плазминогена (tPA, pg/ml), ингибитор активации плазминогена 1 типа (PAI-1, pg/ml), D-димер (D-Dimer, pg/ml).

Статистическая обработка полученных данных проводилась с использованием компьютерных программ «Statistica-6.0», Microsoft Excel 2010 с учетом t-теста и использованием Медианы Me [25-75 перцентиль]. Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Обследовано 105 детей, родившихся от матерей с короновирусной инфекцией, средний возраст которых составил $2,0 \pm 0,2$ мес. 1 группу сравнения составили 24 соматически

здоровых пациентов, средний возраст $2,1 \pm 0,4$ мес. В зависимости от наличия антител к SARS-CoV-2 дети, родившихся от матерей с COVID-19: 2 группа 43 пациента - Ig G(+) и 3 группа 62 ребенка - Ig G(-). Проанализированы результаты образцов крови на гемостаз и фибринолиз.

	Контроль n=24	Ig G(+) n=43	Ig G(-) n=62	p	
	Me [25-75]			Ig G(+)-конт	IgG (-)-конт
Fibrinogen (g/l)	0,55 [0,27-0,703]	0,64 [0,49-1,002]	0,78 [0,55-1,058]	0,101	0,009
TF (pg/ml)	147,2 [115,1-174]	159 [119,8-276]	199 [120,8-297]	0,323	0,049
Factor IX (ng/ml)	549,2 [269,7-703,1]	1119,8 [202,7-1230,8]	1155,4 [57,4-128,5]	0,011	0,030
tPA (ng/ml)	0,403 [0,258-0,460]	0,933 [0,618-1,495]	0,798 [0,435-2,172]	0,000	0,000
PAI-1 (ng/ml)	1,49 [1,32-1,68]	58,19 [31,59-130,57]	75,30 [40,58-169,15]	0,000	0,000
D-Dimer (pg/ml)	49,2 [34,7-58]	449 [33,3-821]	482 [275,6-1129]	0,026	0,000

Анализ данных показал увеличение уровней фибриногена и тканевого фактора в группе детей, рожденных от матерей с коронавирусной инфекцией, при этом достоверно выше у детей, не имеющих антитела класса IgG к вирусу COVID-19 (группа детей Ig G(-)). Зарегистрировано увеличение в 2 раза концентрация IX фактора свертывания крови у детей, рожденных от матерей с COVID-19 по сравнению с группой контроля. Рассматривая значения тканевого активатора плазминогена (tPA) и ингибитора плазминогена 1 типа (PAI-1), установлено что данные показатели достоверно выше у детей рожденных от инфицированных матерей. В то время как tPA выше в группе детей с Ig G(+), а PAI-1 у детей Ig G(-). Также отмечается значительное увеличение концентрации Д-димера у детей, рожденных от матерей с коронавирусной инфекцией, с преобладанием этого показателя в группе детей с Ig G(-).

Известно, что тканевой фактор (TF) – гликофосфолипид с молекулярной массой 47 кДт локализуется во всех клетках организма и экспрессируется при повреждении клеток. Доказано, что экспрессии TF сопровождается моментальным образованием комплекса с фактором У11 с последующей активацией и перехода его в F VIIa. Комплекс (TF+ VIIa) активирует переход F X в F Xa, а последний принимает непосредственное участие в формировании протромбиназы по внешнему пути. Как следует из наших данных содержание TF возрастает в группе детей с Ig G(-). Данный сдвиг может свидетельствовать о развитии гиперкоагуляции в этой группе пациентов. Параллельно с указанным сдвигом резко возрастает уровень F IX в обеих группах исследуемых детей. О развитии гиперкоагуляции свидетельствует заметное увеличение D-Dimer, особенно в группе детей с Ig G(-).

Полученные данные позволяют предполагать, что у детей с Ig G(-) в связи с отсутствием антител к вирусу COVID-19 ожидаемое проникновение в небольших количествах

SARS-CoV-2, который повреждает эпителий и эндотелий новорожденного и усиливает экспрессию и секрецию TF. Этот сдвиг является основной причиной гиперкоагуляции в группе детей с Ig G(-). И наоборот, в группе детей Ig G(+) зарегистрированные антитела к вирусу ковида способны блокировать его и тем самым препятствовать его повреждающим эффектам. Поэтому у таких детей в меньшей степени выражена гиперкоагуляция. Следует отметить, что в группе детей с Ig G(-) снижается содержание tPA, но увеличивается уровень PAI по сравнению с группой детей Ig G(+). В целом, эти сдвиги свидетельствуют о развитии гипофибринолиза у пациентов с Ig G(-).

Таким образом у детей, рожденных от матерей с COVID-19 в одном случае обнаруживаются антитела к вирусу ковида, а в другом нет, и в последнем случае регистрируются признаки гиперкоагуляции, обусловленные, возможно, трансплацентарным проникновением вируса в кровотоки младенца, о чем может свидетельствовать развитие более выраженной коагулопатии.

Выводы:

1. У детей, родившихся от матерей с COVID-19, не имеющих антител класса IgG к вирусу ковида, развивается выраженная гиперкоагуляция и гипофибринолиз, по сравнению с новорожденными, имеющие антитела к вирусу COVID-19.

Список литературы:

1. Галстян Г. М. Коагулопатия при COVID-19. Пульмонология. 2020;30 (5):645–657. doi.org / 10.18093 / 0869-0189-2020-30-5-645-657.
2. Гомелля М.В., Татарина А.В., Крупская Т.С., Рычкова Л.В. Особенности нарушений системы гемостаза при COVID-19 у детей (обзор литературы). Acta Biomedica Scientifica Pediatrics. 2021, Vol. 6, №3142
3. Коган Е. А., Березовский Ю. С., Проценко Д. Д., Багдасарян Т. Р., Грецов Е. М., Демура С. А., и др. Патологическая анатомия инфекции, вызванной SARS-COV-2. Судебная медицина. 2020;6 (2):8–30. doi.org/10.19048/2411-8729-2020-6-2-8-30
4. Кузник Б. И., Хавинсон В. Х., Линькова Н. С. COVID-19: влияние на иммунитет, систему гемостаза и возможные пути коррекции. Успехи физиологических наук. 2020; 51 (4): 51–63. doi.org / 10.31857 / S0301179820040037
5. Намазова-Баранова Л. С., Баранов А. А. COVID-19 и дети. Пульмонология. 2020; 30 (5): 609–628. doi.org / 10.18093 / 0869-0189-2020-30-5-609-628
6. Ackermann M, Verleden SE, Kuehnel M, Haverich A, Welte T, Laenger F, et al. Pulmonary vascular endothelialitis, thrombosis, and angiogenesis in Covid-19. N Engl J Med. 2020;383:120–128. doi.org / 10.1056 / NEJMoa2015432
7. Heinz C, Miesbach W, Herrmann E, Sonntagbauer M, Raimann F, Zacharowski K, et al. Greater Fibrinolysis Resistance but No Greater Platelet Aggregation in Critically Ill COVID-19 Patients. Anesthesiology. 2021;134 (3):457–467. doi.org / 10.1097 / ALN.0000000000003685
8. Mitchell WB. Thromboinflammation in COVID-19 acute lung injury. Paediatr Respir Rev. 2020;35:20–24. doi.org/ 10.1016 / j.prrv. 2020.06.004
9. Schramm W, Seitz R, Gürtler L. COVID-19-associated coagulopathy – Hypothesis: Are Children protected due to enhanced thrombin inhibition by higher α 2-Macroglobulin (α

- 2-M)? J Thromb Haemost. 2020;18 (9):2416–2418. doi.org / 10.1111 / JTH. 15013
10. Tang N, Bai H, Chen X, Gong J, Li D, Sun Z. Anticoagulant treatment is associated with decreased mortality in severe coronavirus disease 2019 patients with coagulopathy. J Thromb Haemost. 2020;18:1094–1099. doi.org / 10.1111 / jth. 14817
11. Tang N, Li D, Wang X, Sun Z. Abnormal coagulation parameters are associated with poor prognosis in patients with novel coronavirus pneumonia. J Thromb Haemost. 2020; 18 (4):844–7. doi.org / 10.1111 / jth. 14768
12. Villar J., Ariff S., Gunier R.B., et al. Covid-19 in pregnancy is associated with substantially higher maternal morbidity, mortality, preterm birth and severe neonatal complications: The INTERCOVID multinational study. // JAMA Pediatrics. Forthcoming. - 2021. - Apr 22. e211050. doi: 10.1001/jamapediatrics.2021.1050.
13. Zaigham M., Holmberg A., Karlberg M.L., Lindsjö O.K., Jokubkiene L., Sandblom J., Strand A.S., Andersson O., Hansson S.R., Nord D.G., Tannenberг P. Intrauterine vertical SARS-CoV-2 infection: a case confirming transplacental transmission followed by divergence of the viral genome <https://doi.org/10.1111/1471-0528.16682>.

УДК 618.39

Казумова А. Б.

**КОРРЕКЦИЯ КОАГУЛОПАТИЙ, ОБУСЛАВЛИВАЮЩИХ ОСЛОЖНЕНИЯ
БЕРЕМЕННОСТИ**

***ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России
(Сеченовский Университет)***

***Резюме.** 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, серонегативного варианта антифосфолипидного синдрома. В этом обзоре будут выделены текущие тенденции ведения пациенток, страдающих репродуктивной недостаточностью в ассоциации с некритериальным антифосфолипидным синдромом, и охарактеризованы современные группы фармакологических препаратов выбора. Фактическое лечение первой линии ограничено 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 антифосфолипидным синдромом. Беременность с некритериальным антифосфолипидным синдромом должна быть основной областью акушерских исследований, необходимы дальнейшие разработки в этой области для формирования лучших терапевтических возможностей в будущем.*

***Ключевые слова:** некритериальный антифосфолипидный синдром, акушерские проявления антифосфолипидного синдрома, аспирин, гепарин, ограничение роста плода.*

CORRECTION OF COAGULOPATHY CAUSING PREGNANCY COMPLICATIONS
*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)*

***Abstract.** In the last decade, more and more studies have reported the presence of a seronegative variant of antiphospholipid syndrome in patients suffering from complications of pregnancy and childbirth such as repeated fetal loss, stillbirth, intrauterine growth retardation and preeclampsia. This review will highlight current trends in the management of patients suffering from reproductive insufficiency in association with non-critical antiphospholipid syndrome and characterize modern groups of pharmacological drugs of choice. The actual first-line treatment is limited and still unsuccessful in 30% of cases. The correct therapy strategy for patients with an increased risk of miscarriage and a focus on the prevention of adverse outcomes contribute to reducing the incidence of maternal and perinatal morbidity and mortality due to antiphospholipid syndrome. Pregnancy with non-critical antiphospholipid syndrome should be the main area of obstetric research, further developments in this area are needed to form better therapeutic opportunities in the future.*

***Key words:** non-criteria antiphospholipid syndrome, obstetric manifestations of antiphospholipid syndrome, aspirin, heparin, fetal growth restriction.*

Антифосфолипидный синдром (APS) – это системное аутоиммунное заболевание, характеризующееся рецидивирующими тромботическими и/или акушерскими осложнениями, связанными с наличием антифосфолипидных антител (aPL) [1].

Диагностика APS требует, как клинических, так и серологических критериев. В настоящее время в критерии лабораторной классификации aPL включены волчаночный антикоагулянт (LA), антикардиолипиновые антитела (aCL) и анти- β 2-гликопротеин 1 (a β 2-GPI). Различные типы aPL могут присутствовать в определенной совокупности и связаны с клинически специфическими осложнениями [2].

Именно некритериальный серонегативный вариант APS наиболее распространен и сам по себе является одной из частых причин невозможности забеременеть, поэтому становится очевидным, что растет интерес к пониманию механизмов развития некритериального APS и стратегий его лечения, а также профилактики осложнений [2].

За последние годы накопилось много данных о пользе и вреде различных фармакологических вмешательств у беременных женщин с акушерским APS. Во время лечения должна наблюдаться значительная и продолжительная стабилизация свертывающего потенциала крови за счет плазменного и тромбоцитарного звеньев гемостаза, при этом будет снижаться активность процессов внутрисосудистого свертывания и активность аутоиммунных процессов у беременных с APS, что позволяет пролонгировать беременность.

На сегодняшний день стратегии лечения для предотвращения связанных с APS акушерских осложнений в основном основаны на вазоактивных методах лечения, таких как антитромбоцитарная и /или антикоагулянтная терапия [а именно, низкие дозы

аспирина (LDA) и /или нефракционированный гепарин (UFH) или низкомолекулярный гепарин (LMWH)], а также на средствах с иммуномодулирующим действием, таких как гидроксихлорохин (HCQ) и кортикостероиды. Несмотря на множество данных, подтверждающих использование различных терапевтических вариантов для профилактики акушерских осложнений, связанных с APS, не существует единого мнения о роли фармакологических вмешательств для профилактики задержки роста плода (FGR) у беременных женщин с APS, а применение LDA и/или LMWH все еще обсуждается среди клиницистов. Действительно, получить четкие доказательства, подтверждающие преимущество одного метода лечения над другим, мешает ограниченное количество исследований с небольшим размером выборки и множество (часто противоречивых) данных из разнородного клинического опыта [3, 4]. Тем не менее, новые препараты и терапевтические стратегии проходят испытания, и некоторые из них были признаны эффективными для первичной и вторичной профилактики осложнений при антифосфолипидном синдроме.

Согласно текущим рекомендациям Европейской лиги по борьбе с ревматизмом (EULAR), беременным женщинам с критерияльным или некритерияльным акушерским APS рекомендуется лечение LDA или LDA плюс гепарин в профилактической дозировке [5].

У женщин с доказанным некритерияльным акушерским APS с рецидивирующими осложнениями беременности, несмотря на использование LDA и LMWH в профилактической дозировке, может быть рассмотрено увеличение дозы гепарина до терапевтической дозы или добавление HCQ или низких доз кортикостероидов [6].

У беременных с APS, плохо контролируемых этими методами лечения, все больше литературных данных указывают на перспективные альтернативные фармакологические подходы, включая использование внутривенных иммуноглобулинов (IVIg) или плазмафереза [7].

Рассматривая антикоагулянтные средства, необходимо охарактеризовать аспирин. В основе механизма антиагрегантного действия ацетилсалициловой кислоты лежит необратимое ингибирование циклооксигеназы (ЦОГ-1), в результате чего блокируется синтез тромбксана A₂ и подавляется агрегация тромбоцитов [6].

Выводы и заключение. Терапевтическая схема должна включать как стандартную медикаментозную терапию, так и адекватную стратификацию риска по разным факторам и коррекцию терапии. Данный подход мог бы помочь качественнее спланировать будущие беременности. В этом смысле разработка специальной оценки беременности могла бы способствовать более эффективному ведению этих пациенток и индивидуализации их лечения.

Список литературы:

1. M.L. Bertolaccini. 14th International Congress on Antiphospholipid Antibodies Task Force. Report on antiphospholipid syndrome laboratory diagnostics and trends // *Autoimmun Rev.* – 2014. – 13. - 9. -С. 917-930.
2. G.P. Pires da Rosa. “Non-Criteria” Antiphospholipid Syndrome: A Nomenclature Proposal // *Autoimmun. Rev.* – 2020. – 19. – С. 102-689.

3. J.E. Alijotas-Reig J. Comparative Study of Obstetric Antiphospholipid Syndrome (OAPS) and Non-Criteria Obstetric APS (NC-OAPS): Report of 1640 Cases from the EUROAPS Registry // Rheumatology. – 2020. – 59. – С. 1306–1314.
4. G.R. de Jesus et al. 14th International Congress on Antiphospholipid Antibodies Task Force report on obstetric antiphospholipid syndrome. Autoimmun // Rev. - 2014. – 13(8). - С. 795–813.
5. D.M Cohn, M.S. Goddijn, M. Recurrent Miscarriage and Antiphospholipid Antibodies: Prognosis of Subsequent Pregnancy // J. Thromb. Haemost. – 2010. – 8. - С. 2208–2213.
6. A.C. Spinillo, C.D. Bellingeri. The Impact of Various Entities of Antiphospholipid Antibodies Positivity on Adverse Pregnancy Outcome. An Epidemiological Perspective // J. Reprod. Immunol. – 2021. – 145. С. 103-304.
7. M.A. Mirhelen. The relevance of “non-criteria” clinical manifestations of antiphospholipid syndrome: 14th International Congress on Antiphospholipid Antibodies Technical Task Force Report on Antiphospholipid Syndrome Clinical Features // Autoimmunity Reviews. – 2015. – 14(5). – С. 401-414.

УДК: 616.927-022

¹Кахиани К.Б., ^{1,2,3,4}Арефьева Н.А., ¹Джигоев Ю.П., ¹Борисенко А.Ю.,
^{1,2}Эрдынеев С.В., ^{4,5}Букин Ю.С., ¹Антипин Д.А., ¹Карноухова О.Г., ¹Семинский М.Ж.

**IN SILICO ПОИСК И СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ РАЗНООБРАЗИЯ
СТРУКТУР G-КВАДРУПЛЕКСОВ В ГЕНАХ CAS БЕЛКОВ SALMONELLA
ENTERICA**

¹*ФГБОУ ВО Иркутский государственный медицинский университет, Иркутск,
Россия*

²*ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции
человека», Иркутск, Россия*

³*ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири
и Дальнего Востока», Иркутск, Россия*

⁴*ФГБОУ ВО Иркутский государственный университет, Иркутск, Россия*

⁵*Лимнологический институт СО РАН, Иркутск, Россия*

***Резюме.** G-квадруплексы (G4) представляют собой неканонические вторичные структуры ДНК и играют важную роль в регуляции экспрессии генов и репарации ДНК. Они были обнаружены в геномах бактерий и архей. G4 учувствуют в формировании изменчивости, патогенности, антибиотико- и фагоустойчивости бактерий. Также они участвуют в процессах регуляции экспрессии генов cas белков в CRISPR/Cas системах бактерий. В данной работе поиск и анализ G4 структур проводили методами геномики и биоинформатики в генах Cas белков CRISPR/Cas систем Salmonella enterica. Объектами исследования были три ее серовара: S. Typhimurium, S. Infantis, S. Enteritidis.*

***Ключевые слова:** G4, программные методы биоинформатики, гены cas белков, серовары S. enterica: S. Typhimurium, S. Infantis, S. Enteritidis.*

¹Kakhiani K.B., ^{1,2,3,4}Arefieva N.A., ¹Dzhioev Yu.P., ¹Borisenko A.Yu., ^{1,2}Erdyneev S.V.,
^{4,5}Bukin Yu.S., ¹Antipin D.A., ¹Karnoukhova O.G., ¹Seminsky M.Zh.

IN SILICO SEARCH AND COMPARATIVE ANALYSIS OF THE DIVERSITY OF G-QUADRUPLEXES STRUCTURES IN SALMONELLA ENTERICA CAS PROTEIN GENES

Abstract. *G-quadruplexes (G4) are non-canonical secondary structures of DNA and play an important role in the regulation of gene expression and DNA repair. They were found in the genomes of bacteria and archaea. G4 are involved in the formation of variability, pathogenicity, antibiotic and phage resistance of bacteria. They are also involved in the processes of regulating the expression of cas protein genes in the CRISPR/Cas systems of bacteria. In this work, the search and analysis of G4 structures were carried out using genomics and bioinformatics methods in the Cas protein genes of the CRISPR/Cas systems of Salmonella enterica. The objects of the study were its three serovars: S. Typhimurium, S. Infantis, S. Enteritidis.*

Key words: *G4, software methods of bioinformatics, genes of cas proteins, serovars of S. enterica: S. Typhimurium, S. Infantis, S. Enteritidis.*

Введение. G-квадруплексы (G4)-это четырех-цепочечные неканонические структуры, образующийся в богатых гуанином участках структуры ДНК или РНК (рис.1). За последние два десятилетия биологи и биоинформатики обнаружили существенные доказательства, подтверждающие роль G4 как важных медиаторов биологических процессов. Они были обнаружены во всех доменах жизни и участвуют в процессах репликации, транскрипции, трансляции и рекомбинации. Сегодня уже существуют сотни депонированных атомных структур G4 в ДНК и РНК, которые позволяют использовать подходы скрининга лекарств in silico для разработки новых стабилизирующих лигандов [1]. Также G4 функционируют при различных заболеваниях, особенно при онкологических, старении, неврологических и инфекционных и считаются новыми перспективными целями для разработки против них лекарств [2,3].

Salmonella enterica глобальный пищевой патоген. Род *Salmonella* - это граммотрицательные бактерии, состоящие из двух видов: *S. bongori* и *S. enterica*. *S. bongori* в основном встречается у хладнокровных животных. Вид *S. enterica* состоит из более 2500 сероваров, 99% которых могут вызывать сальмонеллез у животных и людей [4]. Последние глобальные данные указывают на постоянное возникновение новых сероваров *S. enterica*. Поэтому, они служат резервуарами для будущего заражения и распространения сальмонелл через зараженное ими молоко, мясо, яйца и другие пищевые продукты [5,6]. Известно, что многие серовары *S. enterica* приобрели множественную лекарственную устойчивость (МЛУ) к современным антибактериальным препаратам антибиотикам [7]. Поэтому, встала необходимость разработки новых подходов для профилактики и лечения вызываемых ими заболеваниями. Одним из важных инструментов подавления роста патогенов с МЛУ могут стать регуляторные структуры экспрессии генов в бактериях- G-квадруплексы (G4) (рис.1) [8]. Они являются вероятными мишенями для связывающих G4 малых молекул-лигандов, что в случае промоторных G4 привело бы к транскрипционной регуляции этих

генов. Также, G4 являются лекарственной мишенью для предотвращения заражения несколькими человеческими патогенами.

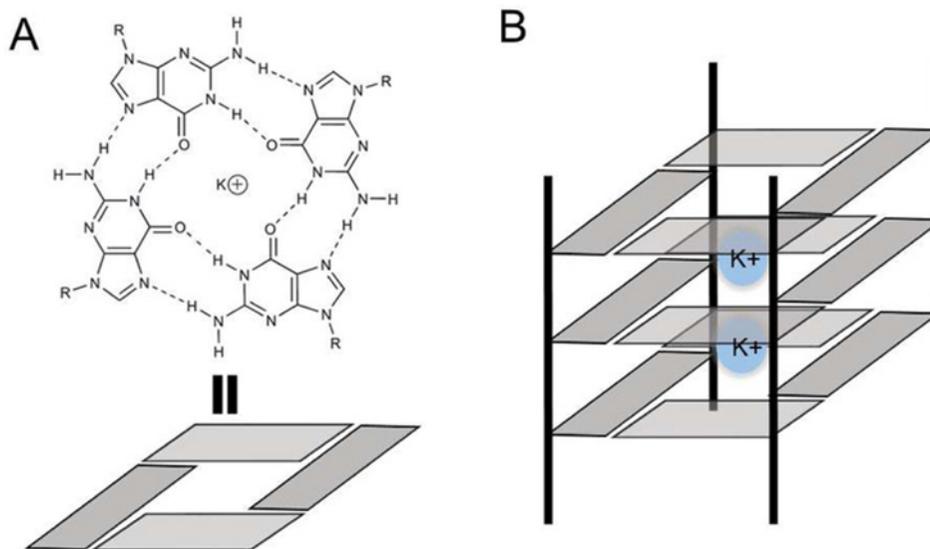


Рис.1. (А) Ориентация гуанинов в квартете G4. (В) Одновалентные катионы (K^+) часто занимают середину двух квартетов, помогая стабилизировать частичный отрицательный заряд. Фосфатный остов показан в виде вертикальных черных линий. [8].

G4 в геномах *S. enterica*. До недавнего времени информация о динамике G4 в геномах бактерии оставалась очень скудной. Но, когда стали проводить их поиск с использованием технологии *in silico*, то появились представления о их участии в экспрессии генов патогенности бактерии [10]. Было показано, что структуры G4 эволюционно сохраняется у бактерии и действует как активаторы инициации антигенной изменчивости и помогают патогенам обходить иммунную систему хозяина. Поиск и анализ структур G4 стали проводить в геномах ряда патогенов: *K. pneumoniae*, *S. pneumoniae*, *V. cholerae*, *M. tuberculosis* [11]. Подобные же исследования по поиску структур G4 проводились и в геномах *S. enterica* (рис.2). Методами биоинформатики в них выявлены наличие трех SE-PGQ в трех различных местах генов генома *S. enterica*. Было обнаружено, что SE-PGQ-1 присутствует в регуляторной области *mgtA*, SE-PGQ-2 в открытой рамке считывания *entA*, тогда как SE-PGQ-3 в регуляторных областях генов *malK* и *malE*. Эти структуры G4 в данных генах характеризованы как перспективные мишени для антибактериальных лекарственных препаратов [9]. Также нами были методами биоинформатики проведены поиск и анализ мотивов G4 в геномах трех сероваров: *S. Typhimurium*, *S. Infantis*, *S. Enteritidis*.

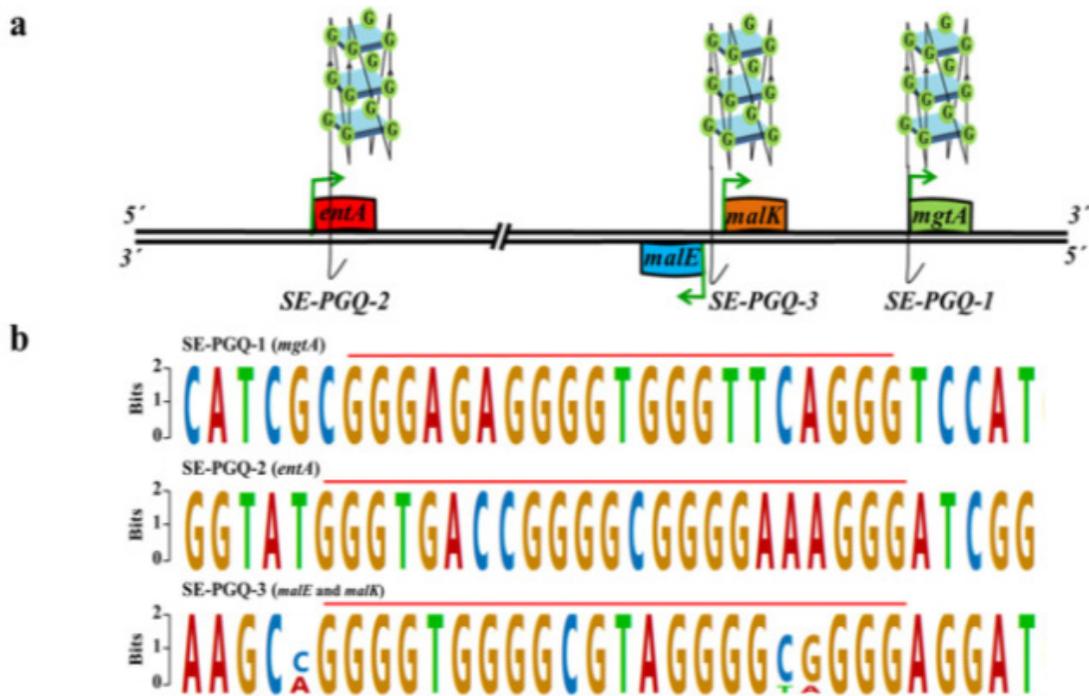


Рис.2. Схема локализация трех высоко-консервативных G4 в генах *S. enterica*. [9].

Цель. Посредством методов геномики и биоинформатики произвести поиск и анализ структур G4 в генах cas белков, выявленных в геномах штаммов трех сероваров: *S. Typhimurium*, *S. Infantis*, *S. Enteritidis*, представленных в базах данных NCBI.

Материалы и методы. В данной работе поиск и анализ G4 структур проводили методами геномики и биоинформатики в генах Cas белков в геномах штаммов *S. enterica* из баз данных NCBI. Объектами исследования были выбраны три его серовара: *S. Typhimurium*, *S. Infantis*, *S. Enteritidis*. Для поиска локусов и структур G4 в геномах исследуемых сероваров *S. enterica* использовали веб-приложение QGRS Mapper, который предсказывает квадруплексы, образующие G-богатые последовательности (QGRS) в геномах. Адрес доступа к QGRS Mapper: <http://bioinformatics.gamapo.edu/QGRS/> ([12]).

Результаты и обсуждение. Структуры G4 были выявлены в генах cas белков в геномах исследуемых сероварах *S. enterica*. Мотивы G4 в геномах серовара *S. Typhimurium* были выявлены в следующих генах cas белков: Cas2, Cas3, Cse1/CasA, Cse2/CasB, Cas7/Cse4/CasC, Cas5/CasD, Cas6/Cse3/CasE, Cas1e. В геномах серовара *S. Infantis* были выявлены следующие гены cas белков: Cas2, Cas3, Cse1/CasA, Cse2/CasB, Cas7/Cse4/CasC, Cas5/CasD, Cas6/Cse3/CasE, Cas1e. Гены cas белков в геномах серовара *S. Enteritidis* были следующими: Cas2, Cas3, Cse1/CasA, Cse2/CasB, Cas7/Cse4/CasC, Cas5/CasD, Cas6/Cse3/CasE, Cas1e. Как видим, полученные результаты по выявленным структурам G4 практически в исследуемых сероварах *S. enterica* идентичны, что характеризуют их консервативность и стабильность в исследуемых сероварах, несмотря на их геновидовое разнообразие.

Заключение. Используемые нами методы геномики и биоинформатики для поиска структур в геномах исследуемых сероваров *S. enterica* структур G4 показали свою

эффективную способность их идентифицировать. Впервые показано, что выявленные структуры G4 в генах cas белков во всех геномах исследуемых сероваров *S. enterica* практически идентичны. Такая особенность участия G4 в регуляции экспрессии генов cas белков с различными их структурно-функциональными консервативными характеристиками свидетельствует о сложности и длительности их формирования.

Работа поддержана грантом Российского научного фонда (проект № 23-25-00520).

Список литературы:

1. Monsen RC, Trent JO. G-quadruplex virtual drug screening: A review. *Biochimie*. 2018 Sep;152:134-148. doi: 10.1016/j.biochi.2018.06.024.;
2. Neidle S. A Phenotypic Approach to the Discovery of Potent G-Quadruplex Targeted Drugs. *Molecules*. 2024 Aug 1;29(15):3653. doi: 10.3390/molecules29153653.
3. Teng FY, et.al. G-quadruplex DNA: a novel target for drug design. *Cell Mol Life Sci*. 2021 Oct;78(19-20):6557-6583. doi: 10.1007/s00018-021-03921-8. Teng FY, et.al., 2021.
4. Teklemariam AD, et.al. Human Salmonellosis: A Continuous Global Threat in the Farm-to-Fork Food Safety Continuum. *Foods*. 2023 Apr 23;12(9):1756. doi: 10.3390/foods12091756.
5. Zhou Z., et.al. GrapeTree: Visualization of core genomic relationships among 100,000 bacterial pathogens / (2017) // *BioRxiv*. <https://doi.org/10.1101/216788>.
6. Jajere SM. A review of *Salmonella enterica* with particular focus on the pathogenicity and virulence factors, host specificity and antimicrobial resistance including multidrug resistance. *Vet World*. 2019;12(4):504-521. doi: 10.14202/vetworld.2019.504-521.
7. Uzairue LI, et.al. Antimicrobial resistance and virulence genes of invasive *Salmonella enterica* from children with bacteremia in north-central Nigeria. *SAGE Open Med*. 2023 May 20;11:20503121231175322. doi:10.1177/20503121231175322.
8. Monsen RC, Trent JO. G-quadruplex virtual drug screening: A review. *Biochimie*. 2018 Sep;152:134-148. doi: 10.1016/j.biochi.2018.06.024.
9. Jain N, et.al. G-quadruplex stabilization in the ions and maltose transporters gene inhibit *Salmonella enterica* growth and virulence/ *Genomics*. 2020 Nov;112(6):4863-4874. doi: 10.1016/j.ygeno.2020.09.010.
10. Yadav P, et.al. G-Quadruplex Structures in Bacteria: Biological Relevance and Potential as an Antimicrobial Target. *J Bacteriol*. 2021 Jun 8;203(13):e0057720. doi: 10.1128/JB.00577-20.
11. Cueny RR, et.al. G-quadruplexes in bacteria: insights into the regulatory roles and interacting proteins of non-canonical nucleic acid structures. *Crit Rev Biochem Mol Biol*. 2022 Oct-Dec;57(5-6):539-561. doi: 10.1080/10409238.2023.2181310.
12. Kikin O., et.al. QGRS Mapper: a web-based server for predicting G-quadruplexes in nucleotide sequences. *Nucleic Acids Res*. 2006 Jul 1;34(Web Server issue):W676-82. doi: 10.1093/nar/gkl253.

УДК: 57.022:613.6.015

Киселева С.П., Юнина А.С.

ОТНОШЕНИЕ НАСЕЛЕНИЯ К РАЗЛИЧНЫМ СПОСОБАМ СНИЖЕНИЯ МАССЫ ТЕЛА

ФГБОУ ВО Тверской государственной медицинской университет, Тверь, Россия

Научный руководитель - к.м.н., доцент, доцент кафедры общей хирургии

Морозов А.М.

Резюме. Современное общество активно развивается, в связи с чем меняется характер питания, люди отдают предпочтение фаст-фуду, в связи с этим тема избыточной массы тела становится с каждым годом все актуальнее. Целью работы является оценка отношения населения к способам снижения массы тела. Большинство респондентов не доверяют экстремальным методам похудения и предпочитают более безопасные подходы. Также у опрошенных есть недостаток знаний о правильном питании и фитнесе, что негативно сказывается на ожидаемых результатах похудения.

Ключевые слова: ожирение; образ жизни; диета; качество жизни.

Kiselyova S.P., Yunina A.S.

THE ATTITUDE OF THE POPULATION TOWARDS VARIOUS WAYS OF REDUCING BODY WEIGHT

Tver State Medical University, Tver, Russia

Scientific supervisor - Candidate of Medical Sciences, Associate Professor of the Department of General Surgery Morozov A.M.

Abstract. Modern society is actively developing, and therefore the nature of nutrition is changing, people prefer fast food, and therefore the topic of overweight is becoming more relevant every year. The aim of the work is to assess the attitude of the population towards ways to reduce body weight. Most respondents do not trust extreme weight loss methods and prefer safer approaches. The respondents also have a lack of knowledge about proper nutrition and fitness, which negatively affects the expected results of weight loss.

Key words: overweight; lifestyle; diet; quality of life.

Введение. Современное общество активно развивается, в связи с чем меняется характер питания, люди отдают предпочтение фаст-фуду, еде быстрого приготовления, в связи с этим тема избыточной массы тела становится с каждым годом все актуальнее [2]. По данным исследования Ipsos 2021 года, которое проходило в 30 странах, 45% людей во всем мире пытаются похудеть. Данная цифра увеличивается до двух третей (60%) людей в Чили и составляет более чем 50% в Испании, Перу, Саудовской Аравии, Сингапуре и США [1,10]. Попытки современного человека похудеть зачастую оказываются неудачны, так как большая часть населения использует неправильные методы, считая основным способом похудения диеты с дефицитом калорий, моно(кето)-диеты, при которых нарушается соотношение БЖУ, мочегонные препараты и другие способы, даже не задумываясь на сколько килокалорий необходимо снизить потребление пищи и чем грозит

их нерациональное снижение или какое влияние мочегонные препараты оказывают на почки, печень и организм в целом [3,6,7]. Незнание данных принципов и злоупотребление одним из методов могут вызывать обезвоживание, электролитный дисбаланс и негативно сказываться на функции почек, что увеличивает риск серьезных осложнений для здоровья. Установлено, что при правильном занятии фитнесом и соблюдении правильного питания за 3 месяца человек снижает жировую массу на 15%, что является эффективным и не вредит организму как экстремальные способы похудения [5,8,9]. К самому похудению люди прибегают по разным причинам. Основной же проблемой остается непринятие себя – здоровые люди пытаются похудеть, чтобы добиться «идеала». Люди с избыточным весом, испытывают дискомфорт в повседневной жизни и негативное давление со стороны социума (дискриминируют на работе, затрудняется поиск партнера, снижается мобильность, а также качество и количество социальных контактов) [4,12]. Современные методы снижения массы тела варьируются и представляют широкий спектр подходов.

Цель. Оценить отношение населения к способам снижения массы тела.

Методы исследования. В ходе настоящего исследования был проведен анонимный социологический опрос, состоящий из 22 вопросов, в котором участвовало 126 респондентов. Возраст респондентов составил: 18-25 лет - 100 опрошенных (79,4%), 26-30 лет - 7 опрошенных (5,6%), 31-40 лет - 6 опрошенных (4,8%), 41-50 лет - 8 опрошенных (6,3%), старше 50 лет = 5 опрошенных (4%). Из них 104 женщины (82,5%) и 22 мужчины (17,5%) (уровень значимости $p < 0,001$). Использовался статистический метод, метод анализа и синтеза, математический метод [11]. В качестве оценки статистической достоверности использовался критерий согласия Пирсона (хи-квадрат).

Результаты. При анализе результатов анкетирования были получены следующие данные: среди опрошенных - 71 человек с нормой массы тела (56,3%), с нарушением массы тела - 49 (38,8%) (уровень значимости $p = 0,005$), среди которых 17 человек с избыточной массой тела (13,5%), у 8 ожирение первой степени (6,4%), два человека с ожирением второй степени (1,6%), 21 с недостаточной масса тела (16,7%) и 1 человек имеет дефицит массы тела (0,7%), 6 респондентов (4,9%) некорректно указали свои данные.

Более 50% опрошенных хотели бы похудеть в данный момент, хотя находятся в нормальной массе тела – ИМТ от 18,5 до 24,9.

Основными поводами к мысли о похудении стали: проблемы со здоровьем (14,1%) и непринятие себя (74,6%) (уровень значимости $p < 0,001$). Такая причина как – неодобрительные отзывы со стороны окружающих, остается на последнем месте и составляет 1,4%, наряду со стремлением к лучшей версии себя, хорошему внешнему виду и другими вариантами ответа, которые респонденты указали сами.

Среди опрошенных хотели бы похудеть 67 (53%), однако ИМТ от 25, соответствующее избыточной массе тела, имеют лишь 23 человек из данных 67. Из них: 15 избыточный ИМТ (от 25 до 30), 6 ожирение 1 степени (от 30 до 35), 2 с ожирением 2 степени (от 35 до 40). Из 104 женщин хотели бы похудеть 58, из которых ИМТ, соответствующее избыточной массе тела, ожирению 1 или 2 степени, имеют лишь 18. Из 22 мужчин хотели бы похудеть 9, из которых ИМТ выше нормы (18,5-24,9) лишь у 5. Таким образом, большая часть желающих снизить вес (44 опрошенных – 65,67%) имеет нормальный уровень ИМТ. По результатам опроса из 58 женщин и 9 мужчин, 40 женщин и 8 мужчин хотели бы похудеть

из-за неприятия себя (уровень значимости $p < 0,001$). Исходя из данного, можно сделать вывод, что мнение общества, решающее в данном вопросе. Данная причина оказывает давление на людей, даже если они находятся в пределах здорового веса.

Первое место среди самых безопасных и эффективных методов снижения массы тела занимали прогулки на свежем воздухе (77,8%), на втором – занятия фитнесом (75,4%), занятия в секциях (57,1%) и замыкают данную цепочку диеты с дефицитом ккал (49,2%).

Чаще всего люди комбинировали занятия фитнесом и диеты с дефицитом ккал. Но по полученным данным можно сделать вывод, что спортом такие люди занимаются не систематично, а о правильном соотношении питательных веществ в организме они не знают. Так 54% опрошенных ошибочно считают, что для похудения соотношение БЖУ должно быть 50/20/30, в то время как для нормального функционирования организма и эффективного похудения необходимо соотношение 25-35/10-15/40-60 [3].

В заключительной части анкетирования мы предлагали людям отметить эффективность различных методов для похудения по 10 бальной шкале.

Эффективность голодовок была оценена в 2,7 балла. 25 % считают, что диеты с дефицитом килокалорий помогут в вопросе снижения веса (эффективность диет с дефицитом килокалорий оценена в 6,8 балла). Занятия фитнесом считают эффективными 30,2% опрошенных, и лишь 4% характеризуют данный способ малоэффективным (эффективность занятия фитнесом оценена в 7,9 балла).

В связи с популярным способом похудения – спортом, задавался вопрос о знании последствий неправильного выполнения упражнений. По результату опроса респонденты считают наиболее опасными противопоказаниями – обострением хронических заболеваний (81,7%), артериальную гипертензию (75,4%), астму (69%). На второе место респонденты ставят наличие злокачественных новообразований (53,2 %) и инфекционных/воспалительных заболеваний (57,1%). Психические расстройства считают противопоказанием 24,6% опрошенных. На вопрос «Если бы Вы узнали о наличии противопоказаний к занятию определённым видом спорта, вы бы нашли альтернативу или перестали им заниматься» - 87,3% респондентов хотели бы найти альтернативу, 7,1% продолжили бы занятия, не смотря на противопоказания, и 5,6% перестали бы заниматься спортом совсем.

В качестве альтернативы традиционным способам похудения были заданы вопросы про хирургическое вмешательство для снижения избыточной массы тела. По результатам опроса, 10% считают данный способ не эффективным, 47,6% никогда к нему не прибегли бы, 29,4% считают, что к данному способу следует прибегать только в качестве последнего средства и лишь 2 человека (1,6%) решились бы на операцию, чтобы похудеть (эффективность данного метода оценена в 2,8 балла). Такое отношение к данному способу вызвано тем, что люди зная о послеоперационных последствиях, таких как расстройства пищеварения, недостаток питательных веществ, образование послеоперационных грыж и анемии, выбрали другой способ для получения «идеального тела».

Выводы. Полученные результаты анкетирования показывают, что в настоящее время есть определенная доля людей с избыточной массой тела и ожирением. Большинство респондентов не доверяют экстремальным методам похудения и предпочитают более безопасные подходы. Также у опрошенных есть недостаток знаний о правильном питании

и фитнесе, что негативно сказывается на ожидаемых результатах похудения.

Масса тела является важным фактором для поддержания здоровья и благополучия населения, что делает её актуальной темой для общественного здравоохранения и профилактических программ.

Список литературы:

1. 45% людей во всем мире в настоящее время пытаются похудеть / [Электронный ресурс] // ПромРейтинг: [сайт]. — URL: <https://promrating.ru/news/45-lyudej-vo-vsem-mire-v-nastoyashhee-vremya-pytayutsya-pohudet/> (дата обращения: 28.07.2024).
2. Агапитова, В.С. фаст фуд в жизни современного человека [Текст] / В.С. Агапитова, Е.А. Лепухова, С.С. Козлов // Международный научный журнал «ВЕСТНИК НАУКИ». — 2022. — Т.1., № 6(51) — С. 333-339. — URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=48615664> (дата обращения: 26.07.2024).
3. Иванникова, Е.В. Кетогенная диета: история возникновения, механизм действия, показания / Е.В. Иванникова, М.В. Алташина, Е.А. Трошина // Проблемы эндокринологии. — 2022. — Т. 68, № 1. — С. 49-72. — DOI 10.14341/probl12724. — URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=48055166> (дата обращения: 26.07.2024).
4. Калькулятор индекса массы тела (ИМТ) / [Электронный ресурс] // Клиника бариатрии Бориса Цветкова на базе СОКБ им. В.Д. Середавина: [сайт]. — URL: <https://clinic-cvetkov.ru/company/kalkulyator-imt/?ysclid=lzkcqbq8zs248373497> (дата обращения: 26.07.2024).
5. Магомедов, А.А. Проблема снижения физической активности и подготовленности школьников с избыточной массой тела / А.А. Магомедов // Педагогический журнал. — 2023. — Т. 13, № 12-1. — С. 198-203. — DOI 10.34670/AR.2024.72.29.022. — URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=67948685> (дата обращения: 26.07.2024).
6. Пельтихина, О.В. Диетотерапия у детей с отягощенным аллергоанамнезом / О.В. Пельтихина, Л.П. Пикалова, А.М. Морозов // Медицинская сестра. — 2020. — Т. 22, № 7. — С. 44-46. — DOI 10.29296/25879979-2020-07-08. — URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=44081748> (дата обращения: 26.07.2024).
7. Песков Иван Оптимальное соотношение белков, жиров и углеводов - как рассчитать количество БЖУ / Песков Иван [Электронный ресурс] // Нутрициология: [сайт]. — URL: <https://nutriciologiya.ru/blog/sootnoshenie-bzhu#h82skp61a4tkwptpp7gwude21rzf126> (дата обращения: 30.07.2024).
8. Свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2022620585 Российская Федерация. База данных тестовых заданий для студентов медицинских вузов по теме "Формирование здоровья будущих матерей": № 2022620314: заявл. 22.02.2022: опубл. 18.03.2022 / М.А. Беляк, К.В. Буканова, Э.В. Буланова [и др.]. — URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=48137453> (дата обращения: 26.07.2024).
9. Свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2022620562 Российская Федерация. База данных учебно-методических материалов по дисциплине "Анатомия человека": № 2022620324: заявл. 22.02.2022: опубл. 16.03.2022 / М.А. Беляк, К.В. Буканова, Э.В. Буланова [и др.]. — URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=48137431> (дата обращения: 26.07.2024).

10. Свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2022621316 Российская Федерация. Вопросы оказания неотложной медицинской помощи на догоспитальном этапе: № 2022621093: заявл. 19.05.2022: опублик. 03.06.2022 / М.А. Беляк, К.В. Буканова, Э.В. Буланова [и др.]; заявитель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Тверской государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации. – URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=49194135> (дата обращения: 26.07.2024).
11. Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2021661873 Российская Федерация. Программа для проведения дистанционного социологического анкетирования: № 2021660772: заявл. 05.07.2021: опублик. 16.07.2021 / С. В. Жуков, М. В. Рыбакова, П. И. Дементьева [и др.]. – URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=46483561> (дата обращения: 26.07.2024).
12. Фонталова, Н.С. Социально-психологические особенности людей с различной степенью избыточной массы тела / Н.С. Фонталова, А.О. Шишкина, Р.Н. Фонталов // Baikal Research Journal. – 2017. – Т. 8, № 1. – С. 28. – DOI 10.17150/2411-6262.2017.8(1).28. – URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=28959965> (дата обращения: 26.07.2024).

УДК: 576.311.347+616.248+614.715

Кондратьева Е.В., Виткина Т.И.

ВЛИЯНИЕ ТВЕРДЫХ ВЗВЕШЕННЫХ ЧАСТИЦ АТМОСФЕРНОГО ВОЗДУХА НА ЭНЕРГЕТИЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЕ CD4+ КЛЕТОК ПРИ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЕ ЛЕГКОЙ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ

Владивостокский филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» – Научно-исследовательский институт медицинской климатологии и восстановительного лечения, Владивосток, Россия

Резюме. Цель – установить особенности нарушения митохондриального мембранного потенциала (ММП) CD4⁺ клеток при бронхиальной астме (БА) легкой степени тяжести контролируемого и частично контролируемого течения под воздействием твердых взвешенных частиц (ТВЧ) атмосферного воздуха *in vitro*. Анализ проведен методом проточной цитометрии. При БА легкой степени тяжести под воздействием ТВЧ происходят однонаправленные изменения уровней ММП CD4⁺ клеток, выраженность которых зависит от уровня контроля заболевания.

Ключевые слова: бронхиальная астма, твердые взвешенные частицы атмосферного воздуха, митохондрии, митохондриальный мембранный потенциал.

Kondratyeva E.V., Vitkina T.I.

THE ATMOSPHERIC PARTICULATE MATTER INFLUENCE ON THE ENERGY STATE OF CD4⁺ CELLS IN MILD BRONCHIAL ASTHMA

Vladivostok Branch of the «Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration» – Research Institute of Medical Climatology and Rehabilitation Treatment, Vladivostok, Russia

Abstract. *The aim was to establish the features of the CD4⁺ cells mitochondrial membrane potential (MMP) disturbance in controlled and partially controlled mild asthma under the influence of atmospheric air suspended solid particles (SSP) in vitro. The analysis was carried out by flow cytometry. In mild asthma, under the influence of SSP, unidirectional changes in the CD4⁺ cells MMP levels occur; the severity of which depends on the level of disease control.*

Key words: *bronchial asthma, atmospheric air suspended solid particles, mitochondria, mitochondrial membrane potential.*

Введение. Патогенетические механизмы бронхиальной астмы (БА) связаны с процессами изменения энергетического состояния клеток и липидного обмена, развитием гипоксии, окислительного стресса и системного воспаления [8]. Воспаление у лиц с БА обусловлено в значительной мере продуцирующими цитокины CD4⁺ клетками, которые играют центральную роль в рекрутировании и активации клеток врожденного иммунитета [9, 10]. Одними из органелл, участвующих в основных функциях клеток являются митохондрии [5, 6]. Митохондриальная дисфункция проявляется уже на ранних этапах развития хронических заболеваний легких и может являться ключевым патологическим признаком утяжеления их течения. Снижение митохондриального мембранного потенциала (ММП) и повышение проницаемости наружной мембраны запускает выход цитохрома С, что, в конечном итоге, приводит к апоптозу [13]. Аномальное митохондриальное функционирование играет существенную роль в патогенезе БА [7].

Влияние твердых взвешенных частиц (ТВЧ) атмосферного воздуха является значимым фактором риска развития и прогрессирования БА [11]. Большинство нежелательных последствий воздействия ТВЧ обусловлено стимуляцией окислительного стресса, воспалительных процессов, что влечет за собой прогрессирование митохондриальной дисфункции [11, 13]. Однако сведения об изменении ММП в отдельных лимфоцитарных субпопуляциях при воздействии ТВЧ у лиц с БА практически отсутствуют.

Цель – установить особенности нарушения митохондриального мембранного потенциала CD4⁺ клеток при бронхиальной астме легкой степени тяжести контролируемого и частично контролируемого течения под воздействием твердых взвешенных частиц атмосферного воздуха *in vitro*.

Методы исследования. В исследование включено 151 больных БА легкой степени тяжести (из них 57 с контролируемой, 74 с частично контролируемой БА). Группу контроля составили 60 практически здоровых добровольцев. Лейкоцитарную взвесь выделяли методом центрифугирования на градиенте фиколл-верографин. В качестве нагрузки использовали модельные взвеси (МВ) веществ, имитирующие многокомпонентное загрязнение атмосферного воздуха [2]. МВ разработаны с учетом

предварительных исследований воздушной среды г. Владивостока и соответствуют загрязнению приземного слоя атмосферного воздуха района с высокой техногенной нагрузкой [3]. Методом проточной цитометрии на цитофлуориметре BD FACSCanto II с одновременным добавлением моноклональных антител для идентификации CD4⁺ (BD, США) оценивали ММП с использованием набора Mitoprobe JC-1 Assay Kit (Thermo Fisher Scientific, США) по процентному содержанию клеток лимфоцитов CD4⁺ с измененным ММП. Для оценки интенсивности нарушений использовали 5 уровней: ММП-1 (клетки с очень высоким ММП), ММП-2 (клетки с высоким ММП), ММП-3 (клетки со средним ММП), ММП-4 (клетки со сниженным ММП), ММП-5 (клетки с низким ММП). Расчеты проведены в программе «STATISTICA 10.0». Результаты представлены в виде процентов, рассчитанных относительно параметров до воздействия ТВЧ. Анализ различий между группами проведен с применением метода Манна-Уитни. Уровень значимости различий принимался при $p < 0,05$.

Результаты. В результате исследования митохондриального мембранного потенциала у лиц с БА при воздействии ТВЧ были установлены особенности перераспределения клеток между пятью уровнями ММП (рис. 1).

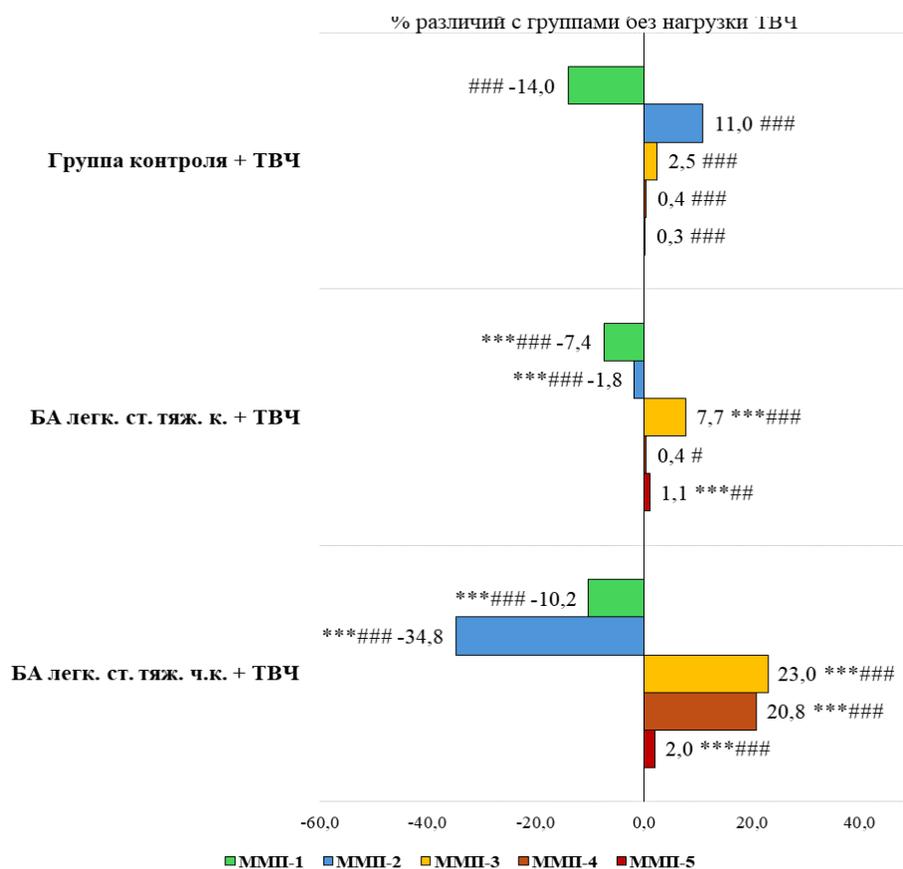


Рисунок 1. Уровни ММП CD4⁺ клеток при воздействии ТВЧ у лиц с БА легкой степени тяжести

Примечание: * - статистическая значимость различий в сравнении с группой контроля при воздействии ТВЧ: *** - $p < 0,001$; # - статистическая значимость различий в сравнении с соответствующими группами без нагрузки ТВЧ: # - $p < 0,05$; ## - $p < 0,01$; ### - $p < 0,001$

ст. тяж. – степень тяжести

к. – контролируемое течение, ч.к. – частично контролируемое течение

При воздействии ТВЧ в контрольной группе выявлено снижение ММП-1 на 14% ($p < 0,001$), увеличение ММП-2, ММП-3, ММП-4 и ММП-5 на 11% ($p < 0,001$), 2,5% ($p < 0,001$), 0,4% ($p < 0,001$) и 0,3% ($p < 0,001$) соответственно по сравнению с показателями без нагрузки.

У лиц с БА легкой степени тяжести при воздействии ТВЧ в популяции клеток CD4+ относительно параметров без нагрузки наблюдалось статистически значимое снижение показателей ММП-1 на 7,4% ($p < 0,001$) и 10,2% ($p < 0,001$); снижение ММП-2 на 1,8% ($p < 0,001$) и 34,8% ($p < 0,001$); увеличение ММП-3 на 7,7% ($p < 0,001$) и 23% ($p < 0,001$) при контролируемом и частично контролируемом течении соответственно. Уровень ММП-4 увеличивался на 0,4% ($p < 0,05$) и 20,8% ($p < 0,001$), ММП-5 возрастал на 1,1% ($p < 0,001$) и 2% ($p < 0,001$) в группах с контролируемой и частично контролируемой БА соответственно.

Сравнительный анализ данных позволяет выделить наиболее выраженные изменения в соотношении ММП-2, ММП-3 и ММП-4 CD4 позитивных клеток под воздействием ТВЧ при потере контроля над заболеванием. Значимым показателем этого процесса является также понижение у Т-хелперов значений ММП-1.

В современных исследованиях показано, что при БА наблюдается снижение уровня ММП в лимфоцитах, моноцитах, нейтрофилах и, в целом, в лейкоцитарной популяции клеток, что указывает на дисбаланс энергетических процессов при данной патологии [1, 4]. Механизм снижения ММП у лиц с БА может быть связан с нарушением структуры митохондриальных мембран и изменением качественного и количественного состава жирных кислот. Вследствие данных процессов наблюдается увеличение проницаемости мембран митохондрий и развитие митохондриальной дисфункции [1, 2, 4]. Кроме того, известно, что ТВЧ атмосферного воздуха индуцируют ультраструктурные повреждения митохондрий, тем самым приводя к снижению энергетического потенциала клеток [12, 13]. В нашем исследовании установлено, что под воздействием ТВЧ атмосферного воздуха при БА происходят более выраженные изменения уровней ММП чем у здоровых лиц. Кроме того, выявленные тенденции свидетельствуют о значимости нарушений уровней ММП CD4+ клеток под воздействием ТВЧ при потере контроля над заболеванием.

Выводы. При БА легкой степени тяжести под воздействием ТВЧ *in vitro* происходят однонаправленные изменения уровней ММП CD4+ клеток, выраженность которых зависит от степени контроля заболевания. Оценка перераспределения уровней ММП CD4 позитивных клеток может способствовать раннему выявлению нарушений энергетического обмена при БА в условиях техногенной нагрузки, что позволит оптимизировать профилактические мероприятия.

Список литературы:

1. Денисенко Ю.К., Новгородцева Т.П., Кондратьева Е.В., Жукова Н.В., Антонюк М.В., Кнышова В.В., Минеева Е.Е. Морфофункциональное состояние митохондрий клеток крови при бронхиальной астме // Клиническая медицина. 2015. Т.93, №10. С. 47-51.
2. Кондратьева Е.В., Веремчук Л.В., Виткина Т.И. Воздействие пылевых фракций воздушной среды на иммунную систему пациентов с бронхолегочной патологией // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2023. Т. 88. С. 27-34.
3. Кондратьева Е.В., Виткина Т.И., Веремчук Л.В. Загрязнение приземного слоя

- атмосферного воздуха твердыми взвешенными частицами территорий с различной техногенной нагрузкой // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2024. Т. 91. С. 68–76.
4. Супрун Е.Н. Оценка мембранного потенциала митохондрий иммунокомпетентных клеток крови при бронхиальной астме у детей в зависимости от контролируемости течения заболевания // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2022. № 86. С. 50-55.
 5. Bhatti J.S., Bhatti G.K., Reddy P.H. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in metabolic disorders - A step towards mitochondria based therapeutic strategies // *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis.* 2017, vol. 1863, no. 5, pp. 1066-1077.
 6. Chistiakov D.A., Shkurat T.P., Melnichenko A.A., Grechko A.V., Orekhov A.N. The role of mitochondrial dysfunction in cardiovascular disease: a brief review // *Ann Med.* 2018, vol. 50, no. 2, pp. 121-127.
 7. Cloonan S.M., Choi A.M. Mitochondria in lung disease // *J. Clin. Invest.* 2016, vol. 126, no. 3, pp. 809-820.
 8. Farraia M., Cavaleiro Rufo J., Paciencia I., Castro Mendes F., Delgado L., Laerte Boechat J., Moreira A. Metabolic interactions in asthma // *Eur Ann Allergy Clin Immunol.* 2019, vol. 51, no. 5, pp. 196-205.
 9. Herrera-De La Mata S., Ramirez-Suastegui C., Mistry H., Castañeda-Castro F.E., Kyyaly M.A., Simon H., Liang S., Lau L., Barber C., Mondal M., Zhang H., Arshad S.H., Kurukulaaratchy R.J., Vijayanand P., Seumois G. Cytotoxic CD4+ tissue-resident memory T cells are associated with asthma severity // *Med.* 2023, vol. 4, no. 12, pp. 875-897.e8.
 10. Jeong J., Lee H.K. The Role of CD4+ T Cells and Microbiota in the Pathogenesis of Asthma // *Int J Mol Sci.* 2021, vol. 22, no. 21, 11822.
 11. Veremchuk L.V., Vitkina T.I., Kondratyeva E.V. Impact of technogenic air pollution factors on the immune system in respiratory diseases // *Siberian Journal of Life Sciences and Agriculture.* 2024. Т. 16, № 2. С. 182-197.
 12. Yang X., Feng L., Zhang Y., Hu H., Shi Y., Liang S., Zhao T., Fu Y., Duan J., Sun Z. Cytotoxicity induced by fine particulate matter (PM2.5) via mitochondria-mediated apoptosis pathway in human cardiomyocytes // *Ecotoxicol Environ Saf.* 2018. Vol. 161. P.198-207.
 13. Zhu X., Ji X., Shou Y., Huang Y., Hu Y., Wang H. Recent advances in understanding the mechanisms of PM2.5-mediated neurodegenerative diseases // *Toxicol Lett.* 2020, no. 329, pp. 31-37.

УДК: 616.61-001-036.11

Коновалова А.А., Цепелев В.Л.

ЛИПОКАЛИН, МАТРИКСНЫЕ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗЫ В ПАТОГЕНЕЗЕ ОСТРОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ ПОЧЕК ПРИ ТЕРМИЧЕСКИХ ОЖОГАХ КОЖИ

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Читинская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации 672000, Российская Федерация, г. Чита, ул. Горького, д. 39 «а»

Резюме. Острое повреждение почек, является одним из грозных осложнений термических ожогов кожи, в большинстве случаев остается не диагностированным в первые сутки после получения травмы. Целью исследования являлось, отразить динамику изменения уровня раннего биомаркера острого повреждения почек - липокалина, матриксных металлопротеиназ 2 и 9 в сыворотке крови у больных с термическими ожогами кожи в разные периоды ожоговой болезни. Липокалин и матриксные металлопротеиназы 2 и 9 могут рассматриваться как ранние биомаркеры острого повреждения почек у больных с термическими ожогами кожи.

Ключевые слова: Термический ожоги; острое повреждение почек; липокалин; матриксные металлопротеиназы.

Konovalova A.A., Tsepelev V.L.

LIPOKALIN, MATRIX METALLOPROTEINASES IN THE PATHOGENESIS OF ACUTE KIDNEY INJURY IN THERMAL SKIN BURNS

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Chita State Medical Academy" of the Ministry of Health of the Russian Federation 672000, Russian Federation, Chita, Gorky str., 39 "a"

Resume. Acute kidney injury is one of the most serious complications of thermal skin burns, in most cases it remains undiagnosed in the first day after injury. The aim of the study was to reflect the dynamics of changes in the level of an early biomarker of acute kidney injury - lipocalin, matrix metalloproteinases 2 and 9 in blood serum in patients with thermal skin burns during different periods of burn disease. Lipocalin and matrix metalloproteinases 2 and 9 can be considered as early biomarkers of acute kidney injury in patients with thermal skin burns.

Key words: Thermal burns; acute kidney injury; lipocalin; matrix metalloproteinases.

Введение. В современном мире термически ожоги кожи чаще возникают при чрезвычайных ситуациях. Больные, имеющие глубокие и обширные поражения кожных покровов, находятся на длительном стационарном лечении, при котором используется медикаментозная терапия и оперативные вмешательства [1]. Острое повреждение почек (ОПП) является грозным осложнением термических ожогов кожи. Частота почечного повреждения варьирует от 20% до 30% и увеличивается при обширных поражениях кожных покровов [2]. Патогенетические механизмы острого повреждения почек в разные периоды ожоговой болезни недостаточно изучены [3]. В последние годы появились

работы, в которых исследован новый биомаркер повреждения почек - липокалин и его роль в патогенезе при лекарственно-индуцированных нефропатиях, хронической болезни почек, системных заболеваниях. Между тем, данный предиктор повреждения почек при термической травме исследован недостаточно [4, 5].

Цель исследования – оценить динамику изменения уровня раннего биомаркера острого повреждения почек - липокалина, матриксных металлопротеиназ 2 и 9 в сыворотке крови у больных с термическими ожогами кожи.

Материалы и методы. Под нашим наблюдением находилось 74 пациента с термическими ожогами кожи I-III степени с площадью поражения кожных покровов от 25% до 85%, из них не менее 15% глубокого ожога, которые получали лечение в ГУЗ «Краевая клиническая больница» и ГУЗ «Городская клиническая больница №1» г. Читы в период с 2021 по 2024 гг. Возраст пациентов с термическими поражениями кожи составил $39,5 \pm 16,5$ лет; из них 47 (63,5%) мужчин и 27 (36,5%) женщин, площадь поражения кожи - $41,3 \pm 17,6\%$ поверхности тела, уровень смертности - 45,9%. Группу сравнения составили 35 здоровых людей, возраст которых $40,3 \pm 14,2$ лет, в соотношении 60% (21) мужчин, 40% (14) женщин.

Исследование уровня NGAL, MMP-2 и MMP-9 в сыворотке крови проводили методом мультиплексного анализа на проточном цитофлуориметре CytoFlex LX (Beckman Coulter, США) с использованием наборов Human Kidney Function Panel 1 и Vascular Inflammation Panel 1 Standard Cocktail (BioLegend, США). Анализ выполняли в программе BioLegend's LEGENDplex™ data analysis software v8.0 (BioLegend, США) согласно инструкции фирмы-производителя. Определение уровня креатинина в сыворотке крови проводили кинетическим методом Яффе с пикриновой кислотой на аппарате AU-680.

Определение указанных параметров проводили в период ожогового шока (1-3 сутки); ожоговой токсемии (7-10 сутки), ожоговой септикотоксемии (18-21 сутки) после получения термической травмы. Дополнительно в период ожогового шока уровень креатинина был измерен дважды: при поступлении и спустя 48 часов. Уровень данных показателей был измерен и у здоровых лиц однократно.

Статистическую обработку выполняли с помощью пакета программ «IBM SPSS Statistics Version 25.0» (International Business Machines Corporation, USA). Нормальность распределения количественных признаков оценивали с помощью критерия Колмогорова-Смирнова. Учитывая распределение признаков отличное от нормального во всех исследуемых группах, статистическую обработку полученных данных проводили непараметрическим методом Манна-Уитни с учетом поправки Бонферрони для сравнения исследуемой группы с группой контроля. Для попарного сравнения периодов ожоговой болезни между собой использовали стандартизованную оценку Z-score [10]. Для определения корреляционных связей между исследуемыми параметрами использовали коэффициент Спирмена. Силу связи между исследуемыми параметрами определяли по шкале Чеддока [11]. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

Результаты. Наши исследования показали, что у больных с термическими ожогами кожи в период ожогового шока уровень диуреза снижался до 400 (350; 512) мл., что в 5 раз меньше по сравнению с группой контроля - 2000 (1950; 2100) мл. ($p < 0,001$). В период острой ожоговой токсемии и септикотоксемии суточное количество мочи увеличивалось,

хотя и не достигало значений контрольной группы. Так, в период ожоговой токсемии уровень диуреза составил 1450 (1200; 2000) мл., а при ожоговой септикотоксемии суточное количество мочи составило 1700 (1150; 2000) мл. ($p=0,009$).

При поступлении в стационар у пациентов с термической травмой концентрация креатинина была равна 96 (85;103) ($p<0,001$), а через 48 часов отмечали увеличение концентрации креатинина на 78%, что составило 134 (124;147) ($p<0,001$) по сравнению с группой контроля. В период ожоговой токсемии и септикотоксемии уровень креатинина снижался.

Уровень липокалина в сыворотке крови у больных с термическими ожогами кожи в период шока равен 743 (529; 856) нг/мл и это больше в 5,5 раз по отношению к группе контроля 136 (112; 166) нг/мл ($p<0,001$). В период ожоговой токсемии и септикотоксемии значения были равны 598 (485; 835) нг/мл и 484 (335; 742) нг/мл, соответственно.

Установлено, что уровень матричной металлопротеиназы-2 в период ожогового шока был равен 65 (43;77) нг/мл, при ожоговой токсемии – 52 (17;61) нг/мл и в период септикотоксемии – 44 (38;47) нг/мл при значении группы контроля 15 (10;18) нг/мл. ($p<0,001$). Подобная динамика наблюдалась при исследовании концентрации матричной металлопротеиназы-9. В период ожогового шока концентрация данного белка была 409 (358;584); в период ожоговой токсемии – 316 (245;362) и ожоговой септикотоксемии - 264 (215;327), контрольные значения были на уровне 139 (122;196).

При анализе полученных данных обращает на себя внимание то, что концентрация сывороточного липокалина и уровень диуреза показывают обратную заметную корреляционную связь ($rs=-0,6$; $p<0,001$) в период ожогового шока и ожоговой токсемии. Это свидетельствует о том, что липокалин следует рассматривать в качестве маркера повреждения почек при термической травме. Более того, уровень липокалина в сыворотке крови имеет прямую среднюю связь ($rs=0,5$; $p<0,001$) с ММП-9 в период течения ожогового шока и прямую среднюю связь с ММП-2 ($rs=0,5$; $p<0,001$) в период ожоговой токсемии. Также выявлена обратная средняя связь ($rs=-0,5$; $p<0,001$) ММП-2 с суточным диурезом в период шока и обратная высокая по силе связь ($rs=-0,7$; $p<0,001$) ММП-2 с количеством суточной мочи в период острой ожоговой токсемии. Данные факты указывают на то, что липокалин и матричные металлопротеиназы 2 и 9 имеют патогенетическое значение в развитии острого повреждения почек у больных с термическими ожогами кожи.

Выводы.

У больных с термическими ожогами кожи в сыворотке крови увеличивается уровень липокалина, матричных металлопротеиназ 2 и 9 во все периоды ожоговой болезни. Максимальное увеличение данных показателей зарегистрировано в период шока. Имеются корреляционные взаимосвязи между концентрацией указанных белков и уровнем диуреза. Липокалин, ММП-2 и ММП-9 следует рассматривать в качестве ранних биомаркеров острого повреждения почек у больных с термическими ожогами кожи.

Список литературы:

1. Масляков В. В. и др. Массовое одновременное поступление пострадавших в чрезвычайных ситуациях в лечебные медицинские организации: организационные проблемы и возможные пути их решения *Медицина катастроф*. 2023; Т. 2.: 51-55.

2. Шилова Е.М, Смирнова А.В, Козловская Н.Л *Нефрология*. ГЭОТАР-Медия 2020; 561-633.
3. Коваль М.Г., Сорокина Е.Ю., Тацюк С.В. Нарушения функции почек в остром периоде ожоговой болезни и их прогностическое значение *Медицина неотложных состояний*. 2019; 7: 102.
4. Десаи Р.Дж. и др. Биомаркеры повреждения почек и стресса для раннего выявления лекарственно-индуцированного повреждения почек: систематический обзор. *Безопасность лекарственных средств*. 2022; 45: 839–852. <https://doi.org/10.1007/s40264-022-01202-2>
5. Пачеко-Луго Л. и др. Цитокины плазмы как потенциальные биомаркеры поражения почек у пациентов с системной красной волчанкой. *Волчанка*. 2019; 28(1): 34-43. DOI:10.1177/0961203318812679
6. Ромейко К., Марковска М., Нимчик С. Обзор современных знаний о липокаLINE, ассоциированном с нейтрофильной желатиназой (NGAL) *Международный журнал молекулярных наук*. 2023; Т (24); 13: 10470.
7. Сима С. Ахуджа Брайан Кастильо Клинические аспекты и лабораторное определение биомаркеров *Серия*. 2020; 2-10.
8. Дж. Кли. Матриксные металлопротеиназы при диабетической болезни почек. *Медицина*. 2020; 9(2): 472. <https://doi.org/10.3390/jcm9020472>
9. Возняк Й. и др. Ключевые металлопротеиназно-опосредованные пути в почках. *Обзоры природы по нефрологии* 17. 2021;513–527. <https://doi.org/10.1038/s41581-021-00415-5>
10. Мудров В.А. Алгоритмы статистического анализа количественных признаков в биомедицинских исследованиях с помощью пакета программ SPSS. *Забайкальский медицинский вестник*. 2020; 1: 140–150. DOI: 10.52485/19986173_2020_1_140
11. Мудров В.А. Алгоритмы корреляционного анализа данных в биомедицинских исследованиях с помощью пакета программ SPSS. *Забайкальский медицинский вестник*. 2020; 2: 169–176. DOI: 10.52485/19986173_2020_2_169
12. Юань Дж. Х. и др. Комбинация липокаLINE, ассоциированного с нейтрофильной желатиназой, и матриксной металлопротеиназы-9 является биомаркером для выявления тубулярной аденокарциномы толстой кишки. *Всемирный журнал желудочно-кишечной онкологии*. 2021; Т. 13; №. 10.;1506.
13. Григоркевич О.С., Мокров Г.В., Косова Л.Ю. Матриксные металлопротеиназы и их ингибиторы. *Фармакокинетика и Фармакодинамика*. 2019;(2):3-16. <https://doi.org/10.24411/2587-7836-2019-10040>
14. Мальярчиков А.В., Шаповалов К.Г., Лукьянов С.А., Терешков П.П., Казанцева Л.С. Острое почечное повреждение у больных пневмониями на фоне гриппа А/Н1N1. *Acta Biomedica Scientifica*. 2021;6(3):53-59. <https://doi.org/10.29413/ABS.2021-6.3.5>
15. Янг, Х. и др. Повышающая регуляция матриксных металлопротеиназ-9 в почках крыс с сахарным диабетом и связь с липокалином, связанным с желатиназой нейтрофилов. *BMC Nephrol* 22;2021: 211. <https://doi.org/10.1186/s12882-021-02396-w>

УДК: 616–092.4–008: 612.751.3

Крюкова В.В., Цепелев В.Л., Себаочжай А.В., Денисова К.М.

ЭКСПРЕССИЯ CTLA-4 Т-ЛИМФОЦИТАМИ В ТКАНИ ОПУХОЛИ И РЕГИОНАРНЫХ ЛИМФОУЗЛАХ ПРИ РАКЕ ТОЛСТОЙ КИШКИ

ФГБОУ ВО Читинская государственная медицинская академия, Чита, Россия

Резюме. *Определен уровень экспрессии белка CTLA-4 лимфоцитами у больных раком толстой кишки. Показано, что у пациентов с колоректальным раком ко-ингибирующая иммунная контрольная точка CTLA-4 имеет патогенетическое значение в формировании опухолевой иммуносупрессии. Экспрессия белка CTLA-4 увеличивается на поверхности CD4+Т-лимфоцитов, а также цитотоксических Т-лимфоцитов, как в опухолевом микроокружении, так и в регионарных лимфатических узлах.*

Ключевые слова: *колоректальный рак, лимфоциты, белок CTLA-4.*

Kryukova V.V., Tsepelev V.L., Sebaozhai A.V., Denisova K.M.

CTLA-4 EXPRESSION BY T-LYMPHOCYTES IN TUMOR TISSUE AND REGIONAL LYMPH NODES IN COLON CANCER

Chita State Medical Academy, Chita, Russia

Abstract. *The level of CTLA-4 protein expression by lymphocytes in patients with colon cancer was determined. It was shown that in patients with colorectal cancer, the co-inhibitory immune checkpoint - CTLA-4 has a pathogenetic significance in the formation of tumor immunosuppression. Expression of CTLA-4 protein increases on the surface of CD4+ T-lymphocytes, as well as cytotoxic T-lymphocytes, both in the tumor microenvironment and in regional lymph nodes.*

Key words: *colorectal cancer, lymphocytes, CTLA-4 protein.*

Актуальность. Колоректальный рак (КРР) занимает третье место в мире по смертности среди злокачественных новообразований [1]. Наряду с хирургическим лечением и химиотерапией, значительную роль в лечении злокачественных новообразований занимает иммунотерапия. Исследования последних лет показали, что злокачественные опухоли могут «ускользнуть» от иммунного надзора. Эта способность осуществляется через использование клетками «иммунных контрольных точек» (ИКТ, immune control points). Основной функцией ИКТ является регуляция иммунных процессов и предотвращение повреждения собственных тканей активированными клетками иммунитета.

Цитотоксический Т-лимфоцитарно-ассоциированный белок (Cytotoxic T-lymphocyte associated protein-4, CTLA-4, CD152) - является одной из иммунных контрольных точек и экспрессируется преимущественно Т-клетками [2]. Лигандом к CTLA-4 является В7.2 (CD86). Механизм ингибирующей иммунной регуляции осуществляется, когда CTLA-4 захватывает лиганд В7.2 с поверхности антигенпрезентирующей клетки или опухолевой клетки и путем трансэндоцитоза переносит их внутрь Т-лимфоцита. Патогенетическая роль CTLA-4 изучена при раке молочной железы, почки, меланоме, холангиокарциноме [3, 4]. Исследований, свидетельствующих о роли CTLA-4 в формировании опухолевой

иммуносупрессии у больных раком толстой кишки недостаточно, часть из них противоречива [5, 6, 7].

Целью работы явилось изучение уровня экспрессии белка CTLA-4 Т-лимфоцитами опухолевого микроокружения как в опухолевой ткани, так и в регионарных лимфатических узлах у больных раком толстой кишки.

Методы исследования. Основную группу наблюдения составили 105 больных раком толстой кишки III стадии, проходившие лечение в Краевом онкологическом диспансере г. Читы, из них у 93 (88,6%) имел место рак ободочной кишки, у 12 (11,4%) – прямой кишки. Критерии включения: согласие пациента, наличие рака толстой кишки, первичный статус заболевания. Критерии исключения: пациенты с положительным ВИЧ-статусом; аутоиммунными заболеваниями; вирусными и бактериальными инфекциями; хроническими воспалительными заболеваниями кишечника; больные, проходившие курс химиотерапевтического или лучевого лечения перед оперативным пособием. У 3 (2,9%) пациентов наблюдалась IIIA стадия, у 63 (60,0%) – IIIB, у 39 (37,1%) – IIIC стадия. При гистологическом исследовании ткань опухоли была представлена в 8-и случаях (7,6%) – высокодифференцированной аденокарциномой (G1); 88 случаях (83,8%) умереннодифференцированной аденокарциномой (G2); в 9-и случаях (8,6%) – низкодифференцированной аденокарциномой (G3).

В контрольную группу вошли 75 пациентов, оперированные в ГУЗ «Краевая клиническая больница» г. Читы, которым выполнена пластика колостомы, сформированной ранее по поводу травмы или неопухолевых заболеваний, а также резекция толстой кишки по поводу дивертикулярной болезни или врожденной аномалии развития толстой кишки.

Для получения клеточной суспензии, фрагменты опухолевой ткани и лимфатических узлов измельчали и гомогенизировали в гомогенизаторе GentleMACSDissociator (Miltenyi BiotecGmbH, Германия) с пробирками С типа и с использованием набора реагентов TumorDissociationKit (Miltenyi BiotecGmbH, Германия). Полученную суспензию клеток фильтровали через капроновый фильтр размером ячеек 70 мкм (Miltenyi BiotecGmbH, Германия). Для выявления основных популяций лейкоцитов, субпопуляций лимфоцитов и опухолевых клеток применяли моноклональные антитела, конъюгированные с флуорохромами (Beckman Coulter, США). Анализ образцов проводили на проточном цитофлуориметре CytoFLEX LX (Beckman Coulter, США). Обработку цитофлуориметрических данных проводили при помощи программ CytExpert software v.2.0 и Kaluza™ v.2.1.1 (Beckman Coulter, США). В каждом образце анализировали не менее 1000000 событий.

Нормальность распределения количественных признаков оценивали с помощью критерия Шапиро-Уилка. Ранговый анализ вариаций выполняли по Краскелу-Уоллису (H). Затем, при наличии статистически значимых различий, с учетом поправки Бонферрони, проводили попарное сравнение с помощью критерия Манна-Уитни. Для определения корреляционных связей между исследуемыми параметрами использовали коэффициент Спирмена. Значимыми считали отличия при $p < 0,05$. Статистическую обработку результатов исследования осуществляли с помощью пакета программ IBM SPSS Statistics Version 25.0 (International Business Machines Corporation, США).

Результаты исследования. Установлено, что у больных раком толстой кишки в опухолевой ткани 29,6% [19,1; 46,3] CD3⁺CD4⁺лимфоцитов экспрессировали на своей поверхности CTLA-4, что превышало данный показатель контрольной группы в 5,5 раза (5,4% [3,09; 9,05]) ($p < 0,001$). В ткани регионарных лимфатических узлов наблюдалась такая же динамика. Так, 42,9% [25,1; 59,8] CD4⁺T-лимфоцитов экспрессировали CTLA-4, что превышало значения контрольной группы в 7,9 раза ($p < 0,001$).

Установлено, что CD8⁺T-лимфоциты регионарных лимфатических узлов больных раком толстой кишки в 35,0% [16,9; 52,8] случаев экспрессировали на своей поверхности белок CTLA-4, что превышало данный показатель контрольной группы в 4,5 раза ($p < 0,001$). Обнаружено увеличение экспрессии белка CTLA-4 цитотоксическими T-лимфоцитами в опухолевой ткани у больных КРР по отношению к контрольной группе в 1,9 раза ($p < 0,001$).

Вывод. У больных с колоректальным раком происходит увеличение уровня экспрессии белка CTLA-4 CD4⁺T-лимфоцитами, а также цитотоксическими T-лимфоцитами как в опухолевом микроокружении, так и в регионарных лимфатических узлах.

Список литературы:

1. Chhikara B.S. Global Cancer Statistics 2022: the trends projection analysis/ B.S., Chhikara, K.Parang //Chemical Biology Letters. - 2023. - Т. 10. - №. 1. - С. 451 - 458.
2. Van Coillie S. Molecular and cellular functions of CTLA-4 / S. Van Coillie, B. Wiernicki, J. Xu //Regulation of Cancer Immune Checkpoints: Molecular and Cellular Mechanisms and Therapy. - 2020. - №2. - P. 7-32.
3. CTLA-4 Synergizes with PD1/PD-L1 in the Inhibitory Tumor Microenvironment of Intrahepatic Cholangiocarcinoma / X.J. Guo, J.C. Lu, H.Y. Zeng et. all. //Front Immunol. - 2021 - Vol.12 - P. 705378. DOI: 10.3389/fimmu.2021.705378.
4. Prognostic Implications of Immune Infiltrates in the Breast Cancer Microenvironment: The Role of Expressions of CTLA-4, PD-1, and LAG-3 / S. Bagbudar, H. Karanlik, N. Cabioglu et. al. //Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology. - 2022 - Vol. 30(2) - P. 99-107.
5. Четверяков А.В. Уровень ко-ингибирующих иммунных контрольных точек в ткани опухоли у пациентов с новообразованиями толстой кишки / А.В. Четверяков, В.Л. Цепелев //Молекулярная медицина. - 2023. - Т. 21. № 1. - С. 56-60.
6. Четверяков А.В. Концентрация ко-ингибирующих иммунных контрольных точек и их лигандов в крови у пациентов с опухолью толстой кишки / А.В. Четверяков., В.Л. Цепелев //Патологическая физиология и экспериментальная терапия. - 2023. - Т. 67. № 1.- С. 56-62.
7. Четверяков А.В. Прогностическое значение уровня белка CTLA-4 и его лиганда В7.2 у больных раком толстого кишечника / А.В. Четверяков, В.Л. Цепелев //Бюллетень сибирской медицины. - 2023. - Т. 22. № 2. - С. 104-110.

УДК: 616–092.4–008: 612.751.3

Крюкова В.В., Цепелев В.Л., Кочергина Я.В., Доржиева Д.Б.

**ЭКСПРЕССИЯ БЕЛКА PD-1 ЛИМФОЦИТАМИ ОПУХОЛЕВОГО
МИКРООКРУЖЕНИЯ У БОЛЬНЫХ С КОЛОРЕКТАЛЬНЫМ РАКОМ**

ФГБОУ ВО Читинская государственная медицинская академия, Чита, Россия

Резюме. Определен уровень экспрессии белка PD-1 лимфоцитами у больных раком толстой кишки. Показано, что у пациентов с колоректальным раком ко-ингибирующая иммунная контрольная точка PD-1 имеет патогенетическое значение в формировании опухолевой иммуносупрессии. Зарегистрировано увеличение уровня экспрессии белка PD-1 как CD4+Т-лимфоцитами, так цитотоксическими Т-лимфоцитами в регионарных лимфатических узлах. Показано увеличение экспрессии PD-1 Т-хелперами опухолевого микроокружения.

Ключевые слова: колоректальный рак, лимфоциты, белок PD-1.

Kryukova V.V., Tsepelev V.L., Kochergina Ya.V., Dorzhieva D.B.

**PD-1 PROTEIN EXPRESSION BY TUMOR MICROENVIRONMENT
LYMPHOCYTES IN COLORECTAL CANCER PATIENTS**

Chita State Medical Academy, Chita, Russia

Abstract. The level of PD-1 protein expression by lymphocytes in patients with colon cancer was determined. It was shown that in patients with colorectal cancer, the co-inhibitory immune checkpoint PD-1 has a pathogenetic significance in the formation of tumor immunosuppression. An increase in the level of PD-1 protein expression by both CD4+ T-lymphocytes and cytotoxic T-lymphocytes in regional lymph nodes was registered. An increase in PD-1 expression by T-helpers of the tumor microenvironment was shown.

Key words: colorectal cancer, lymphocytes, PD-1 protein.

Актуальность. Колоректальный рак (КРР) занимает третье место в мире по смертности среди злокачественных новообразований [1]. Исследования последних лет показали, что злокачественные опухоли могут «ускользнуть» от иммунного надзора. Эта способность осуществляется через использование клетками «иммунных контрольных точек» (ИКТ, immune control points), одной из которых является белок запрограммированной клеточной гибели (Programmed cell death-1, PD-1, CD279) [2]. Роль PD-1 заключается в регулировании Т-клеточного ответа путем угнетения эффекторных функций Т-лимфоцитов. Для реализации своих функций PD-1 взаимодействует со своими лигандами PD-L1 (Programmed cell death ligand 1, B7-H1, CD274) и PD-L2 (Programmed cell death ligand 2, B7-DC, CD273). Взаимодействие PD-1 с лигандами PD-L1 и PD-L2 запускает процесс апоптоза CD8⁺ цитотоксических Т-лимфоцитов.

В исследованиях микроокружения опухоли у пациентов с меланомой отмечается высокая экспрессия PD-1 на Т-клетках, что подтверждает роль PD-1 в канцерогенезе [3]. Показано, что снижение количества CD8⁺Т-клеток в ткани новообразования у пациентов раком лёгкого происходит на фоне высокой экспрессии PD-L1 на клетках опухоли. Эти

данные свидетельствуют о вовлечении оси PD-1/PD-L1 в канцерогенез рака лёгкого путём формирования иммуносупрессивной среды и снижения активности цитотоксических лимфоцитов [4]. Исследований, свидетельствующих о роли PD-1 в формировании опухолевой иммуносупрессии у больных раком толстой кишки недостаточно, часть из них противоречива [5, 6].

Целью работы явилось изучение уровня экспрессии белка PD-1 Т-лимфоцитами опухолевого микроокружения как в опухолевой ткани, так и в регионарных лимфатических узлах у больных раком толстой кишки.

Методы исследования. Основную группу наблюдения составили 105 больных раком толстой кишки III стадии, проходившие лечение в Краевом онкологическом диспансере г. Читы, из них у 93 (88,6%) имел место рак ободочной кишки, у 12 (11,4%) – прямой кишки. Критерии включения: согласие пациента, наличие рака толстой кишки, первичный статус заболевания. Критерии исключения: пациенты с положительным ВИЧ-статусом; аутоиммунными заболеваниями; вирусными и бактериальными инфекциями; хроническими воспалительными заболеваниями кишечника; больные, проходившие курс химиотерапевтического или лучевого лечения перед оперативным пособием. У 3 (2,9%) пациентов наблюдалась IIIA стадия, у 63 (60,0%) – IIIB, у 39 (37,1%) – IIIC стадия. При гистологическом исследовании ткань опухоли была представлена в 8-и случаях (7,6%) – высокодифференцированной аденокарциномой (G1); 88 случаях (83,8%) умереннодифференцированной аденокарциномой (G2); в 9-и случаях (8,6%) – низкодифференцированной аденокарциномой (G3).

В контрольную группу вошли 75 пациентов, оперированные в ГУЗ «Краевая клиническая больница» г. Читы, которым выполнена пластика колостомы, сформированной ранее по поводу травмы или неопухолевых заболеваний, а также резекция толстой кишки по поводу дивертикулярной болезни или врожденной аномалии развития толстой кишки.

Для получения клеточной суспензии, фрагменты опухолевой ткани и лимфатических узлов измельчали и гомогенизировали в гомогенизаторе GentleMACSDissociator (Miltenyi BiotecGmbH, Германия) с пробирками С типа и с использованием набора реагентов TumorDissociationKit (Miltenyi BiotecGmbH, Германия). Полученную суспензию клеток фильтровали через капроновый фильтр размером ячеек 70 мкм (Miltenyi BiotecGmbH, Германия). Для выявления основных популяций лейкоцитов, субпопуляций лимфоцитов и опухолевых клеток применяли моноклональные антитела, конъюгированные с флуорохромами (Beckman Coulter, США). Анализ образцов проводили на проточном цитофлуориметре CytOFLEX LX (Beckman Coulter, США). Обработку цитофлуориметрических данных проводили при помощи программ CytExpert software v.2.0 и Kaluza™ v.2.1.1 (Beckman Coulter, США). В каждом образце анализировали не менее 1000000 событий.

Нормальность распределения количественных признаков оценивали с помощью критерия Шапиро-Уилка. Ранговый анализ вариаций выполняли по Краскелу-Уоллису (H). Затем, при наличии статистически значимых различий, с учетом поправки Бонферрони, проводили попарное сравнение с помощью критерия Манна-Уитни. Для определения корреляционных связей между исследуемыми параметрами использовали коэффициент Спирмена. Значимыми считали отличия при $p < 0,05$. Статистическую

обработку результатов исследования осуществляли с помощью пакета программ IBM SPSS Statistics Version 25.0 (International Business Machines Corporation, США).

Результаты исследования. Установлено, что у больных раком толстой кишки в опухолевой ткани 53,2% [41,5; 72,3] CD3⁺CD4⁺лимфоцитов экспрессировали на своей поверхности PD-1, что превышало данный показатель контрольной группы в 1,8 раза (30,1% [20,2; 36,6]) ($p < 0,001$). В ткани регионарных лимфатических узлов наблюдалась такая же динамика. Так, 46,9% [33,5; 62,9] CD4⁺T-лимфоцитов экспрессировали белок PD-1, что превышало значения контрольной группы в 1,5 раза ($p < 0,001$).

Установлено, что CD8⁺T-лимфоциты регионарных лимфатических узлов больных раком толстой кишки в 41,8% [26,2; 51,2] случаев экспрессировали на своей поверхности белок PD-1, что превышало данный показатель контрольной группы в 2,2 раза ($p < 0,001$). Достоверных различий уровня экспрессии PD-1 цитотоксическими T-лимфоцитами в опухолевой ткани у больных КРР и пациентов контрольной группы не обнаружено ($p = 0,443$).

Вывод. У больных с колоректальным раком происходит увеличение уровня экспрессии белка PD-1 как CD4⁺T-лимфоцитами, так цитотоксическими T-лимфоцитами в регионарных лимфатических узлах. Зарегистрировано увеличение экспрессии PD-1 T-хелперами в ткани опухоли.

Список литературы:

1. Chhikara B.S. Global Cancer Statistics 2022: the trends projection analysis / B.S., Chhikara, K. Parang // *Chemical Biology Letters*. - 2023. - Т. 10. - №. 1. - P. 451 - 458.
2. Liposomal Co-delivery of PD-L1 siRNA/Anemoside B4 for Enhanced Combinational Immunotherapeutic Effect / X. Li, X. Zhou, J. Liu et al. - DOI [10.1021/acsami.2c01123](https://doi.org/10.1021/acsami.2c01123) // *ACS Applied Materials & Interfaces*. - 2022. - Vol. 14 (25). - P. 28439-28454.
3. Mechanisms of immune activation and regulation: lessons from melanoma / S. Kalaora, A. Nagler, J.A. Wargo et al. - DOI [10.1038/s41568-022-00442-9](https://doi.org/10.1038/s41568-022-00442-9) // *Nature Reviews Cancer*. - 2022. - Vol. 22 (4). - P. 195-207.
4. Imakita T. Pulmonary Lymphangitis Carcinomatosa Mimicking Immunotherapy-Related Interstitial Pneumonitis: A Case Report / T. Imakita, K. Fujita, O. Kanai. - DOI [10.1159/000525800](https://doi.org/10.1159/000525800) // *Case Reports in Oncology*. - 2022. - Vol. 15 (2). - P. 732-737.
5. Четверяков А.В. [Уровень ко-ингибирующих иммунных контрольных точек в ткани опухоли у пациентов с новообразованиями толстой кишки](#) / А.В. Четверяков, В.Л. Цепелев // [Молекулярная медицина](#). - 2023. - Т. 21. № 1. - С. 56-60.
6. Четверяков А.В. [Концентрация ко-ингибирующих иммунных контрольных точек и их лигандов в крови у пациентов с опухолью толстой кишки](#) / А.В. Четверяков., В.Л. Цепелев // [Патологическая физиология и экспериментальная терапия](#). - 2023. - Т. 67. № 1.- С. 56-62.

УДК: 616-006.81.04

Лапкина Е.З.

ОВЕРЭКСПРЕССИЯ MIR-204-5P ИНДУЦИРУЕТ ДИССЕМИНАЦИЮ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК МЕЛАНОМЫ B16 В ЛЕГКИЕ МЫШЕЙ C57BL6

ФГБОУ ВО Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф.Войно-Ясенецкого Минздрава России, Красноярск, Россия

Резюме. Исследование об особенностях экспрессии белка меланоцитов PMEL в органах мишенях метастазирования модели меланомы *in vivo* при сочетанном применении цитостатического дакарбазина и миметика miR-204-5p. Мышам линии C57Bl6 перевивали культуру клеток меланомы B16 и осуществляли экспериментальную терапию. В дистантных органах иммуногистохимически исследовали уровень экспрессии маркера меланоцитов PMEL. Уровень экспрессии PMEL в тканях легких возрастает в 2 раза в группе применения дакарбазина ($p = 0,014$) и возрастает в 4,2 раза в группе сочетанного применения дакарбазина и миметика miR-204-5p ($p = 0,001$). Таким образом, повышается диссеминация клеток меланомы в дистантных органах метастазирования.

Ключевые слова: меланома B16, дакарбазин, микроРНК, pmel.

Lapkina E.Z.

MIR-204-5P OVEREXPRESSION INDUCES IN THE DISSEMINATION MELANOMA B16 CELLS DISSEMINATION IN LUNGS OF C57BL6 MICE

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education Krasnoyarsk State Medical University named after Prof. V.F. Voino-Yasenetsky, Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Krasnoyarsk, Russia

Abstract. This study investigates the expression characteristics of the melanocyte protein PMEL in the target organs of metastasis within a melanoma model *in vivo*, utilizing the cytostatic agent dacarbazine in conjunction with a miR-204-5p mimetic. C57Bl6 mice were transplanted with melanoma B16 cell cultures, followed by experimental therapy. The expression levels of the melanocyte marker PMEL in distant organs were examined immunohistochemically. PMEL expression in lung tissues increased twofold in the dacarbazine group ($p = 0.014$) and 4.2-fold in the group receiving both dacarbazine and miR-204-5p mimetic ($p = 0.001$). Consequently, the dissemination of melanoma cells in distant metastatic organs is enhanced.

Key words: melanoma B16, dacarbazine, microRNA, PMEL.

Меланома кожи является злокачественным заболеванием с высоким риском множественного метастазирования и развитием лекарственной устойчивости. Дакарбазин – стандартный цитостатический препарат с механизмом алкилирующего действия, который используется базовым противоопухолевым препаратом в лечении меланомы кожи [1].

МикроРНК – малые некодирующие РНК, обладающие способностью регулировать экспрессию генов-мишеней [2]. С онкосупрессорной функцией в развитии меланомы кожи связывают высокие уровни микроРНК miR-204-5p в опухолевых клетках. Имеющиеся

исследования указывают на возможное целевое воздействие на miR-204-5p в качестве терапевтической мишени при прогрессии опухоли [3]. Сочетанное применение дакарбазина с миметиком miR-204-5p как регулятором эпигенетических изменений в опухолевых клетках может быть перспективным решением при лечении диссеминированных форм меланомы кожи. В представленном исследовании осуществлена визуализация клеток меланомы в дистантных органах на модели *in vivo* после воздействия дакарбазином в сочетании с миметиком miR-204-5p.

Цель исследования: визуализация клеток меланомы в дистантных органах-мишенях (легкие, печень) на модели меланомы кожи B16 мышей линии C57Bl/6 при сочетанном применении цитостатического препарата дакарбазина и трансфекции миметика miR-204-5p с целью оценки влияния вышеуказанных веществ на развитие метастазирования.

Исследование одобрено локальным этическим комитетом Красноярского государственного медицинского университета им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого 116/2022 от 27.12.2022. Экспериментальные исследования на лабораторных животных осуществляли в соответствии с Международным этическим кодексом по проведению медико-биологических исследований с использованием животных и Правилами надлежащей лабораторной практики, утвержденными приказом Министерства здравоохранения РФ от 1 апреля 2016 г. № 199н [4].

Эксперимент по созданию модели меланомы кожи проводили на половозрелых мышах-самках линии C57Bl/6 в возрасте 7-8 недель со средней массой тела 16,5 г. Животные были предоставлены НИЦ «Курчатовский институт» «ПЛЖ «Рапполово». Модель меланомы линии B16 производили путем подкожного введения в боковую поверхность туловища 1×10^6 суспензии клеток до формирования солидной опухоли в размере 20 мм. Впоследствии ткань сформировавшегося опухолевого узла массой 1 г промывали стерильной средой 199 с солями Хенкса и L-глутамином и гомогенизировали с раствором Хенкса (1:10). Далее производили трансплантацию солидной опухоли меланомы линии B16 животным путём подкожного введения в боковую поверхность туловища 0,5 мл суспензии опухолевых клеток в концентрации $1,5 \times 10^6$.

Животные были разделены на группы случайным образом на 7 сутки после определения пальпируемого опухолевого узла меланомы. Животным контрольной группы «PBS» (n=12) на 8-е, 10-е, 12-е сутки после трансплантации опухолевых клеток внутрибрюшинно вводили раствор фосфатно-солевого буфера (VWR Radnor, USA) объемом 250 мкл. Животным первой опытной группы «DTIC» вводили (n=12) дакарбазин в дозировке 50 мг/кг массы мыши в 250 мкл фосфатно-солевого буфера. Животным второй опытной группы «NC+DTIC» (n=12) вводили дакарбазин в дозировке 50 мг/кг массы мыши в 250 мкл фосфатно-солевого буфера в сочетании с введением 5 нМоль негативного контроля. Животным третьей опытной группы «MIMIC+DTIC» (n=12) вводили дакарбазин в дозировке 50 мг/кг массы мыши в 250 мкл фосфатно-солевого буфера в сочетании с введением 5 нМоль имитатора микроРНК miR-204-5p.

На 14 сутки после эвтаназии животных фрагменты органов метастазирования мышшиной перевиваемой меланомы (легкие и печень) исследовали с помощью лупы на наличие метастазов и далее фиксировали в 10% нейтральном забуференном формалине. Выбор органов для исследования обусловлен особенностями метастазирования перевиваемой

линии меланомы В16 [5]. Через 24 часа фрагменты тканей подвергали стандартной гистологической проводке. Срезы для иммуногистохимического исследования окрашивали по общепринятой методике непрямого иммунопероксидазного анализа с использованием системы детекции Mouse and Rabbit specific HRP/AEC IHC Detection Kit. Уровень экспрессии PMEL определяли путем подсчета клеток, имеющих положительно окрашенные ядра, при увеличении 400 с помощью микроскопа Olympus BX-41.

По результатам макроскопического исследования легких и печени мышей не было выявлено метастазирования меланомы ни в одной экспериментальной группе животных. По данным иммуногистохимического исследования клетки, содержащие PMEL, обнаружены в тканях легких у животных всех экспериментальных групп и в тканях печени мышей групп PBS и сочетанного применения дакарбазина и миметика miR-204-5p. Известно, что метастазирование клеток в модели меланомы В16 начинается в легких, а затем вторично из легких мышей клетки меланомы мигрируют в другие органы, такие как печень и почки.

Уровень экспрессии PMEL в тканях легких возрастает в 2 раза в группе применения дакарбазина ($p = 0,014$) и возрастает в 4,2 раза в группе сочетанного применения дакарбазина и миметика miR-204-5p ($p = 0,001$) (Рис. 1). В тканях печени мышей в группах с применением дакарбазина и сочетанного применения дакарбазина и негативного контроля PMEL не обнаружен, в печени мышей в группе PBS уровень экспрессии PMEL составляет $0,70 \pm 0,30$, в группе сочетанного применения дакарбазина и миметика уровень экспрессии составляет $1,40 \pm 0,56$.

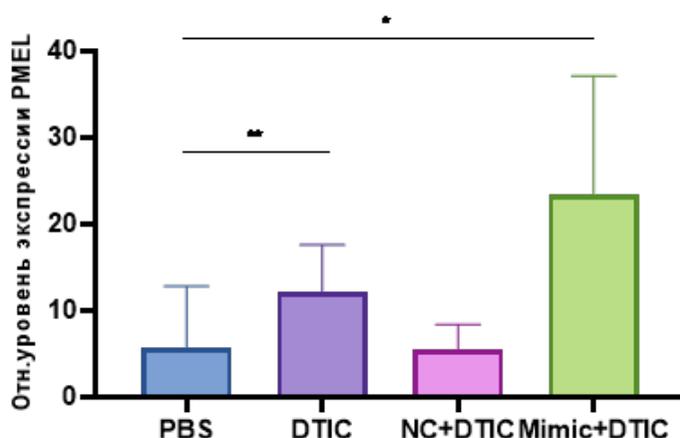


Рис.1. Уровень экспрессии PMEL в легких мышей C57Bl/6 после воздействия дакарбазином (50 мг/кг) и трансфекции миметика miR-204-5p 5 (нМоль).

Механизм действия цитостатических препаратов, как известно, направлен на повреждение генома и аппарата деления клетки [6]. Геном опухолевых клеток характеризуется нестабильностью и возникающей, в связи с этим, гетерогенностью, которая приводит к лекарственной резистентности. Применение химиотерапевтического препарата дакарбазина может приводить к приобретению инвазивного фенотипа части опухолевых клеток меланомы В16 модели *in vivo*, что приводит к ускорению диссеминации опухолевых клеток в первичные органы метастазирования мышей.

Миметик микроРНК miR-204-5p при сочетанном применении с дакарбазином увеличивает уровень диссеминированных опухолевых клеток в первичных органах метастазирования

легких и печени, что может указывать на роль микроРНК в фенотипическом переключении с пролиферативного на инвазивный фенотип. Полученные экспериментальные данные могут свидетельствовать о способности опухолевых клеток уклоняться от апоптоза при воздействии дакарбазином и успешно диссеминировать в дистантные органы легких и печени мышей.

Таким образом, сочетанное применение миметика микроРНК miR-204-5-p и цитостатического препарата дакарбазина показывает повышенную диссеминацию клеток меланомы в дистантных органах метастазирования, что может быть вызвано эпигенетическим перепрограммированием химиорезистентных опухолевых клеток на пролиферирующий фенотип.

Список литературы:

1. Al-Qatati A. Combined pitavastatin and dacarbazine treatment activates apoptosis and autophagy resulting in synergistic cytotoxicity in melanoma cells / A. Al-Qatati, S. Aliwaini. – DOI: 10.3892/ol.2017.7189 // *Oncol Lett.* – 2017. – Vol. 14(6). – P. 7993-7999. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29344241> (date of the application: 10.08.2024)
2. Рукша Т.Г. МикроРНК как регуляторы эффектов ультрафиолетового излучения в клетках кожи / Т.Г. Рукша, Е.Ю. Сергеева, Н.В. Палкина [et al.]. *Цитология.* – 2016. – Т. 58. – №10. – С. 733 – 743.
3. Palkina N.V. miR 204-5p inhibits apoptosis in dacarbazine-treated melanoma cells / N. V. Palkina, E. Y. Sergeeva, T. G. Ruksha. – *Oncol Researh* – 2022. – Vol. 29(6). –P.393–400. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37304648/> (date of the application: 10.08.2024)
4. International Guiding Principles for Biomedical Research Involving Animals issued by CIOMS. – DOI: 10.1080/01652176.1986.9694068 // *Vet Q.* – 1986. – Vol. 8 (4). P. 350–2.
5. Damsky W.E. Decoding melanoma metastasis / W.E. Damsky, L.E. Rosenbaum, M. Bosenberg. – DOI: 10.3390/cancers3010126 // *Cancers (Basel).* – 2010. – Vol. 3(1). P. 126-63. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24212610> (date of the application: 10.08.2024)
6. Esimbekova A.R., Palkina N.V., Zinchenko I.S., Belenyuk V. D., Savchenko A. A., Sergeeva E.Y., Ruksha T. Focal adhesion alterations in G0-positive melanoma cells / Esimbekova A.R., Palkina N.V., Zinchenko I.S. [et al] // *Cancer Medicine.* –2023. – Vol. 12, №6. P. 7294–7308. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36533319/> (date of the application: 10.08.2024)

УДК 612.22615.23

Лисина С.В., Шахматов И.И., Блажко А.А.

ВЛИЯНИЕ ГИПОКСИИ И КУРСОВОГО ПРИЕМА МЕКСИДОЛА НА РЕАКЦИЮ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА ПРИ ОДНОКРАТНЫХ НАГРУЗКАХ РАЗНОЙ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ

ФГБОУ ВО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава России, Барнаул, Россия

Резюме. Изучалось влияние предварительной гипоксии на фоне курсового приема мексидола на реакцию системы гемостаза при однократных физических нагрузках разной продолжительности. Показано, что данный тренировочный режим, предшествующий однократной 4-часовой физической нагрузке, способствовал нормализации большинства показателей системы гемостаза и приводил к исчезновению маркёров тромбинемии. В случае 8-часовой физической нагрузке, режим способствовал снижению активности тромбоцитарного звена гемостаза, уровня РФМК и повышению антикоагулянтной активности по сравнению с группой контрольных животных.

Ключевые слова: гемостаз, гипоксия, мексидол, физическая нагрузка.

Lisina S.V., Shakhmatov I.I., Blazhko A.A.

THE EFFECT OF HYPOXIA AND COURSE ADMINISTRATION OF MEXIDOL ON THE REACTION OF THE HEMOSTASIS SYSTEM AT SINGLE LOADS OF DIFFERENT DURATION

Altai State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Barnaul, Russia

Abstract. The effect of pre-hypoxia on the background of course administration of mexidol on the reaction of the hemostasis system during single physical exertion of different duration was studied. It was shown that this training regime, preceding a single 4-hour physical activity, contributed to the normalization of most indicators of the hemostasis system and led to the disappearance of markers of thrombinemia. In the case of 8-hour physical activity, the regimen contributed to a decrease in the activity of the platelet link of hemostasis, the level of RFMC and an increase in anticoagulant activity compared with the group of control animals.

Key words: hemostasis, hypoxia, mexidol, physical activity.

Введение. Особое место в физиологии гипоксических состояний занимают исследования, тканевой гипоксии (гипоксии нагрузки) возникающей при напряженной мышечной деятельности. Физическая нагрузка оказывает различное влияние на систему гемостаза в зависимости от интенсивности и продолжительности двигательной активности [8].

Для того, чтобы нивелировать, или, как минимум, снизить неблагоприятные эффекты от воздействия различных факторов, необходимо повышать неспецифическую устойчивость организма с целью формирования так называемого «эффекта адаптированности» [5]. Для достижения этой цели могут быть использованы как немедикаментозные средства в виде

тренировок гипоксией, так и фармакологические препараты.

Дефицит энергии, лежащий в основе любой формы гипоксии, приводит к качественно-однотипным метаболическим и структурным сдвигам в различных органах и тканях: возникновению ацидоза, активации свободно-радикального окисления, повреждению биологических мембран, затрагивающему как липидный бислой, так и мембранные белки [7].

Для медикаментозной коррекции подобных состояний в клинике используется группа фармакологических препаратов метаболического типа действия, среди которых особое место занимает антигипоксикс мексидол [1], представляющий собой сукцинатсодержащее производное 3-оксипиридина (2-этил-6-метил-3-оксипиридина сукцинат) [2].

Исходя из вышеизложенного, **целью работы** явилось изучение влияния предварительной гипоксии и курсового приема мексидола на реакцию системы гемостаза при однократных физических нагрузках разной продолжительности.

Материалы и методы. Исследования выполнены на 60 половозрелых крысах-самцах линии Wistar средней массой $228,0 \pm 36,8$ г. Все экспериментальные животные были разделены на 5 групп: группа интактных животных ($n=20$), а также 2 контрольные и 2 опытные группы по 10 крыс в каждой.

Интактная группа животных находилась на свободном пищевом рационе и не подвергалась каким-либо предварительным воздействиям. Опытные и контрольные группы на протяжении 30 дней ежедневно подвергались: 1-я и 2-я опытные группы - воздействию гипоксии в барокамере, моделирующей нахождение на высоте 7000 м в течение 1 ч, а также введению мексидола (50 мг/кг); 1-я и 2-я контрольные группы в таком же режиме помещались в барокамеру в условиях нормоксии и нормобарии и подвергались введению 0,9 % раствора NaCl в том же объеме, что и мексидол.

На 31-день после завершения тренировочных циклов в вышеописанных режимах все опытные и контрольные группы животных подвергались однократному тестовому стрессорному воздействию (физическая нагрузка в виде навязанной ходьбы в тредбане со скоростью 6–8 м/мин; 1-я - на протяжении 4 часов, 2-я - 8 часов).

Моделирование гипоксии осуществлялось в барокамере приточно-вытяжного типа в течение 1 ч при разрежении 41,105 кПА (308,3 мм рт. ст.), что соответствовало подъему на высоту 7000 м [3]. Животные контрольных групп находились в течение того же времени в барокамере, но в условиях проточной системы подачи воздуха и обычного атмосферного давления.

Оба тренировочных режима с использованием гипоксии проводили на фоне ежедневного введения фармакологического препарата - антигипоксиксанта «Мексидол» (50 мг/кг) («Фармасофт», Москва). Препарат вводили экспериментальным животным внутрибрюшинно в течение 30 дней ежедневно, объем введения для каждой крысы был индивидуален и был рассчитан исходя из массы тела. Дозы препаратов для крыс рассчитывали на основании среднетерапевтических доз для человека методом экстраполяции данных с применением констант биологической активности [4] из расчета 5 мг на 100 г массы тела животного.

До проведения опытов для адаптации к условиям вивария все крысы на протяжении недели находились в стандартных условиях содержания. Использование крыс

осуществляли в соответствии с Европейской конвенцией по охране позвоночных животных, используемых в эксперименте, и Директивами – 86/609/ЕЕС. Обезболивание и умерщвление животных проводили в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» [6].

Кровь для исследования у животных забиралась сразу после окончания однократного воздействия 4- и 8-часовой физической нагрузки по завершении 30-дневных предварительных тренировочных циклов.

Забор крови у всех групп животных выполняли на фоне наркотизации путём внутрибрюшинного введения раствора золетила в дозе 5 мг/100 г.

Результаты работы. Однократное 4-часовое воздействие физической нагрузки после тренировочного режима гипоксии и мексидола, по сравнению с группой контрольных животных, сопровождалось гипокоагуляцией по внутреннему и внешнему путям свертывания крови (увеличение АПТВ на 8 % ($p < 0,01$) и протромбинового времени на 13 % ($p < 0,001$)). Кроме того, наличие предварительного тренировочного цикла приводило к снижению РФМК на 14 % ($p < 0,001$) и повышению уровня АТ III (на 15 % ($p < 0,01$)) в ответ на однократную физическую нагрузку.

По сравнению с данными, полученными у интактных животных, отмечалось лишь угнетение агрегационной активности тромбоцитов на 40 % ($p < 0,01$).

8-часовое однократное воздействие физической нагрузки после тренировочного режима гипоксии и мексидола по сравнению с контрольной группой сопровождалось снижением агрегационной функции тромбоцитов на 11 % ($p < 0,001$) и концентрации РФМК на 25 % ($p < 0,01$). Важно отметить рост уровня АТ III на 9 % ($p < 0,001$) без изменения гепаринкофакторной активности плазмы крови. Со стороны плазменного звена системы гемостаза и фибринолитической системы изменений зарегистрировано не было.

В отличие от интактных животных опытных крыс состояние коагуляционного звена гемостаза характеризовалось гиперкоагуляцией по внутреннему пути и на конечном этапе свертывания (укорочением активированного тромбопластинового времени (АПТВ) на 22 % ($p < 0,05$) и укорочением времени полимеризации фибрин-мономерных комплексов (ВПФМ) на 21 % ($p < 0,001$)). В плазме крови было зафиксировано снижение концентрации фибриногена на 35 % ($p < 0,001$) и повышение уровня РФМК на 62 % ($p < 0,01$). Со стороны антикоагулянтной активности наблюдалось снижение концентрации АТ III на 12 % ($p < 0,001$) и антитромбинового резерва плазмы (АРП) на 13 % ($p < 0,001$), а также угнетение фибринолитической системы крови на 62 % ($p < 0,01$).

Обсуждение

Анализ показателей, оценивающих состояние системы гемостаза опытных животных в ответ на 4-часовую физическую нагрузку по прошествии ежедневного 30-кратного тренировочного цикла, моделирующего гипоксию на фоне введения антигипоксанта выявлял тенденцию к формированию гипокоагуляционных сдвигов, а также к исчезновению большинства маркёров тромбинемии по сравнению с интактной группой. Данная гемостазиологическая картина может быть расценена как проявление состояния завершённой перекрестной адаптации к гипоксическому воздействию в ходе однократной физической нагрузки.

8-часовая физическая нагрузка после завершения 30-дневного тренировочного цикла

гипоксии сильной интенсивности на фоне мексидола по сравнению с интактной группой приводила к восстановлению активности тромбоцитарного звена гемостаза. Со стороны коагуляционного звена нормализация параметров до уровня интактных животных не произошла. Кроме того, концентрация РФМК оставалась еще чрезмерно высокой, по сравнению с данными интактной группы. Однако, стоит отметить, что отмечается повышение антикоагулянтной активности при низкой фибринолитической активности. Таким образом, полной долговременной адаптации к столь сильному стрессору зафиксировано не было.

Выводы. Предварительные тренировки гипоксией сильной интенсивности на фоне введения мексидола, предшествующие однократной 4-часовой физической нагрузке, способствуют исчезновению риска развития тромботической готовности, зафиксированного при аналогичной физической нагрузке без предшествующей тренировки. При этом, сочетанный режим тренировок гипоксией и антигипоксантом, предшествующий однократной 8-часовой физической нагрузке, полностью риск тромбообразования не устранял.

Список литературы:

1. Александров О.В., Стручков П.В., Веницкая Р.С. и др. Клинико-функциональный эффект курса интервальной нормобарической гипокситерапии у больных хроническим обструктивным бронхитом и бронхиальной астмой // Терапевтический архив. 1999. № 3. С. 28–32.
2. Левченкова О.С., Новиков В.Е. Индукторы регуляторного фактора адаптации к гипоксии // Российский медико-биологический вестник имени академика И.П. Павлова. 2014. № 2. С. 134-143.
3. Мамадалиева Н.И., Саатов Т.С., Хайбуллина З.Р., Умеров О.И. Влияние фармакоррекции на активность ферментов защиты от активных форм кислорода в сердце при адаптации к гипоксии различной интенсивности и длительности // Вестник Новосибирского государственного педагогического университета. 2014. Т. 17, № 1. С. 221-229.
4. Хабриев Р.У. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. М.: Изд-во ОАО Медицина, 2005. 832 с.
5. Шевченко Ю.Л. Гипоксия. Адаптация, патогенез, клиника. С-П.: Изд-во Элби-СПб, 2000. 384 с.
6. Council Directive of 24 November 1986 on the Approximation of Laws, Regulations of the Member States Regarding the Protection of Animals Used for Experimental and Other Purposes Directive (86/609/EEC). Official Journal of the European Communities L. 262: 1–29.
7. Gibson O.R., Taylor L., Watt P.W., Maxwell N.S. Cross-Adaptation: Heat and Cold Adaptation to Improve Physiological and Cellular Responses to Hypoxia // Sports Med. 2017. Т. 47, № 9. P. 1751-1768.
8. Wolberg, A.S. Procoagulant activity in hemostasis and thrombosis: Virchow's triad revisited / A.S. Wolberg, M.M. Aleman, K. Leiderman // Anesthesia and Analgesia. - 2012; 114 (11): 275-285. DOI: 10.1213/ANE.0b013e31823a088c.

УДК: 61-13058

Литвинцева К.А., Обыденко К.Ю., Якименко М.А., Обыденко В.И., Баясхаланова Ц.Б.
ВЛИЯНИЕ ПОВЕРХНОСТНО-АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ, ВХОДЯЩИХ В СОСТАВ ЗУБНЫХ ПАСТ, НА ПОВРЕЖДЁННЫЕ СЛИЗИСТЫЕ ОБОЛОЧКИ ПОЛОСТИ РТА У ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ
Читинская государственная медицинская академия, Чита

Резюме. В исследовании оценивалось влияние различных зубных паст на заживление поврежденной слизистой рта у крыс. Результаты показали, что пасты с лаурилсульфатом натрия (SLS) значительно замедляют процесс регенерации и усугубляют воспалительные изменения, в то время как пасты с бетаином не оказывают негативного воздействия. На седьмые сутки у крыс, использовавших пасты с SLS, наблюдались язвенные дефекты и выраженный лейкоцитарный инфильтрат, тогда как в группах с бетаином была отмечена полная эпителизация. Гистологическое исследование отмечает наличие грануляционной ткани с преобладанием лимфоцитов у животных, использовавших пасты без SLS. Результаты исследования подчеркивают необходимость выбора зубных паст для людей с чувствительной слизистой рта, рекомендуя избегать тех, которые содержат SLS.

Ключевые слова: слизистая оболочка, полость рта, зубная паста, поверхностно-активное вещество.

Litvintseva K.A., Obydenko K.Yu., Yakimenko M.A., Obydenko V.I., Bayaskhalanova Ts.B.
EFFECT OF SURFACTANTS INCLUDED IN TOOTHPASTES ON DAMAGED MUCOUS MEMBRANES OF THE ORAL CAVITY IN EXPERIMENTAL ANIMALS
Chita State Medical Academy, Chita

Resume. The study assessed the effect of different toothpastes on the healing of damaged oral mucosa in rats. The results showed that pastes with sodium lauryl sulfate (SLS) significantly slow down the regeneration process and worsen inflammatory changes, while pastes with betaine do not have a negative effect. On the seventh day, rats using pastes with SLS showed ulcerative defects and a pronounced leukocyte infiltrate, while complete epithelialization was noted in the betaine groups. Histological examination noted the presence of granulation tissue with a predominance of lymphocytes in animals using pastes without SLS. The results of the study emphasize the need to choose toothpastes for people with sensitive oral mucosa, recommending to avoid those containing SLS.

Key words: mucous membrane, oral cavity, toothpaste, surfactant.

Введение. Поверхностно-активные вещества (ПАВ), используемые в составе многих зубных паст, предназначены для повышения качества продукта. Так, например, лаурилсульфат натрия (SLS) — натриевая соль лаурилсерной кислоты, анионоактивное поверхностно-активное, амфифильное вещество, которое применяющееся в промышленности, как чистящее и смачивающее средство при производстве моющих средств, шампуней, зубной пасты, косметики для образования пены [4]. Еще одним

распространенным компонентом, в роли поверхностно-активного вещества используемых в промышленности является бетаин или триметиламиноуксусная кислота (внутренняя соль). Он применяется в качестве лекарственного средства, пищевой добавки и как катализатор в проведении некоторых биохимических тестов (например, в полимеразной цепной реакции). Бетаин является хорошим увлажнителем и осмопротектором, защищая клетки от дегидратации, поэтому используется в кремах и масках [1]. Из-за высокой способности повышать текучесть композиций бетаин подходит для использования в косметических средствах, в том числе зубных пастах. Существуют различные мнения о воздействии поверхностно-активных веществ на организм в зависимости от их происхождения, химического строения [2]. Поскольку ткани ротовой полости часто подвержены травмам, важно исследовать влияние ПАВ на поврежденную слизистую оболочку и оценить степень их влияния на регенерацию [3].

Целью исследования является анализ процесса восстановления травмированной слизистой оболочки ротовой полости при использовании зубных паст, содержащих лаурилсульфат натрия (SLS) и бетаин.

Материалы и методы. Эксперимент проводился на белых половозрелых крысах, содержащихся в стандартных условиях вивария, на однотипном рационе сухого сбалансированного корма. Травму слизистой оболочки полости рта вызывали путем однократного введения 0,1 мл 50% уксусной кислоты в область нижней губы, в результате чего формировался химический ожог, соответствующий по морфологическим критериям II степени. Затем крыс разделили на три экспериментальные группы по шесть особей в каждой. В первой и второй группе применялись зубные пасты, которые наряду со стандартными компонентами содержали различные поверхностно-активные вещества: в первой группе - SLS; во второй — бетаин; третья группа — без применения зубных паст. Контрольной группой служили 3 крысы без каких-либо воздействий. Пасту наносили на поверхность поврежденной слизистой губы. Визуальное наблюдение за процессом восстановления слизистой проводилось в течение 10 дней. В этот период оценивали степень выраженности отека, площадь дефекта слизистой, сроки эпителизации. После чего у всех животных под эфирным наркозом иссекали поврежденный участок нижней губы для гистологического исследования. Проведя предварительную подготовку, полученные препараты окрашивали гематоксилином-эозином, а интерпретация результатов проводилась с использованием программного обеспечения МЕКОС. Статистический анализ был проведен с помощью непараметрического метода по Манна-Уитни, статистическая значимость $p < 0,005$, где p - сравнение 1-ой группы с контролем, p_1 – сравнение 2-ой группы с контролем, p_2 - 3-ей группы с контролем, p_3 – сравнение 1-ой и 2-ой экспериментальных групп, p_4 - сравнение 1-ой и 3-ой экспериментальных групп, p_5 - сравнение 2-ой и 3-ей экспериментальных групп.

Результаты. В первый день после травмы визуально у всех экспериментальных групп крыс наблюдался отек нижней губы и области щеки 7 ± 1 мм ($p, p_1, p_2 < 0,001$ по сравнению контрольной группой; при межгрупповом сравнении экспериментальных групп статистически значимой разницы не было ($p_3, p_4, p_5 > 0,05$). На третий день формировался язвенно-некротический дефект слизистой, с сохранением отека. На пятый день у животных из второй и третьей групп площадь повреждения уменьшалась, отек снижался до 4 ± 1 мм

(p_3 , $p_4 < 0,05$, $p_5 > 0,05$), однако пальпация в области повреждения оставалась болезненной. В первой группе площадь повреждения была визуально больше по сравнению с животными 2 и 3 группы, отек, гиперемия и болезненность сохранялись. К седьмым суткам у крыс второй и третьей групп происходило восстановление поврежденного участка, за счет эпителизации, тогда как в первой группе этого не происходило и к десятым суткам. При гистологическом исследовании на 10 сутки в 1-ой экспериментальной группе наблюдалось сохранение язвенного дефекта, на дне язвы отмечался фибрин, вокруг смешанный лейкоцитарный инфильтрат, содержащий преимущественно нейтрофилы, единичные эозинофилы и лимфоциты. Общая протяженность дефекта при микроскопическом исследовании составила 5 ± 1 мм с минимальной эпителизацией. Во второй и третьей группе гистологическая картина была практически идентична друг другу: полная эпителизация, подлежащая соединительно-тканная основа представлена грануляционной тканью с выраженным сосудистым компонентом, клеточная инфильтрация была представлена преимущественно лимфоцитами, плазмócитами, также единичными нейтрофилами, эозинофилами. Помимо этого, наблюдалось разрастание коллагеновых волокон, диффузно расположенные фибробласты, единичные фиброциты. При анализе гистологического препарата у одного из животных второй группы сохранялся очаг острого воспаления: в ядре которого отмечалось скопление нейтрофилов, по периферии волокна коллагена, фибробласты.

Выводы. Выбор зубной пасты может существенно влиять на процесс восстановления поврежденной слизистой рта. Пасты с лаурилсульфатом натрия могут усугублять воспалительные процессы и замедлять заживление, в то время как пасты с бетаином подобного эффекта не оказывают, их применение на процессы регенерации слизистой рта не влияют. Таким образом, людям с чувствительной или поврежденной слизистой рекомендуется избегать зубных паст, содержащих SLS.

Список литературы:

1. Верещагин А. Л., Морозова Е. А. Химия и технология наполненных гидрогелей для создания альгинатных косметических масок (обзор) //Южно-Сибирский научный вестник. – 2020. – №. 5. – С. 12-31.
2. Иванов В. Н., Улитовский С. Б., Глазова Н. В. Обоснование роли многокомпонентных активных ингредиентов зубных паст в профилактике заболеваний пародонта // Институт стоматологии. – 2006. – №. 1. – С. 64-69.
3. Муртазаев С. С. и др. Особенности течения острых и хронических травм слизистой оболочки полости рта у детей //Вестник науки и образования. – 2021. – №. 17-2 (120). – С. 120-126.
4. Оксюзян А. В., Соловьев А. А., Шумейко А. М. Отрицательное воздействие лаурилсульфат натрия-очищающего компонента зубных паст, на слизистую оболочку полости рта //Российская стоматология. – 2014. – Т. 7. – №. 1. – С. 34-36.

УДК: 61-13058

Лобанов С.Л., Паздникова Д.В., Мнацакян А.Е., Маниковская Т.М., Сердцев М.И.,
Баясхаланова Ц.Б.

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПОЛИПОВ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ У МАЛЫХ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ

Читинская государственная медицинская академия, Чита

Резюме. Проведено исследование, в ходе которого определялась роль белка S100 у крыс больных полипозным риносинуситом в формировании клеточной инфильтрации эпителия носовой полости и носоглотки. Посредством морфологического и иммуногистохимического анализа проводили оценку инфильтрации лимфоцитов, нейтрофилов и эозинофилов в строме, прилегающей к респираторному эпителию, а также определяли паттерн и массивность экспрессии белков S100. В ходе исследования было выявлено, что увеличение числа эозинофилов в полипах носа сопровождается ростом нейтрофилов и лимфоцитов, а также снижением экспрессии белка S100.

Ключевые слова: белки S100, паттерн, полипозный риносинусит, клеточная инфильтрация.

Lobanov S.L., Pazdnikova D.V., Mnatsakanyan A.E., Manikovskaya T.M., Serdtsev M.I.,
Bayaskhalanova Ts.B.

MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS OF POLYPS IN AN EXPERIMENT IN SMALL LABORATORY ANIMALS

Chita State Medical Academy, Chita

Resume. We conducted a study in which we sought to determine the role of the s100 protein in rats with polypous rhinosinusitis in the formation of cellular infiltration of the epithelium of the nasal cavity and nasopharynx. By means of morphological and immunohistochemical analysis, the infiltration of lymphocytes, neutrophils and eosinophils in the stroma adjacent to the respiratory epithelium was evaluated, and the pattern and massiveness of S-100 protein expression were determined. During the study, it was found that an increase in the number of eosinophils in nasal polyps is accompanied by an increase in neutrophils and lymphocytes, as well as a decrease in the expression of the S100 protein.

Key words: s100 proteins, pattern, polypous rhinosinusitis, cellular infiltration.

Актуальность. S100 являются семейством кальций-связывающих белков, которые экспрессируются в различных типах клеток лимфоидных и миелоидных линий. Было доказано, что S100 участвуют в патогенезе фиброзных, воспалительных и аутоиммунных расстройств, а также индуцируют и стимулируют метастазирование опухолей. Однако их роль при хроническом риносинусите с носовыми полипами остается неясной. Были проведены исследования, в которых повышенные уровни S100A8, S100A9 и S100A8/A9 были продемонстрированы в носовых полипах пациентов по сравнению с таковыми в нижних носовых раковинах пациентов с безполипозным риносинуситом [4]. Более того, белки S100 могут индуцировать экспрессию и секрецию провоспалительных цитокинов

и стимулировать активацию различных процессов с помощью провоспалительных путей. Исследователи приводят статистику, согласно которой уровни S100 в сыворотке положительно коррелировали с количеством и процентом эозинофилов в тканях и периферической крови, но не объясняется их роль в инфильтрации нейтрофилов и лимфоцитов [3,4].

Цель: сравнить показатели клеточной инфильтрации и белка S100 у крыс с полипозным риносинуситом.

Материалы и методы: в поисковом исследовании участвовало 12 крыс линии WISTAR, средний возраст особей – 18-20 недель, вес – 200-300 грамм, находившихся в условиях 12-часового цикла свет-темнота при $23 \pm 3^\circ\text{C}$ и имели свободный доступ к пище и воде. Животных вводили под ингаляционный наркоз и осуществляли забор материала с носовой полости и носоглотки на морфологическое (окраска гематоксилинэозин) и иммуногистохимическое (окраска стрептавидин-биотин-пероксидазным) исследование с использованием кроличьих моноклональных антител к белку S-100 (abcam, 16669, Кембридж, Великобритания) в разведении 1:100. В исследование включены образцы тканей, имеющие одиночные или множественные полипы. Все образцы были разделены на 2 группы в зависимости от числа эозинофилов на 1 мм² ткани полипа. Оценку инфильтрации лимфоцитов, нейтрофилов и эозинофилов определяли в строме, прилегающей к респираторному эпителию, площадью 1 мм² в участках наибольшей клеточной инфильтрации. Экспрессию белка S100 в клетках респираторного эпителия определяли методом визуальной оценки по колористической шкале по 4-балльной системе. Паттерн экспрессии оценивался исходя из преимущественной локализации белка S100 в эпителиоците: цитоплазматический, ядерный, реснитчатый и смешанный. Также в исследовании учитывалось наличие или отсутствие плоскоклеточной метаплазии респираторного эпителия. Статистическую значимость совокупностей оценивали с помощью критерия Крускал-Уоллис ($p \leq 0,05$).

Результаты: при морфологическом исследовании было обнаружено повреждение респираторного эпителия, расположенного на утолщенной базальной мембране и отечной строме, содержащей большое количество фибробластов и различных видов лейкоцитов. В первой исследуемой группе число эозинофилов составило 2,0 (1,0; 3,5) на 1 мм², во второй – 12,0 (8,0; 14,0) на 1 мм² ($p=0,0001$ при межгрупповом сравнении). При этом, в группе с более высоким числом эозинофилов на 1 мм² зарегистрировано увеличение числа нейтрофилов в 35,3 раза ($p=0,0001$), лимфоцитов – в 4,2 раза ($p=0,04$), а также уменьшение экспрессии белка S100 в 2 раза ($p=0,0001$).

Вывод: Полипы носа принято делить на два типа: нейтрофильные и эозинофильные. Эозинофильные полипы носа сопровождаются значительным увеличением количества клеток Th2 и макрофагов M2, а нейтрофильные полипы – большим количеством клеток Th1 и Th17. Эозинофильные полипы носа в первую очередь ассоциированы с атопией, нейтрофильные – в большей степени с хроническим бактериальным воспалением. Одновременный рост числа различных подтипов лейкоцитов и белка S100 в группе с увеличенным числом эозинофилов свидетельствует о смешанном характере этиологических факторов, индуцирующих развитие полипов у интактных животных. увеличение числа эозинофилов в полипах носа сопровождается ростом нейтрофилов и

лимфоцитов, а также снижением экспрессии белка S100.

Список литературы:

1. Differential expression and role of S100 proteins in chronic rhinosinusitis / Jorgen S Sumsion, Abigail Pulsipher, Jeremiah A Alt. - DOI: 10.1097/ACI.0000000000000595.
2. Evidence for diminished levels of epithelial psoriasin and calprotectin in chronic rhinosinusitis / David D Tieu 1, Anju T Peters, Roderick G Carter, Lydia Suh, David B Conley, Rakesh Chandra, James Norton, Leslie C Grammer, Kathleen E Harris, Atsushi Kato, Robert C Kern, Robert P Schleimer. - DOI: 10.1016/j.jaci.2009.11.045.
3. Differential release and deposition of S100A8/A9 proteins in inflamed upper airway tissue / Koen Van Crombruggen 1, Thomas Vogl 2, Claudina Pérez-Novo 3, Gabriele Holtappels 3, Claus Bachert . - DOI: 10.1183/13993003.00159-2015.
4. Predictive value of S100A4 in eosinophilic chronic rhinosinusitis with nasal polyps / Shangchu Zou1, Zhicheng Huang, Jinpeng Wu. - DOI: 10.3389/fsurg.2022.989489.

УДК 616.831-005.4:616-092

Ма-Ван-дэ А.Ю., Фефелова Е.В.

ПОКАЗАТЕЛИ НЕКОТОРЫХ МОЛЕКУЛ TNF И НЕЙРОВОСПАЛЕНИЯ В ОСТРЕЙШУЮ СТАДИЮ ИШЕМИЧЕСКОГО ИНСУЛЬТА (АТЕРОТРОМБОТИЧЕСКИЙ И ЛАКУНАРНЫЙ ПОДТИПЫ)

ФГБОУ ВО Читинская государственная медицинская академия, Чита, Россия

Резюме. Определена концентрация отдельных молекул ФНО и нейровоспаления в острейшую стадию атеротромботического и лакунарного подтипов ишемического инсульта. Показано, что, несмотря на достаточно схожие механизмы возникновения двух патогенетических подтипов мозгового инфаркта, концентрация молекул ФНО и нейровоспаления сыворотки плазмы крови в исследуемых групп различны.

Ключевые слова: ишемический инсульт, фактор некроза опухолей, нейровоспаление, OPG, APRIL, VILIP-1, TGF- β 1.

Ma-Wan-de A.Yu., Fefelova E.V.

INDICATORS OF SOME TNF AND NEUROINFLAMMATORY MOLECULES IN THE ACUTE STAGE OF ISCHEMIC STROKE (ATHEROTHROMBOTIC AND LACUNAR SUBTYPES).

Chita State Medical Academy, Chita, Russia

Abstract. The analysis of the concentration of individual TNF molecules and neuroinflammation in the acute stage of atherothrombotic and lacunar subtypes of ischemic stroke was carried out. It was shown that despite the fairly similar mechanisms of occurrence of two pathogenetic subtypes of ischemic stroke, the indicators of some TNF molecules and neuroinflammation in the studied groups are different.

Keywords: ischemic stroke, tumor necrosis factor, neuroinflammation, OPG, APRIL, VILIP-1, TGF- β 1.

Введение. Острое нарушение мозгового кровообращения (ОНМК) – жизнеугрожающее сосудистое событие головного мозга, сопровождающееся острым возникновением общемозговой и/или очаговой неврологической симптоматики, которая сохраняется более суток, либо приводит к летальному исходу пациента в более короткий период времени. В свою очередь ОНМК подразделяются на ишемический инсульт (ИИ), транзиторную ишемическую атаку (ТИА) и геморрагический инсульт (ГИ) [1]. ИИ обусловлен фокальным некрозом нейроцитов, вследствие нарушения кровотока в заинтересованном сосудистом бассейне [2]. На сегодняшний день используется следующая классификация временных периодов ИИ: острейший период – до 3-х суток, острый период до 28 суток, ранний восстановительный период – 6 месяцев, поздний восстановительный период – до 2-х лет, период последствий – более 2 лет от возникновения ИИ [1]. Помимо временной классификации при установлении диагноза, применяется классификация ИИ в зависимости от его патогенетического подтипа – TOAST (Trial of Org in Acute Stroke Treatment). Выделяют следующие патогенетические подтипы ИИ [3]: атеротромботический, кардиоэмболический, лакунарный (очаг некроза по данным нейровизуализации не более 20 мм), другой и неустановленной этиологии. В отношении лакунарного инсульта необходимо отметить, что, не смотря на достаточно небольшие размеры очага ишемии, его клиническая картина не обладает специфичностью, а так называемые лакунарные неврологические синдромы по типу изолированных расстройств двигательной и чувствительных сфер, речи и пр., могут развиваться и при других патогенетических подтипах инфаркта мозга [4].

Вне зависимости от патогенетического подтипа ИИ в основе церебральной ишемии лежит атеротромбоз мозговой артерии, что влечёт за собой запуск каскада патологических реакций в веществе головного мозга, приводя к формированию очага инфаркта и зоны пенумбры по периферии.

По литературным данным, примерно в 20% случаев ИИ связан с атеросклерозом крупных артерий, в частности, внутренней сонной (ВСА) [5,6]. Руководствуясь действующими клиническими рекомендациями, диагноз атеротромботического подтипа ИИ правомочен при стенозе экстра- или интракраниальной артерии более 50% (критерии NASCET), при стенозе менее 50% диагноз может быть выставлен в случае высокой эмбологенности бляшки [2]. В основе патогенеза лежит разрыв ранимой атеросклеротической бляшки, что, в свою очередь, индуцирует активацию системы гемостаза и формирование тромба, который блокирует кровоток в сосудистом русле [7]. Тромбоз мелких артерий является основным фактором развития лакунарного инфаркта (ЛИ) [8]. Так же, как и для атеротромботического подтипа, в основе патогенеза ЛИ лежит атеросклероз, который проявляется в виде липогиалиноза и формирования микроатерома. Микроатерома в большинстве случаев локализуется и вовлекает в патологический процесс глубинные перфорантные артерии паренхимы головного мозга. По своему строению микроатерома идентична атеросклеротической бляшке в магистральных сосудах [9,10].

Цель: провести оценку показателей TNF (OPG, APRIL (TNFSF13)) и молекул нейровоспаления (VILIP-1, TGF- β 1) в сыворотке плазмы крови пациентов с атеротромботическим и лакунарным подтипом ишемического инсульта в острейшую стадию (1 сутки от начала заболевания).

Материалы и методы. Исследование проведено на базе ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России и включало 20 пациентов с верифицированным диагнозом ишемический инсульт. Было выделено две подгруппы больных: 10 человек с атеротромботическим и 10 человек с лакунарным подтипом ишемического инсульта. Средний возраст пациентов составил 56,4 лет. Группы схожи по полу, возрасту, лабораторным показателям и соматическому фону. Диагноз в 100% подтверждён с помощью нейровизуализации. Тромболитическая терапия пациентам не проводилась.

Обработка статистических данных осуществлялась при помощи программного обеспечения «Jamovi 2.3». Статистически значимым считались результаты при значениях $p < 0,05$.

Результаты. Установлено, что у пациентов в острейшую стадию атеротромботического ИИ уровень остеопрogerина (OPG) выше, чем у лиц с лакунарным ИИ на 88,8% ($p=0,019$). OPG – это гликопротеин, относящийся к семейству TNF. По данным различных литературных источников, в большей степени рассматривается как регулятор активности остеокластов [11]. На сегодняшний день проводятся исследования, направленные на изучение вклада OPG в развитие сердечно-сосудистых заболеваний. Вероятнее всего, OPG может принимать участие в развитии атеросклероза и различных процессах воспаления, индуцируя продукцию цитокинов и интерлейкинов [12]. С высоким уровнем достоверности нами установлено, что APRIL в сыворотке плазмы крови на 41,95% ($p=0,023$) выше у пациентов с атеротромботическим подтипом ИИ. APRIL один из лигандов суперсемейства TNF, синтезируется при помощи миелоидных клеток и участвует в развитии В-лимфоцитов. Его роль в контексте кардиоваскулярной патологии достоверно неизвестна, в настоящее время активно проводится изучение роли APRIL при аутоиммунных заболеваниях, в частности, при васкулитах [13].

При исследовании концентрации молекул, связанных с нейровоспалением, также выявлены статистически значимые различия. При лакунарном патогенетическом подтипом ИИ показатель VILIP-1 выше на 8,6% ($p=0,013$), а TGF-b1 - на 41,58% ($p=0,005$), чем у больных с атеротромботическим подтипом ИИ.

VILIP-1 – кальций-связывающий белок, встречается преимущественно в центральной нервной системе (ЦНС). Считается одним из биомаркёров повреждения нейронов, что было отражено в работах по исследованию патогенеза ОНМК, болезни Альцгеймера и черепно-мозговой травмы [14,15]. Трансформирующий фактор роста бета - 1 (TGF-b1) - одна из изоформ TGF-β. Основная функция заключается в контроле клеточного цикла. Роль в ЦНС неоднозначна, опубликованы данные о связи TGF-β1 как с активацией процессов нейровоспаления, так и с противовоспалительной активностью [16]. Результаты исследования отражены в таблице 1.

Показатели нейровоспаления в остройшемной стадии ишемического инсульта

Показатель	Исследуемые группы		Тестовая статистика Краскела-Уоллиса
	1 группа	2 группа	
	n = 10	n = 10	
OPG	90,3 (26,7; 142)	10,1 (4,4; 30,8)	$\chi^2=5,49$ df=1 p=0,019
APRIL	6095 (5256; 7848)	3538 (2855; 5166)	$\chi^2=5,14$ df=1 p=0,023
VILIP-1	18,1 (17,6; 19,0)	19,8 (18,9; 20,8)	$\chi^2=6,23$ df=1 p=0,013
TGF-β1	28,1 (23,1; 37,5)	48,1 (41,6; 61,3)	$\chi^2=7,82$ df=1 p=0,005

Выводы. Таким образом, можно сделать вывод, что, несмотря на наличие общих закономерностей в развитии атеротромботического и лакунарного подтипов ишемического инсультов, лабораторные показатели могут иметь существенные различия. Вопрос причинно-следственной связи процессов, протекающих при мозговом инфаркте, остаётся открытым. Роль изменений показателей OPG, APRIL, VILIP-1, TGF- β 1 в плазме крови пациентов, которые выявлены в момент формирования очага инфаркта головного мозга, требуют дальнейшего изучения.

Список литературы:

1. Е.И. Гусев, А.Н. Коновалов, А.Б. Гехт. Неврология. Национальное руководство / Е.И. Гусев, А.Н. Коновалов, А.Б. Гехт. – 2-е изд. – Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2019. – 880 с.
2. Клинические рекомендации Министерства здравоохранения Российской Федерации «Ишемический инсульт и транзиторная ишемическая атака» : год утверждения (частота пересмотра): 2024. – Москва, 2024. – 328 с.
3. A computerized algorithm for etiologic classification of ischemic stroke: the Causative Classification of Stroke System / H. Ay, T. Benner, E.M. Arsava [et al.]. – DOI 10.1161/STROKEAHA.107.490896 // Stroke. – 2007. – Vol. 38. – P. 2979-2984.
4. European stroke organisation (ESO) guideline on cerebral small vessel disease, part 2, lacunar ischaemic stroke / J.M. Wardlaw, H. Chabriat, F.E. de Leeuw [et al.]. – DOI 10.1177/23969873231219416 // European Stroke Journal. – 2024. – Vol. 9. – P. 5-68.
5. Targeted Metabolomic Biomarkers for Stroke Subtyping / E.J. Lee, D.J. Kim, D.W. Kang [et al.]. – DOI 10.1007/s12975-023-01137-5 // Translational Stroke Research. – 2024. – Vol. 15. – P. 422-432.
6. Vascular smooth muscle cell phenotypic switching in atherosclerosis / Y. Yu, Y. Cai, F. Yang [et al.]. – DOI 10.1016/j.heliyon.2024.e37727 // Heliyon. – 2024. – Vol. 10. – e37727.
7. Novel Therapeutic Approaches to Prevent Atherothrombotic Ischemic Stroke in Patients

- with Carotid Atherosclerosis / N. Puig, A. Solé, A. Aguilera-Simon [et al.]. – DOI 10.3390/ijms241814325 // International Journal of Molecular Sciences. – 2023. – Vol. 24, № 18. – P. 14325.
8. CT Perfusion in Lacunar Stroke: A Systematic Review / M. Zedde, M. Napoli, I Grisendi [et al.]. – DOI 10.3390/diagnostics13091564 // Diagnostics (Basel). – 2023. – Vol. 13. № 9. – P. 1564.
9. Caplan L.R. Lacunar infarction and small vessel disease: pathology and pathophysiology / L.R. Caplan. – DOI 10.5853/jos.2015.17.1.2 // Journal of Stroke. – 2015. – Vol. 17. P. 2-6.
10. Pathology of lacunar ischemic stroke in humans-a systematic review / E.L. Bailey, C. Smith, C.L. Sudlow, J.M. Wardlaw – DOI 10.1111/j.1750-3639.2012.00575.x // Brain Pathology. – 2012. – Vol. 22. – P. 583-591.
11. Osteoprotegerin and RANKL-RANK-OPG-TRAIL signalling axis in heart failure and other cardiovascular diseases / M. Dutka, R. Bobiński, W Wojakowski [et al.]. – DOI 10.1007/s10741-021-10153-2 // Heart failure reviews. – 2022. – Vol. 27. – P. 1395-1411.
12. Biomarkers That Seem to Have the Greatest Impact on Promoting the Formation of Atherosclerotic Plaque in Current Scientific Research / M. Kłosowicz, D. Leksa, D. Bartusik-Aebisher [et al.]. – DOI 10.3390/cimb46090564 // Current Issues in Molecular Biology. – 2024. – Vol. 46, № 9. – P. 9503-9522.
13. BAFF, APRIL and BAFFR on the pathogenesis of Immunoglobulin-A vasculitis / D. Prieto-Peña, F. Genre, S. Remuzgo-Martínez [et al.]. – DOI 10.1038/s41598-021-96114-z // Scientific Reports. – 2021. – Vol. 11, № 1. – P. 11510.
14. Determination of serum visinin like protein-1 and its potential for the diagnosis of brain injury due to the stroke: A pilot study / D. Stejskal, L. Sporova, M. Svestak, M. Karpisek – DOI 10.5507/bp.2011.049 // Biomedical papers of the Medical Faculty of the University Palacky, Olomouc, Czechoslovakia. – 2011. – Vol. 155. – P. 263-268.
15. The Role of Visinin-Like Protein-1 in the Pathophysiology of Alzheimer's Disease / M. Groblewska, P. Muszynski, A. Wojtulewska-Supron [et al.]. – DOI 10.3233/JAD-150060 // Journal of Alzheimer's Disease. – 2015. – Vol. 47. – P. 17-32.
16. Massagué J. TGF- β signaling in health and disease / J. Massagué, D. Sheppard – DOI 10.1016/j.cell.2023.07.036 // Cell. – 2023. – Vol. 186, № 19. – P. 4007-4037.

УДК: 616.153.915

Марковский А.В., Сычёва О.А.

**СОВРЕМЕННАЯ ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ДИСЛИПИДЕМИЙ
ФГБОУ ВО Читинская государственная медицинская академия, Чита, Россия**

Резюме. Дислипидемия продолжает оставаться в центре внимания медицинской науки и практики, поскольку её значение связано, прежде всего, с возникновением сердечно-сосудистых заболеваний, что делает её основной причиной смертности в России. В обзоре рассмотрены результаты международных исследований по дислипидемии, которые свидетельствуют о том, что дислипидемия развивается в результате аномалий генов, которые регулируют функции рецепторов, ферментов или транспортных белков,

участвующих в липидном обмене. Молекулярная диагностика может положительно повлиять на результаты диагностики и профилактики пациентов с измененным уровнем ЛПНП, ЛПВП и триглицеридов. Большинство изученных генов, по риску развития дислипидемии, носят вероятностный характер, но при совместном воздействии с другими факторами их влияние может усиливаться. Генетическая диагностика дислипидемий приобретает предиктивное значение.

Ключевые слова: дислипидемия, генетическая диагностика, липопротеины, триглицериды, сердечно-сосудистые заболевания.

Markovsky A.V., Sycheva O.A.

MODERN GENETIC DIAGNOSTICS OF DYSLIPIDEMIAS

Chita State Medical Academy, Chita, Russia

Summary. *Dyslipidemia continues to be the focus of medical science and practice, since its significance is associated primarily with the occurrence of cardiovascular diseases, which makes it the main cause of death in Russia. The review examines the results of international studies on dyslipidemia, which indicate that dyslipidemia develops as a result of abnormalities in genes that regulate the functions of receptors, enzymes or transport proteins involved in lipid metabolism. Molecular diagnostics can positively affect the results of diagnostics and prevention of patients with altered levels of LDL, HDL and triglycerides. Most of the studied genes, according to the risk of developing dyslipidemia, are probabilistic in nature, but when combined with other factors, their influence can be enhanced. Genetic diagnostics of dyslipidemia acquires predictive value.*

Key words: *dyslipidemia, genetic diagnostics, lipoproteins, triglycerides, cardiovascular diseases.*

Введение. Дислипидемия представляет собой состояние, когда концентрация липидов и липопротеидов крови выходит за пределы нормы и характеризуется повышенным уровнем общего холестерина (ХС), триглицеридов и холестерина липопротеинов низкой плотности (ЛПНП). Распространенность дислипидемии в России достигает 75%, причем гиперхолестеринемия наблюдается у каждого второго, гипертриглицеридемия – у каждого четвертого, и гиперлипопротеидемия – у каждого шестого взрослого человека [13]. Дислипидемия стала наиболее частым состоянием среди пациентов и охватывает около двух десятков относительно редких моногенных нарушений и синдромов, генетическая основа которых в значительной степени определена [4]. Гиперлипопротеидемии классифицируют в зависимости от того, уровень каких именно липидов и липопротеидов выходит за пределы нормы. Важно дифференцировать первичную и вторичную дислипидемию, так как в этих случаях принципиально отличается тактика лечения. В настоящее время ВОЗ принята классификация, где выделяют несколько фенотипов дислипидемии, среди факторов риска которой выделяют: отсутствие физической активности, ожирение, метаболический синдром, гипертонию, атерогенную диету, генетические факторы, пожилой возраст, мужской пол и гипотиреоз [15]. Клинический подход к пациенту с дислипидемией предполагает генетический

диагноз, подтверждённый лабораторными исследованиями по изучению липидов и липопротеинов, которые должны быть согласованы и стандартизированы. Генетический скрининг на дислипидотемию ежегодно выявляет множество людей, подверженных риску сердечно-сосудистых заболеваний и позволяет диагностировать дополнительных членов семьи, у которых можно предотвратить развитие дислипидемии. Своевременное выявление гиперлипидемии может замедлить прогрессирование атеросклероза и снизить риск сердечно-сосудистых заболеваний. Данная проблема остаётся важной и нуждается в дальнейшем изучении, поскольку осложнения дислипидемии стоят на первом месте по числу смертей в России.

Цель исследования - проанализировать и систематизировать имеющуюся информацию о роли генетического компонента в развитии дислипидемии.

Материалы и методы. В базе данных PubMed производился поиск литературных источников, опубликованных с 2005 по 2024 г., содержащих сведения по данной проблеме и дающих возможность оценить роль генетической диагностики дислипидемии.

В большинстве случаев повышение уровня липидов и липопротеинов в плазме имеет высокую наследственную предрасположенность. Гены с доказанной ассоциацией с семейной гиперхолестеринемией – *LDLR*, *APOB*, *PCSK9* и *LDLRAP1*. Основные гены, связанные с повышением уровня триглицеридов, – *APOA5*, *APOC2*, *APOE*, *GPD1*, *GPIIBP1*, *HNF1A*, *LMF1*, *LPL* и *SLC25A40*. Гены, связанные с повышением ЛПВП, – *LIPC*, *PLTP* и *SCARB1*. При этом группа редких вариантов гена *APOC3*, ассоциированная со снижением уровня триглицеридов, а также гены, связанные со снижением уровня ЛПНП (*ANGPTL3*, *MTTP* и *MYLIP*), обладают возможным протективным действием в отношении кардиоваскулярных заболеваний у носителей.

Генетически обусловленное повышение уровня холестерина в крови и значительный сердечно-сосудистый риск связаны с семейной гиперхолестеринемией и ситостеролемией. Мутации гена рецептора ЛПНП (*LDLR*) ответственны за 85-90% генетически подтвержденных случаев семейной гиперхолестеринемии [14] и постоянно повышенный уровень холестерина ЛПНП. Мировая частота, самого распространённого генетического метаболического заболевания составляет 1:500 человек, хотя считается, что в некоторых европейских субпопуляциях, эта распространённость еще выше и составляет 1:250 человек (вплоть до 1:76-90) [9]. Различают гетерозиготную и гомозиготную формы семейной гиперхолестеринемии.

Мутации в гене *ABCG5* или *ABCG8*, обнаруженные на хромосоме 2p21, ассоциированы с ситостеролемией (фитостеролемия) - заболеванием с аутосомно-рецессивным типом наследования и распространённостью, соответственно генам 1 случай на 2,6 млн. и 1 на 360 тыс. человек. У гомозиготных и гетерозиготных носителей полиморфизмов данных генов наблюдался повышенный уровень ситостерола и ХС ЛПНП в сыворотке крови [12]. Был зарегистрирован случай ситостеролемии у шестимесячного ребенка, вызванный гетерозиготными мутациями в гене *ABCG8* [6]. При фитостеролемии происходит большее всасывание и уменьшение выведения стероидов, что приводит к их отложению в тканях [11]. Клинически заболевание сходно с гетерозиготной формой классической семейной гиперхолестеринемии.

К заболеваниям, связанным с нарушением метаболизма триглицеридов, относятся

синдром семейной хиломикронемии и дисбеталипопротеинемия. Данные заболевания представляют собой редкую моногенную форму тяжелой гипертриглицеридемии, вызванную мутациями в генах, участвующих в метаболизме триглицеридов, способствующих преждевременному развитию сердечно-сосудистых заболеваний и заболеваний периферических сосудов. Более 90% случаев моногенной хиломикронемии вызваны патогенными вариантами в генах *LPL* (липопротеин липазы), *APOC2* (аполипопротеина С2), *APOA5* (аполипопротеина А5), *LMF1* (фактора созревания липазы 1) и *GPIIIBP1* (гликозилфосфатидилинозитол-закрепленного белка, связывающего ЛПВП, тип 1). Распространенность синдрома семейной хиломикронемии (FCS), характеризующееся высоким уровнем триглицеридов, составляет от 1 до 10 на каждые 1.000.000 человек. Гетерозиготный синдром семейной хиломикронемии может протекать с различной степенью тяжести и обычно проявляется анемией и желтухой [5].

Из-за генетической дисфункции гена *APOE* (аполипопротеина Е) в сочетании с наличием вторичных метаболических факторов развивается дисбеталипопротеинемия (DBL), при которой остаточные липопротеины накапливаются в плазме крови. Частота встречаемости DBL составляет 1 случай на 1.000 человек. В развитии DBL, кроме генетического дефекта в гене *APOE* и дисфункционального белка apoE, участвуют вторичные факторы, такие как ожирение, диабет, метаболический синдром или инсулинорезистентность [3]. Нарушение обмена липопротеинов способствует накоплению жировых отложений на стенках артерий, повышению уровня триглицеридов и общего холестерина в сыворотке крови. Секвенирование следующего поколения может выявить варианты мутаций в гене *APOE*, связь которых с DBL еще неизвестна.

К редким нарушениям, связанным с изменением уровня холестерина липопротеинов высокой плотности (ЛПВП) в плазме крови относятся болезнь Танжера (гипоальфалипопротеинемия), и семейный дефицит LCAT (лецитин - холестерол ацилтрансферазы), наследуемые по аутосомно-рецессивному типу. Мутации в гене *ABCA1* (АТФ-связывающего кассетного транспортера А1) проявляются болезнью Танжера, характеризующейся нарушением метаболизма липопротеинов и чрезвычайно низким уровнем ЛПВП [2]. Распространенность гипоальфалипопротеинемии на 2020 год составила 35 случаев в Японии и 109 случаев в других странах. Ген *ABCA1* относится к семейству мембранных белков-кассетных переносчиков, связывающих АТФ. Это важный фактор для образования ЛПВП с внеклеточными спиралевидными аполипопротеинами посредством транспорта клеточных фосфолипидов и холестерина. Этот процесс является основным источником ЛПВП в плазме и одним из основных механизмов экспорта холестерина из клеток [7].

Ген *LCAT* катализирует этерификацию неэтерифицированного холестерина в плазме, созревание ЛПВП и необходим для обратного транспорта холестерина из периферических тканей в печень [1]. Распространенность семейного дефицита *LCAT*, вызванного мутацией в гене *LCAT*, оценивается как 1:1.000.000 человек. Ферментативная активность LCAT подразделяется на две группы: LCAT- α , этерифицирующая холестерин в ЛПВП и LCAT- β , катализирующая реакцию в ЛПНП и ЛПОНП [10]. Если затронуты обе группы ферментативной активности, этерификация холестерина в липопротеинах будет практически нулевой и приведет к семейному развитию дефицита LCAT,

сопровождающегося низким уровнем ХС ЛПВП, повышенным уровнем триглицеридов в плазме, гемолитической анемией и протеинурией [8].

Заключение. Быстрый прогресс молекулярно-генетических методов и ранний скрининг в области липидологии может улучшить оценку риска сердечно-сосудистых заболеваний, идентифицируя различные гены, связанные с развитием дислипидемии. Однако стоит учитывать, что к настоящему моменту в исследованиях встречаются принципиально различные эффекты полиморфизма отдельных генов, ассоциированных с нарушением липидного обмена, что создает двусмысленность в патогенезе дислипидемии и требует углубленного изучения.

Список литературы:

1. A novel pathogenic variant in LCAT causing FLD. A case report / N. Goñi Ros, R. González-Tarancón, P. Sienes Bailo [et al.] // *Acta clinica Belgica*. – 2022. – Vol. 77(6). – P. 970-975.
2. A novel splicing mutation in the ABCA1 gene, causing Tangier disease and familial HDL deficiency in a large family / M. Maranghi, G. Truglio, A. Gallo [et al.] // *Biochem Biophys Res Commun*. – 2019. – Vol. 508(2). – P. 487-493.
3. Adiposity and the development of dyslipidemia in APOE ε2 homozygous subjects: a longitudinal analysis in two population-based cohorts / B.E. Heidemann, F.J. Wolters, M. Kavousi [et al.] // *Atherosclerosis*. – 2021. – Vol. 325. – P. 57-62.
4. Berberich A.J. The role of genetic testing in dyslipidaemia / A.J. Berberich, R.A. Hegele // *Pathology*. – 2019. – Vol. 51(2). – P. 184-192.
5. Chaurasiya O.S. An infant with milky blood: an unusual but treatable case of familial hyperlipidemia / O.S. Chaurasiya, L. Kumar, R.S. Sethi // *Indian J Clin Biochem*. – 2013. – Vol. 28(2). – P. 206-9.
6. Compound heterozygous variants in the ABCG8 gene in a Japanese girl with sitosterolemia / N. Hashimoto, S. Dateki, E. Suzuki [et al.] // *Hum. Genome Var*. – 2020. – Vol. 7. – P. 25.
7. Current diagnosis and management of Tangier disease / M. Koseki, S. Yamashita, M. Ogura [et al.] // *J Atheroscler Thromb*. – 2021. – Vol. 28(8). – P. 802-810.
8. Current status of familial LCAT deficiency in Japan / M. Kuroda, H. Bujo, K. Yokote [et al.] // *Journal of Atherosclerosis and Thrombosis*. – 2021. – Vol. 28(7). – P. 679-691.
9. Familial hypercholesterolaemia is underdiagnosed and undertreated in the general population: guidance for clinicians to prevent coronary heart disease: consensus statement of the European Atherosclerosis Society / B.G. Nordestgaard, M.J., Chapman, S.E. Humphries [et al.] // *Eur. Heart J*. – 2013. – Vol. 34. – P. 3478a-3490a.
10. Familial LCAT deficiency and low HDL-C levels: in silico characterization of two rare LCAT missense mutations / S. Ciro Acosta, L. Díaz-Ordóñez, J.D. Gutierrez-Medina [et al.] // *Appl Clin Genet*. – 2024. – Vol. 17. – P. 23-32.
11. Hepatic and cardiovascular consequences of familial hypo-beta-lipoproteinemia / R.R. Sankatsing, S.W. Fouchier, S. de Haan [et al.] // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol*. – 2005. – Vol. 25, N 9. – P. 1979-1984.
12. Heterozygous ABCG5 gene deficiency and risk of coronary artery disease / A. Nomura, C.A. Emdin, H.H. Won [et al.] // *Circ. Genom. Precis. Med*. – 2020. – Vol. 13. – P.417-423.
13. Outpatient practice of lipid-lowering therapy prescription (According to the ARGO-3 study)

- / M.V. Ezhov, N.M. Akhmedzhanov, T.E. Kolmakova [et al.] // Rational Pharmacotherapy in Cardiology. – 2023. – Vol. 19(2). – P. 143-150.
14. Remnant cholesterol as a causal risk factor for ischemic heart disease / A. Varbo [et al.] // J. Am. Coll. Cardiol. – 2013. – Vol. 61. – P. 427-436.
15. Šatný M. Dyslipidemia - the known unknown / M. Šatný // Vnitr Lek. – 2023. – Vol. 69(5). – P. 305-310.

УДК 616 – 092.19

Мишин А.К., Фефелова Е.В.

РОЛЬ РАСТВОРИМОГО РЕЦЕПТОРА ИНТЕРЛЕЙКИНА-2 В НОРМЕ И ПАТОЛОГИИ

ФГБОУ ВО Читинская государственная медицинская академия, Чита, Россия

Резюме. Взаимодействие интерлейкина-2 (IL-2) с рецептором интерлейкина-2 (IL-2R) играет важную роль не только в опосредовании иммунных реакций, но и в поддержании ауто толерантности. Это противоречие усложняется тем фактом, что α -субъединица (IL-2R α) рецептора может отделяться от двух других субъединиц и образовывать растворимый рецептор к интерлейкину-2 (sIL-2R). Связывание IL-2 с sIL-2R способно как подавлять, так и усиливать иммунные реакции. Результат зависит от того, участвует клетка-мишень в развитии иммунного ответа или поддержании ауто толерантности. Представлен краткий обзор литературы, в котором рассматривается роль взаимодействия IL-2 с IL-2R и анализируются противоречивые результаты о функции sIL-2R.

Ключевые слова: интерлейкин-2; рецептор интерлейкина-2; растворимый IL-2R; иммунитет; толерантность.

Mishin A.K., Fefelova E.V.

THE ROLE OF THE SOLUBLE INTERLEUKIN-2 RECEPTOR IN HEALTH AND DISEASE

Chita State Medical Academy, Chita, Russia

Abstract. The interaction of interleukin-2 (IL-2) with the interleukin-2 receptor (IL-2R) plays a crucial role not only in mediating immune responses but also in maintaining autotolerance. This paradox is further complicated by the fact that the α -subunit (IL-2R α) of the receptor can detach from the two other subunits and form a soluble receptor for interleukin-2 (sIL-2R). Binding of IL-2 to sIL-2R can both suppress and enhance immune responses. The outcome depends on whether the target cell is involved in the development of an immune response or in maintaining autotolerance. This review summarizes the literature on the role of IL-2 interaction with IL-2R and analyzes the conflicting results regarding the function of sIL-2R.

Key words: interleukin-2; interleukin-2 receptor; soluble IL-2R; immunity; tolerance.

Интерлейкин-2 (IL-2) и его рецептор (IL-2R) играют центральную роль в регуляции иммунитета. Взаимодействие этих молекул имеет большое значение для активации и пролиферации некоторых иммунокомпетентных клеток и, исходя из этого, для эффективного иммунного ответа на патогены.

Интерлейкин-2 (IL-2) продуцируется преимущественно активированными Т-клетками и может действовать как аутокринный фактор роста Т-клеток, а также как паракринный фактор роста НК-клеток. IL-2, помимо этого, играет важную роль в формировании и поддержании иммунной толерантности [10, 14]. Было замечено, что использование высоких доз IL-2 для лечения злокачественных новообразований может приводить к аутоиммунным явлениям, например, аутоиммунному тиреоидиту, и, вероятно, нарушению ауто толерантности. С другой стороны, у мышей с дефицитом IL-2 или его рецептора спонтанно развиваются тяжёлые аутоиммунные заболевания, что свидетельствует о необходимости данных молекул для поддержания иммунного гомеостаза. Открытие Т-регуляторных клеток (Treg), экспрессирующих высокоаффинный IL-2R, дало чёткое представление о роли IL-2 в иммунологической толерантности [18]. Лечение низкими дозами IL-2 может избирательно увеличивать количество Treg в организме, что в свою очередь может восстанавливать ауто толерантность [10]. В экспериментальной модели на мышах Knoechel и соавт. продемонстрировали, что клиническое проявление аутоиммунного заболевания связано с увеличением количества эффекторных Т-клеток, в то время как в фазе выздоровления наблюдалось увеличение количества Treg [11]. В отсутствие IL-2 начало заболевания замедлялось из-за менее выраженного увеличения количества эффекторных Т-клеток, но вместе с тем болезнь протекала тяжелее, так как увеличения количества Treg не наблюдалось. Авторы исследования пришли к выводу, что иммунная реакция, вызванная Т-клетками, проходит фазу патологии, опосредованную эффекторными Т-клетками, за которой следует фаза восстановления, опосредованная Treg. Обе эти фазы требуют наличия IL-2 [11]. В этой экспериментальной модели суть исследования состояла в изучении роли IL-2 в дифференцировке Т-клеток в индуцируемые Т-регуляторные клетки (iTreg). Но также было показано, что IL-2 играет важную роль и во внутри тимическом развитии естественных Т-регуляторных клеток (nTreg) [8].

Во взаимодействии IL-2 с IL-2R немаловажную роль играет и структура самого рецептора, так как разные его формы опосредуют разные функции. Рецептор интерлейкина-2 (IL-2R) может состоять из 2 или 3 белковых цепей (IL-2R β , IL-2R γ и IL-2R α). Димерный IL-2R ($\beta\gamma$) экспрессируется на НК-клетках и конвенциональных Т-клетках (CD4⁺ и CD8⁺ Т-лимфоцитах), имеет промежуточное сродство к IL-2. Тримерный IL-2R ($\alpha\beta\gamma$) имеет высокое сродство к IL-2 и обнаруживается на Treg и активированных Т-клетках [1]. Мономерный IL-2R α имеет низкое сродство к IL-2, присутствует на дендритных клетках и используется, вероятно, для транс-презентации IL-2 Т-клеткам, на которых обнаруживается только димерный IL-2R с промежуточным сродством [21]. Другие иммунные клетки, такие как моноциты и В-клетки, и некоторые неиммунные клетки, например, эндотелиоциты, также могут экспрессировать комплексы IL-2R с различным составом [2]. Димерный IL-2R с промежуточным сродством, состоящий из белковых цепей IL-2R β и IL-2R γ , кроме того, может связываться с интерлейкином-15 (IL-15) [3].

Различная экспрессия высокоаффинного и промежуточного IL-2R иммунными клетками

влияет на иммунный ответ в условиях низкой и высокой концентрации IL-2. При низкой доступности IL-2 клетки, имеющие высокоаффинный IL-2R (например, Treg), конкурируют с клетками, обладающими рецептором с промежуточным сродством (например, NK-клетками и конвенциональными T-клетками). При высоких концентрациях IL-2 в процесс вовлекаются также клетки, экспрессирующие рецепторы с промежуточным сродством к IL-2R [7].

Растворимые цепи IL-2R α (sIL-2R) в большом количестве содержатся в крови здоровых людей, но их количество еще больше увеличивается у пациентов с инфекционными, воспалительными и аутоиммунными заболеваниями. [17] Отщепление цепи IL-2R α является результатом активации T-клеток, и в этом участвуют не только конвенциональные T-клетки, но и Treg [4]. При стимуляции *in vitro* фитогемагглютинином (PHA) или CD3 сообщалось, что CD4⁺T-лимфоциты продуцируют наибольшее количество sIL-2R [5, 12], но в случае стимуляции форболмирикат ацетатом (PMA) и иономицином или отсутствия какой-либо стимуляции Treg продуцирует гораздо более высокие уровни sIL-2R, чем конвенциональные T-клетки [12, 16]. Очевидно, что после отщепления α -цепи IL-2R превращается из высокоаффинного в рецептор промежуточного сродства. Как и мономерный IL-2R α , sIL-2R сохраняет низкое сродство к IL-2. Различные варианты цепи IL-2R α не только могут способствовать предрасположенности к заболеваниям, но и связаны с уровнем sIL-2R в крови. [13]. Однако, является ли эта связь причинно-следственной, еще предстоит установить. Кроме того, генетический полиморфизм может независимо влиять на активацию T-клеток, приводя к более или менее интенсивному отщеплению цепи IL-2R α . Это подтверждается снижением передачи сигналов IL-2R в Treg [6].

Отделение цепи IL-2R α может быть просто механизмом отрицательной обратной связи, позволяющим контролировать иммунную активацию. Таким образом, sIL-2R становится побочным продуктом, который не несёт никакой функциональной роли. Однако, поскольку sIL-2R сохраняет низкое сродство к IL-2 [9], более вероятно, что sIL-2R играет некоторую роль в регуляции иммунного ответа [19]. Прежде всего, sIL-2R может функционировать как “поглотитель” IL-2, что приводит к снижению его концентрации. Это будет способствовать индукции толерантности, а не продолжению иммунного ответа, что ещё раз подтверждает активную роль sIL-2R в механизме отрицательной обратной связи. Однако, подавление иммунитета будет также иметь пагубные последствия при злокачественных новообразованиях. Действительно, повышенный уровень sIL-2R коррелирует с плохим прогнозом при злокачественных новообразованиях, варьирующих от неходжкинской лимфомы до гепатоцеллюлярной карциномы [5, 15]. Вероятно, если sIL-2R взаимодействует с IL-2, комплекс цитокин-рецептор может обеспечивать транс-презентацию IL-2 к T-клеткам, которые экспрессируют только IL-2R с промежуточным сродством (димерный). Активированные T-клетки и Treg, которые утратили IL-2R α цепь, могут стать чувствительными к транс-презентации IL-2. Таким образом, транс-презентация может усиливать или подавлять иммунитет в зависимости от типа вовлечённой клетки. Также Steenbergen и соавт. сообщали, что низкий уровень sIL-2R в крови больных ревматоидным артритом ассоциирован с более стойкой ремиссией в отсутствие применения болезнь-модифицирующих антиревматических препаратов [20].

Существуют данные, что рекомбинантный sIL-2R подавляет пролиферацию Т-клеток *in vitro* [12]. Это подавление зависело от дозы sIL-2R, что подтверждает гипотезу о его роли в качестве антагониста IL-2. В частности, высвобождение sIL-2R Treg можно рассматривать как выработку рецептора-приманки для IL-2, связывание с которым приводит к ингибированию Т-клеточных реакций [12].

Таким образом, очевидно, что sIL-2R влияет на взаимодействие IL-2 и IL-2R, и, таким образом, влияет на хрупкий баланс между развитием иммунного ответа и иммунологической толерантностью к собственному организму. Важно продолжать изучение роли sIL-2R при различных типах иммуноопосредованных заболеваний, чтобы обеспечить более точное понимание его функции в норме и патологии.

Список литературы:

1. Arenas-Ramirez N., Woytschak J., Boyman O. Interleukin-2: biology, design and application //Trends in immunology. – 2015. – Т. 36. – №. 12. – С. 763-777.
2. Boyman O., Sprent J. The role of interleukin-2 during homeostasis and activation of the immune system //Nature Reviews Immunology. – 2012. – Т. 12. – №. 3. – С. 180-190.
3. Budagian V. et al. IL-15/IL-15 receptor biology: a guided tour through an expanding universe //Cytokine & growth factor reviews. – 2006. – Т. 17. – №. 4. – С. 259-280.
4. Brusko T. M. et al. Influence of membrane CD25 stability on T lymphocyte activity: implications for immunoregulation //PloS one. – 2009. – Т. 4. – №. 11. – С. e7980.
5. Cabrera R. et al. Hepatocellular carcinoma immunopathogenesis: clinical evidence for global T cell defects and an immunomodulatory role for soluble CD25 (sCD25) //Digestive diseases and sciences. – 2010. – Т. 55. – С. 484-495.
6. Cerosaletti K. et al. Multiple autoimmune-associated variants confer decreased IL-2R signaling in CD4+ CD25hi T cells of type 1 diabetic and multiple sclerosis patients //PloS one. – 2013. – Т. 8. – №. 12. – С. e83811.
7. Damoiseaux J. The IL-2–IL-2 receptor pathway in health and disease: The role of the soluble IL-2 receptor //Clinical Immunology. – 2020. – Т. 218. – С. 108515.
8. Fontenot J. D. et al. A function for interleukin 2 in Foxp3-expressing regulatory T cells // Nature immunology. – 2005. – Т. 6. – №. 11. – С. 1142-1151.
9. Jacques Y. et al. A soluble interleukin 2 receptor produced by a normal alloreactive human T cell clone binds interleukin 2 with low affinity //Journal of immunology (Baltimore, Md.: 1950). – 1987. – Т. 139. – №. 7. – С. 2308-2316.
10. Klatzmann D., Abbas A. K. The promise of low-dose interleukin-2 therapy for autoimmune and inflammatory diseases //Nature Reviews Immunology. – 2015. – Т. 15. – №. 5. – С. 283-294.
11. Knoechel B. et al. Sequential development of interleukin 2–dependent effector and regulatory T cells in response to endogenous systemic antigen //The Journal of experimental medicine. – 2005. – Т. 202. – №. 10. – С. 1375-1386.
12. Lindqvist C. A. et al. T regulatory cells control T-cell proliferation partly by the release of soluble CD25 in patients with B-cell malignancies //Immunology. – 2010. – Т. 131. – №. 3. – С. 371-376.
13. Lowe C. E. et al. Large-scale genetic fine mapping and genotype-phenotype associations

- implicate polymorphism in the IL2RA region in type 1 diabetes //Nature genetics. – 2007. – Т. 39. – №. 9. – С. 1074-1082.
14. Malek T. R., Castro I. Interleukin-2 receptor signaling: at the interface between tolerance and immunity //Immunity. – 2010. – Т. 33. – №. 2. – С. 153-165.
15. Niitsu N., Iijima K., Chizuka A. A high serum-soluble interleukin-2 receptor level is associated with a poor outcome of aggressive non-Hodgkin's lymphoma //European journal of haematology. – 2001. – Т. 66. – №. 1. – С. 24-30.
16. Pedersen A. E., Lauritsen J. P. CD25 shedding by human natural occurring CD4+ CD25+ regulatory T cells does not inhibit the action of IL-2 //Scandinavian journal of immunology. – 2009. – Т. 70. – №. 1. – С. 40-43.
17. Rubin L. A. et al. The molecular basis for the generation of the human soluble interleukin 2 receptor //Cytokine. – 1990. – Т. 2. – №. 5. – С. 330-336.
18. Sakaguchi S. et al. Immunologic self-tolerance maintained by activated T cells expressing IL-2 receptor alpha-chains (CD25). Breakdown of a single mechanism of self-tolerance causes various autoimmune diseases //Journal of immunology (Baltimore, Md.: 1950). – 1995. – Т. 155. – №. 3. – С. 1151-1164.
19. Vanmaris R. M. M., Rijkers G. T. Biological role of the soluble interleukin-2 receptor in sarcoidosis //Sarcoidosis, Vasculitis, and Diffuse Lung Diseases. – 2017. – Т. 34. – №. 2. – С. 122.
20. Van Steenberg H. W. et al. IL2RA is associated with persistence of rheumatoid arthritis // Arthritis research & therapy. – 2015. – Т. 17. – С. 1-9.
21. Zelante T. et al. Interleukin-2 production by dendritic cells and its immuno-regulatory functions //Frontiers in immunology. – 2012. – Т. 3. – С. 161.

УДК: 612.017 : 616 – 092

Нимаев А.Ж., Галак И.Р., Орлов П.А.

**НОВЫЙ ВЗГЛЯД НА ГИПЕРЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ. СОВРЕМЕННАЯ
НОМЕНКЛАТУРА АЛЛЕРГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ
ФГБОУ ВО Читинская государственная медицинская академия, Чита, Россия**

***Резюме:** В 2023 году членами Европейской Академии Аллергологов и Клинических Иммунологов опубликован позиционный документ с обновленной классификацией гиперчувствительности. Современный подход, основанный на достижениях понимания метаболических и патогенетических механизмов, позволяет точнее понимать патогенез аллергических заболеваний и даёт возможность более персонализированного подхода к диагностике и лечению пациентов с данными заболеваниями.*

***Ключевые слова:** аллергические заболевания; номенклатура; патофизиология.*

Nimaev A.Z., Galak I.R., Orlov P.A.

A NEW LOOK AT HYPERSENSITIVITY. MODERN NOMENCLATURE OF ALLERGIC DISEASES

Chita State Medical Academy, Chita, Russia

Abstract: *In 2023, members of the European Academy of Allergologists and Clinical Immunologists published a position paper with an updated classification of hypersensitivity. The modern approach, based on advances in understanding metabolic and pathogenetic mechanisms, allows for a more accurate understanding of the pathogenesis of allergic diseases and provides an opportunity for a more personalized approach to the diagnosis and treatment of patients with these diseases.*

Key words: *allergic diseases; hypersensitivity; nomenclature; pathophysiology.*

В 1969 году была внедрена в клиническую практику классификация аллергических реакций Джелла-Кумбса [3]. Она включает в себя 4 типа гиперчувствительности: анафилактический (I тип), цитотоксический (II тип), иммунокомплексный (III тип) и клеточно-опосредованный (IV тип) [3]. Данная классификация, на тот момент времени, описывала большинство патологий, связанных с аллергическими и аутоиммунными процессами. Развитие технологий, в том числе генетических исследований, молекулярной диагностики, омиксных технологий и т.д., позволило более полно раскрыть вопросы о этиопатогенезе аллергических реакций. Позднее, было установлено, что за фенотипом заболевания, могут скрываться множество эндотипов (подтипы болезненного состояния, которые определяются отдельными, генетически детерминированными механизмами).

Разберём на примере патогенетических аспектов фенотипирования бронхиальной астмы (БА) [1]. Основным эндотипом БА является Тип 2 (Th2). Пациентов делят на группы с высоким уровнем Th2 и низким Th2. При высоком уровне происходит заметная активация В-клеток через IL4, синтез IL13. В-клетка превращается в плазматическую, которая синтезирует в больших количествах IgE, из-за которого формируются местные признаки воспаления, вследствие активации тучных клеток и базофилов. С низким уровнем Th2 молекулярный механизм патогенеза БА представлен нейтрофильным воспалением дыхательных путей. Таким образом, заболевание с различными эндотипами требует иные подходы в лечении и диагностике. Классическая классификация Джелла-Кумбса не учитывает влияние эндотипов по современным меркам, поэтому перед врачами появляется необходимость использования новой номенклатуры аллергических заболеваний.

В 2023 году членами Европейской Академии Аллергологов и Клинических Иммунологов (ЕААСІ) опубликован позиционный документ с обновленной классификацией гиперчувствительности [3]. Современный подход, основанный на достижениях понимания метаболических и патогенетических механизмов, позволяет точнее понимать патогенез аллергических заболеваний и даёт возможность более персонализированного подхода к диагностике и лечению пациентов с данными заболеваниями.

Позиционный документ ЕААСI представляет расширение классификации реакций гиперчувствительности до 9 типов: антитело- (I-III) и клеточно-опосредованные (IVa-c) процессы, тканевые механизмы (V-VI), прямой ответ на воздействие химических веществ (VII). Примечательно для клинической работы, что в практике могут встречаться комбинации сразу нескольких типов реакции гиперчувствительности или переход одного типа в другой в течении жизни пациента [2]. Рассмотрим содержание классификации:

Реакции гиперчувствительности I типа. Объясняет следующие патологии: аллергический риноконъюнктивит, БА, атопический дерматит, острая крапивница и/или ангионевротический отек, пищевая и инсектная аллергия. В ходе сенсибилизации, которую обеспечивает первый контакт с аллергеном, происходит выброс цитокинов; дифференциация наивных Т-лимфоцитов и повышение продукции аллерген-специфических IgE В-лимфоцитами. Эффекторная фаза возникает после повторного контакта с аллергеном и включает дегрануляцию тучных клеток вследствие связывания IgE с его высокоаффинным рецептором (FcεRI), экспрессируемого на поверхности базофилов и тучных клеток.

Реакции гиперчувствительности II типа. Патологии: лекарственно-опосредованные реакции, аллергическая иммунная цитопения (иммунная тромбоцитопения, иммунная гемолитическая анемия), миастения гравис, синдром Гудпасчера и др. В основе патогенеза лежит синтез IgG и IgM, которые связываются с антигенами на поверхности клеток организма, приводя к их гибели в ходе активации различных эффекторных механизмов (активация классического пути системы комплемента, генерирующей цитолитический мембраноатакующий комплекс C5b-9, антителозависимая клеточная цитотоксичность (ADCC), опсонизация клетки-мишени антителами с последующим фагоцитозом клетками системы мононуклеарных фагоцитов.

Реакции гиперчувствительности III типа. Патологии: гиперчувствительный пневмонит, сывороточная болезнь, феномен Артюса, ревматоидный артрит, постстрептококковый гломерулонефрит. Связывание IgG и IgM с растворимыми антигенами и откладывание образованных иммунных комплексов во внесосудистом пространстве. Там происходит активация системы комплемента, а хемоаттрактанты (C5a и т.д.) привлекают нейтрофилы, активация которых является спусковым механизмом для каскада реакций воспаления.

Реакции гиперчувствительности IV типа (IVa-IVc). В реакции гиперчувствительности замедленного типа выделили 3 подтипа. IVa или T1 осуществляется через Th1, Tc1 и т.д. Основным звеном является дифференцировка наивных клеток в Th1, под действием IL12, синтезированного АПК. Эффекторная клетка синтезирует IL2, IFN-γ: вследствие чего происходит активация и индукция воспаления. При IVb (T2) типе дифференцируются Th2. Механизм описан выше. Активируется продукция антител. IVc (T3) отличается от остальных типов, дифференцировкой Th17. Th17, Tc17, ILC3 и других клеток, продуцирующих IL17A и IL17F, вовлечены в нейтрофильное воспаление, патогенез нейтрофильной астмы. Образовались Th17 из наивных клеток с помощью IL-6, IL-21, IL-23 и TGF-β.

Реакции гиперчувствительности V типа связана с дефектом эпителиального

барьера и дисбиоза микробиома. При данном типе активируются Т1, Т2 и Т3 ответы, с их особенностями в патогенезе воспаления и развития аллергической реакции.

Реакции гиперчувствительности VI типа (метаболически-индуцированная иммунная дисрегуляция). С ростом количества пациентов с ожирением и бронхиальной астмой увеличился объем данных о ходе развития патологических процессов в их организмах. У пациентов с ожирением наблюдаются тяжелые нарушения в метаболизме, состоянии эпителиального барьера, особенно в кишечнике. Так аллерген проникает через эпителиальный барьер, запуская местный иммунный ответ. Активированные клетки (пример: Th2) мигрируют через кровоток, оседая во внесосудистом пространстве и вызывая на месте воспаление, которое переходит в хроническую форму. Цитокины активированных клеток вызывают дифференцировку наивных клеток, процесс распространяется от начального места нарушения эпителиального барьера.

Реакция гиперчувствительности VII типа (прямой клеточный и воспалительный ответ на химические вещества). Происходит у пациентов с аллергическим риноконъюнктивитом, бронхиальной астмой, атопическим дерматитом, острой крапивницей и/или ангиоотеком, лекарственной аллергией. Одним из примеров идиосинкразии - гиперчувствительность к нестероидным противовоспалительным препаратам и подразумевают три различных фенотипа: НПВС- ассоциированное обострение респираторного заболевания (у пациентов с ринитом и/или астмой с или без полипов носа), НПВС-ассоциированное ухудшение кожного процесса (при хронической спонтанной крапивнице), НПВС-спровоцированная острая крапивница/ангиоотек у здоровых лиц. Основной механизм формирования этих реакций – ингибирование ЦОГ-1 с последующей активацией липоксигеназы и усиленным синтезом лейкотриенов. Состояние, известное как аспириновая триада (триада Самтера), обусловлено дисбалансом метаболизма арахидоновой кислоты. Аспирин и другие НПВС ингибируют ферменты ЦОГ-1 и ЦОГ-2, усугубляя этот дисбаланс и оказывая протекцию воспалению.

Заключение. Создание новой классификации аллергических реакций является необходимостью, неотъемлемым этапом на пути изучения гиперчувствительности. Со временем будет собрано намного больше данных о патогенезе заболеваний, что будет возможно благодаря развитию технологий. Следующей задачей для реализации основных целей, персонализированном лечении заболеваний данного типа, с помощью средств, направленных на определенные эндотипы патологии, станет распространение новой номенклатуры, обновление клинических рекомендаций, согласно последним мета-исследованиям. Эта работа - отправная точка в исследовании диагностики и лечении аллергических заболеваний.

Список литератур:

1. Патогенетические аспекты фенотипирования бронхиальной астмы / Ю. Ю. Бяловский, С. И. Глотов, И. С. Ракитина, А. Н. Ермачкова. - Текст : электронный // Российский медико-биологический вестник имени академика И.П. Павлова. - 2024. - Т. 32, № 1. – С. 145-157. DOI: <https://doi.org/10.17816/PAVLOVJ181606>
2. Шевяков М. А., Подгайнова А. А., Берест Д. Г., Митрофанов В. С. Клинический случай успешного лечения эозинофильного эзофагита у взрослой пациентки. Проблемы

медицинской микологии. 2024; 26 (1): 29 - 34. DOI : 10.24412/1999-6780-2024-1-29-34

3. Jutel M, Agache I, Zemelka-Wiacek M, et al. Nomenclature of allergic diseases and hypersensitivity reactions: Adapted to modern needs: An EAACI position paper. *Allergy*. 2023;78:2851-2874. DOI: 10.1111/all.15889 145-157. – DOI: <https://doi.org/10.17816/PAVLOVJ181606>

УДК: 616.37

Подхватилина Н.А., Фисюк Е.А.

ОЦЕНКА ТРИГГЕРНЫХ ФАКТОРОВ, ВЛИЯЮЩИХ НА РАБОТУ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

ФГБОУ ВО Тверской государственной медицинской университет, Тверь, Россия

Научный руководитель – к.м.н., доцент, доцент кафедры общей хирургии

Морозов А.М.

Резюме. В условиях современного общества, характеризующегося изменением образа жизни, и влиянием большого количества триггерных факторов – функциональное состояние поджелудочной железы приобретает особое значение. Целью является анализ распространенность триггерных факторов, влияющих на функционирование поджелудочной железы, среди населения. При детальном рассмотрении каждого триггерного фактора можно отметить, что в большей степени подвержены различным заболеваниям поджелудочной железы мужчины.

Ключевые слова: поджелудочная железа; алкоголь; курение; стресс; опрос.

Podhvatilina N.A., Fisyuk E.A.

ASSESSMENT OF TRIGGER FACTORS AFFECTING PANCREATIC FUNCTION

Tver State Medical University, Tver, Russia

Scientific supervisor - Candidate of Medical Sciences, Associate Professor of the Department of General Surgery Morozov A.M.

Abstract. In a modern society characterized by lifestyle changes and the influence of a large number of trigger factors, the functional state of the pancreas is of particular importance. The aim is to analyze the prevalence of trigger factors affecting the functioning of the pancreas among the population. Upon a detailed examination of each trigger factor, it can be noted that men are more susceptible to various diseases of the pancreas.

Key words: pancreas; alcohol; smoking; stress; survey.

Введение. В условиях современного общества, характеризующегося изменением образа жизни, ухудшением питания, увеличением уровня стресса, употреблением спиртосодержащих напитков и никотина понимание влияния различных триггеров на функциональное состояние поджелудочной железы приобретает особое значение [3,14].

Поджелудочная железа играет ключевую роль в процессе пищеварения и регуляции

углеводного обмена, а ее функциональные нарушения могут привести к серьезным метаболическим расстройствам и ухудшению качества жизни пациентов. Исследования показывают, что на состояние поджелудочной железы может оказывать влияние множество факторов, включая диету, физическую активность, генетическую предрасположенность, воздействие токсинов и стрессовые ситуации [7,13,14].

Необходимость исследования триггерных факторов, влияющих на поджелудочную железу, обусловлено растущей заболеваемостью данной железы, такими как панкреатит, сахарный диабет 2 типа и онкология поджелудочной железы. В исследовании Халадова Л.М. и соавторов (2023), указано, что острый панкреатит среди заболеваний органов брюшной полости занимает третье место в мире (22,8%) [1,2,5,8,10,11].

Необходимость более глубокого изучения влияния данных триггерных факторов особенно актуальна в связи с увеличением распространенности метаболических заболеваний. Понимание механизмов действия различных триггеров на метаболическом и клеточном уровнях в поджелудочной железе могут открыть новые подходы к профилактике и лечению заболеваний, связанных с ее дисфункцией [3,4,6,12].

Цель. Выявить распространенность триггерных факторов, влияющих на функционирование поджелудочной железы.

Методы исследования. В ходе настоящей работы был проведен анонимный опрос с помощью анкетирования, которое содержала 20 вопросов. В ходе анкетирования были опрошены 140 человек, среди них 77 женщины (57,2%) и 60 мужчин (42,8%) (уровень значимости $p=0.040$), которые составили 5 возрастных групп: 18-20 лет - 44 (31,4%), 20-30 лет – 56 (40%), 31-40 лет - 28 (20%), 41-50 лет – 9 (6%), старше 51 – 3 (2,6%) [9]. В качестве оценки статистической достоверности использовался критерий согласия Пирсона (хи-квадрат).

Результаты. Анализ употребления алкогольных напитков показал следующие данные: 112 человек (80%) употребляют алкоголь, среди них 61 женщин (54,7%), 50 мужчины (45,3%) (уровень значимости $p=0.140$). Только 28 респондентов (20%) – 18 женщин (12,8%) и 10 мужчин (7,2%) не пьют спиртосодержащие напитки (уровень значимости $p=0.033$). При вопросе какой тип напитков вы предпочитаете ответы оказались следующие: 73 респондента (52,1%) выбирают слабоалкогольные напитки – сидр, пиво; 80 человек (57,1%) признают среднеалкогольные напитки такие как вино, вино игристое; только 35 респондента (25%) предпочитают крепкий алкоголь – водка, настойка, виски. Исходя из ответов оказалось, что 48 респондентов (34,2%) могут употреблять разные типы алкоголя. Женщины предпочитают вино и вино игристое (46,4%), мужчины отдают свой выбор слабоалкогольным напиткам – пиву (28,3%) и крепким алкогольным напиткам – виске, водке (26,7%).

В вопросе о частоте употребления спиртосодержащих напитков была выявлена часть респондентов, которая предпочитает выпивать несколько раз в месяц 48 (42,8%). Также были даны ответы один раз в неделю и чаще 18 (12,8%). Весомая составляющая выбирала ответы несколько раз в год, несколько раз в полгода и несколько раз в два-три месяца в общей сумме 73 человек (52,3%), а ежедневно пьет только 1 респондент (0,7%).

Среди опрошенных курит чуть меньше половины - 66 человек (47,1%) из которых 42 мужчин (63%) и 24 женщины (37%) (уровень значимости $p=0.002$). Однако только 7

мужчин (10,6%) выкуривают больше одной пачки в день, 1-2 сигареты выкуривает 18 респондентов (27%) – 17 женщин (25%) и 1 мужчина (1,5%), 3-5 сигарет выкуривает 13 респондентов (19%) – 5 женщин (7,5%) и 8 мужчин (12%), 6-7 сигарет -19 респондентов (28%) из них 1 женщина (1,5%) и 18 мужчин (27%), 8 и более сигарет – 9 респондентов (13%) из них все мужчины.

Обезболивающие препараты принимают 42 респондента – 39 женщин (92,8%) и 3 мужчин (7,2%) (уровень значимости $p < 0,001$), при этом 5 человек – 4 женщины и 1 мужчина (12%) употребляют их один раз в неделю и чаще, а другие 37 (88%) - 31 женщина и 6 мужчин (уровень значимости $p < 0,001$), обращаются к обезболивающим препаратам крайне редко несколько раз в полгода или год. Большинство респондентов не используют обезболивающие препараты на постоянной основе.

Был задан вопрос, касающийся частоты стрессовых ситуаций у респондентов. 80 респондентов – 54 женщины (67%) и 26 мужчин (33%) на (57,1%) испытывают стресс редко (уровень значимости $p < 0,001$). Напротив, 45 респондентов – 32 женщины (71,1%) и 13 мужчин (28,9%) испытывают стресс часто (уровень значимости $p < 0,001$). Кроме того, имеется еще 15 респондентов – 14 мужчин (94%) и 1 женщина (6%), которые не попадают ни в одну из двух категорий (уровень значимости $p < 0,001$).

Анализ физической активности показал следующие результаты: активный образ жизни ведут 56 респондентов – 29 женщин (51%) и 27 мужчин (49%) (уровень значимости $p = 0,706$), посещают спортивные залы, малоактивный образ жизни ведут 74 респондента – 49 мужчин (63%) и 25 женщин (37%) (уровень значимости $p < 0,001$), 10 респондентов – 8 мужчин и 2 женщины ведут неактивный образ жизни (уровень значимости $p = 0,008$).

При исследовании гигиены питания респондентов получились следующие данные. Здорового питания придерживались 77 респондентов – 47 женщин (61%) и 30 мужчин (39%) (уровень значимости $p = 0,007$). Когда как 63 человека – 13 женщин (20%) и 50 мужчин (80%) не придерживались правильного питания (уровень значимости $p < 0,001$).

Процент людей, употребляющих фастфуд составил (65%) из них 40 женщин (43%) и 51 мужчина (57%) (уровень значимости $p = 0,103$). При этом, употребляют данный вид пищи несколько раз в полгода 25 респондентов (17,8%) из них 6 женщин и 19 мужчин, несколько раз два-три месяца 25 респондентов (17,8%) – 9 женщин и 16 мужчин, несколько раз в месяц 24 респондента (17,4%) - 4 женщины и 20 мужчин, несколько раз в неделю 2% - 3 мужчин, один раз в неделю 14 респондентов (10%) – 6 женщин и 8 мужчин. Данная тенденция показывает, что люди стараются минимизировать употребление пищи быстрого приготовления. Газированные напитки употребляют 98 респондента – 48 женщин (48%) и 50 мужчин (52%) (уровень значимости $p = 0,776$) с частотой один раз в неделю и реже, остальные 21 респондент - 13 женщин (61%) и 8 мужчин (39%) исключили из своего рациона сильногазированные напитки.

В ходе исследования были оценены показатели роста и массы тела. Исходя из представленных данных были рассчитаны среднее значения ИМТ по Кетле в соответствии с классификацией ИМТ от ВОЗ (1997).

В среднем нарушение массы тела встречалось у 34 (24,3%) респондентов – 20 женщина и 14 мужчин (уровень значимости $p = 0,146$). При детальном рассмотрении получены следующие результаты: 15 респондентов (10,7%) - дефицит массы тела, 11 респондентов

(8,5%) - избыточная масса тела, а ожирение 1-ой и 2-ой степени проходит у 5 респондентов (4,2%) и 3 респондентов (2,1%) соответственно. Нормальная масса тела у 106 респондентов (75,7%).

Подтвержденный сахарный диабет имеется только у 3 респондентов (0,02%), у 1 респондента (женщина) диабет 1 типа, а у 2 мужчин диабет 2 типа.

Анализ наследственных заболеваний поджелудочной железы у родственников, показал, что 28 респондентов (20%) не знают свою генетическую предрасположенность, 35 респондентов (25%) знают о болезнях родственников, остальные 77 респондентов (55%) не имеют родственников с болезнями поджелудочной железы. В то же время, 18 респондентов (12,8%) не знают есть ли у них хронические заболевания поджелудочной железы, 35 респондентов (25%) знают о своих хронических заболеваниях поджелудочной железы, а оставшиеся 87 респондентов (62,2%) не имеют заболеваний поджелудочной железы. Наличие подтвержденного гепатита выявлено у 1 респондента (0,7%), имеющего гепатит В. Ответы, на данные вопросы, дают понять, что доминирующая часть населения (75%) здорова или даже не подозревает о возможном наличии заболеваний поджелудочной железы, поскольку не знают о своих заболеваниях или родственниках.

В заключительной части анкетирования респондентам было предложено отметить влияние различных триггерных факторов, таких как употребление алкоголя, курения и жирной пищи на поджелудочную железу по 10 бальной шкале.

Влияние алкоголя на поджелудочную железу было оценено на 7,8 балла, оценка влияния употребления никотина составила 8,6 балла, а негативное влияние потребления жирной пищи было оценено в 8,2 балла.

Выводы. При детальном рассмотрении каждого триггерного фактора можно отметить, что в большей степени подвержены различным патологиям поджелудочной железы мужчины, так как у них чаще встречаются такие состояния, как употребление крепких спиртосодержащих напитков, никотина, жирной пищи и склонность малоактивному образу жизни.

Список литературы:

1. Аметов А.С. Сахарный диабет в исходе оперативных вмешательств на поджелудочной железе/ Е.Ю. Пашкова, Ю.И. Митченко, Д.А. Анциферова, К.А. Амикишиева // Доктор. Ру. – 2024. – №1. – С. 51-60. –DOI 10.31550/1727-2378-2024-23-1-51-60. – URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=64988752> (дата обращения: 03.07.2024).
2. Григорьева К.М. Злокачественные образования поджелудочной железы/ Д.В. Сушенкова, А.В. Пархимович// FORCIPE. – 2020. – Т.3, №5. –С.897-898. – URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=43461399> (дата обращения: 03.07.2024).
3. Джумабаева С.Э. Внешнесекреторная недостаточность поджелудочной железы при патологии органов пищеварения / Ф.А. Назирхужаев, М.Ю. Валиева// Экономика и социум. — 2022. — №2-1 (93). — С. 289-294. – URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=48038464> (дата обращения: 03.07.2024).
4. Диабетическая дистальная полинейропатия: профилактика, лечение и реабилитация (обзор литературы) / А.М. Морозов, Т.В. Сорокикова, С.В. Жуков [и др.] // Вестник медицинского института "РЕАВИЗ": реабилитация, врач и здоровье. – 2022. – № 3(57).

- С. 68-77. – DOI 10.20340/vmi-rvz.2022.3.CLIN.4. – URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=49099103> (дата обращения: 03.07.2024).
5. Результаты лечения острого аппендицита открытым и лапароскопическим способами / Ю.О. Чарьев, Э.М. Аскеров, А.М. Морозов, Д.А. Жукова // Успенские чтения : Материалы научно-практической конференции врачей России с международным участием, посвященной 60-летию кафедры общей хирургии Тверского государственного медицинского университета, Тверь, 25–26 сентября 2015 года / Под редакцией Е.М. Мохова. Том Выпуск 8. – Тверь: ООО "Издательство "Триада", 2015. – С. 85-86. – URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=29225514> (дата обращения: 03.07.2024).
6. Роль неинвазивных методов исследования в современной клинической практике / Т.В. Сороковикова, А.М. Морозов, С.В. Жуков [и др.] // Современные проблемы науки и образования. – 2022. – № 2. – С. 137. – DOI 10.17513/spno.31502. – URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=48418800> (дата обращения: 03.07.2024).
7. Свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2022620562 Российская Федерация. База данных учебно-методических материалов по дисциплине "Анатомия человека": № 2022620324: заявл. 22.02.2022: опубли. 16.03.2022 / М.А. Беляк, К.В. Буканова, Э. В. Буланова [и др.]. – URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=48137431> (дата обращения: 03.07.2024).
8. Свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2022621316 Российская Федерация. Вопросы оказания неотложной медицинской помощи на догоспитальном этапе: № 2022621093: заявл. 19.05.2022: опубли. 03.06.2022 / М.А. Беляк, К.В. Буканова, Э.В. Буланова [и др.]; заявитель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Тверской государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации. – URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=49194135> (дата обращения: 03.07.2024).
9. Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2021661873 Российская Федерация. Программа для проведения дистанционного социологического анкетирования: № 2021660772: заявл. 05.07.2021: опубли. 16.07.2021 / С.В. Жуков, М.В. Рыбакова, П. И. Дементьева [и др.]. – URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=46483561> (дата обращения: 03.07.2024).
10. Танаева, Т.А. Анализ связи сахарного диабета 2-го типа и стеатоза поджелудочной железы / Т.А. Танаева, Л.А. Иванов // Пермский медицинский журнал. – 2023. – Т. 40, № 2. – С. 5-10. – DOI 10.17816/pmj4025-10. – URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=53766702> (дата обращения: 03.07.2024).
11. Халадова Л.М. Показатели заболеваемости и смертности при остром панкреатите как индикатор состояния медицинской помощи на региональном уровне / Г.Э Зангинов, А.М. Карсанов // – 2023. – №25 (123). – С.1298-1303. – DOI 10.32687/0869-866X-2020-28-6-1298-1303. – URL: <https://scilead.ru/article/4705-pokazateli-zabolevaemosti-i-smertnosti-pri-os> (дата обращения: 03.07.2024).
12. Хронический болевой синдром, факторы риска развития на этапах хирургического вмешательства / А.М. Морозов, А.Н. Сергеев, В.А. Кадыков [и др.] // Сибирское медицинское обозрение. – 2021. – № 5(131). – С. 5-13. – DOI 10.20333/25000136-2021-5-5-13. – URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=47168812> (дата обращения: 03.07.2024).

03.07.2024).

13. Чартаков К. Морфологическая характеристика поджелудочной железы при патологии / Х.Х. Чартакова //Мировая наука. – 2024. – №3 (84). – С.89-91. – URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=65113883> (дата обращения: 03.07.2024).
14. Эффективность специализированного лечебного диетического продукта питания в комплексной терапии больных панкреатитом в стадии обострения / О.Н. Минушкин, Т.Л. Пилат, Л. В. Масловский [и др.] // Медицинский совет. – 2023. – Т. 17, № 8. – С. 87-95. – DOI 10.21518/ms2023-131. – DOI: 10.21518/ms2023-131. – URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=53817453>

УДК 616 – 092 : 612.017.1

Решетникова С.С., Галак И. Р.

**РОЛЬ НЕКОТОРЫХ НЕНАСЫЩЕННЫХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ, ОКИСЛЕННЫХ
ФОСФОЛИПИДОВ И ЛИПОПРОТЕИДОВ В ФОРМИРОВАНИИ
НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ВНЕКЛЕТОЧНЫХ ЛОВУШЕК**

ФГБОУ ВО Читинская государственная медицинская академия, Чита, Россия

Резюме. Формирование внеклеточных ловушек нейтрофилами требует богатого репертуара молекулярных и клеточных механизмов. Данный мини-обзор описывает роль олеиновой и линолевой кислот, а также окисленных фосфолипидов и липопротеидов в инициации НЕТоза.

Ключевые слова: НЕТоз; ненасыщенные жирные кислоты; нейтрофилы, окисленные фосфолипиды, окисленные липопротеиды

Reshetnikova S.S., Galak I.R.

**THE ROLE OF SOME UNSATURATED FATTY ACIDS, OXIDIZED
PHOSPHOLIPIDS AND LIPOPROTEIDS IN THE FORMATION OF NEUTROPHIL
EXTRACELLULAR TRAPS**

Chita State Medical Academy, Chita, Russia

Abstract. The formation of extracellular traps by neutrophils requires a rich repertoire of molecular and cellular mechanisms. This mini-review describes the role of oleic and linoleic acids, as well as oxidized phospholipids and lipoproteins in the initiation of NETosis.

Key words: NETs; unsaturated fatty acids; neutrophils; oxidized phospholipids; oxidized lipoproteins

Нейтрофилы относятся к основному типу клеток неспецифической резистентности. Многие исследователи отмечают широкую фенотипическую гетерогенность и функциональную универсальность этих клеток [9]. Эффекторными механизмами нейтрофилов, направленные на уничтожение патогенов, включают дегрануляцию, фагоцитоз, образование внеклеточных ловушек. До недавнего времени эти функции считались единственным назначением нейтрофильных гранулоцитов, но в последних исследованиях

отмечается, что нейтрофилы обладают более разнообразным спектром функциональных реакций, которые выходят за рамки простого уничтожения микроорганизмов. Они, в ответ на многочисленные сигналы, продуцируют цитокины и другие провоспалительные факторы, регулируют как воспаление [3], так и работу иммунной системы в целом, а также вносят весомый вклад в работу системы гемостаза [5].

Генерация нейтрофильных внеклеточных ловушек (NETs) реализуется при воздействии различных факторов, как инфекционного, так и неинфекционного происхождения [2]. В исследовании, проведенном S. Yotsumoto и др. продемонстрировано ускорение окисления фосфолипидов мембраны нейтрофилов при действии сульфосалазина, что способствует формированию NETs [11]. Нейтрофилы реагируют на окисленные фосфолипиды не только эндогенного, но и экзогенного происхождения, они способны распознавать их с помощью экспрессируемых на мембране рецепторов, а также активно поглощают их в свою цитоплазму. [11].

P. Alarcón и соавторами показано стимулирующее влияние олеиновой и линолевой кислот, которые индуцируют образование NETs независимо от активации NADPH-оксидазы и рецептора свободных жирных кислот [6] в эксперименте на коровьих нейтрофильных гранулоцитах. Олеиновая кислота способствует мобилизации ионов Ca^{++} , усиливает фосфорилирование митоген-активируемой протеинкиназы (MAPK), а также генерацию супероксидного анион-радикала [6]. Эти же авторы определили, что образование ловушек нейтрофилами при действии олеиновой и линолевой кислот обусловлено PAX1-опосредованным (паннексин-1) высвобождением АТФ, с последующей активацией P2X1-рецепторов [6].

Фактор активации тромбоцитов (PAF), имеющий структуру лизофосфолипида [6], активирует нейтрофилы и ведет к формированию внеклеточных ловушек [6]. Активированные тромбоциты выделяют PAF, а также подобные ему окисленные фосфолипиды [6], которые аналогичным образом индуцируют выброс экстрацеллюлярной сети нейтрофильными гранулоцитами [6,8].

Независимый фактор риска развития сосудистых катастроф – окисленные липопротеиды низкой плотности (оЛПНП) являются мощным провоспалительным фактором, модулирующий функцию различных типов лейкоцитов [7]. оЛПНП могут быть распознаны TLR2 (Toll-like receptor) и TLR6, экспрессируемыми на поверхности нейтрофилов, что приводит к запуску сигнального пути MAPK и последующую генерацию активных форм кислорода (АФК) [7]. Накопление АФК, повышение концентрации внутриклеточного Ca^{++} и другие глубокие клеточные перестройки создают благоприятные условия для активации фермента PAD-4 (пептидил-аргинин деиминаза) [4]. Данный фермент является одним из ключевых факторов необходимых для NETоза. Точкой приложения PAD-4 являются гистоны, а именно – остатки аргинина, которые, имея положительный заряд, создают возможность образование связи с ДНК. Пептидил-аргинин деиминаза катализирует превращение положительно заряженных остатков аргинина в нейтральный цитруллин, вследствие чего связь между гистонами и ДНК ослабевает, что приводит к процессу деконденсации хроматина [10]. Способность оЛПНП стимулировать образование NETs является важным патогенетическим звеном, благоприятствующим развитию сосудистых катастроф, так как выброс хроматина, сериновых протеаз, тканевого и других факторов

сопряжено с активацией тромбоцитов, коагуляционного каскада, системы комплемента, которые в конечном итоге приведут к тромбообразованию [1].

Заключение. Можно отметить немаловажную роль влияния липидных соединений на функциональную активность нейтрофилов. Окисленные фосфолипиды и липопротеиды выступают в качестве провоспалительных, атерогенных и тромбогенных агентов, в том числе за счёт того, что способны индуцировать образование внеклеточных ловушек нейтрофилами. Олеиновая и линолевая кислоты способны инициировать НЕТоз без участия рецептора жирных кислот и NADPH-оксидазы. Эти данные подтверждают функциональную универсальность и высокую реактивность нейтрофильных гранулоцитов, их участие не только в уничтожении и элиминации микроорганизмов, но и в регуляции работы иммунной системы, гемостаза, а также значительную патогенетическую роль в развитии широкого спектра заболеваний, в том числе – сердечно-сосудистых.

Список литературы:

1. Бицадзе В. О. и др. Внеклеточные ловушки нейтрофилов (NETs) в патогенезе тромбоза и тромбовоспалительных заболеваний // Вестник Российской академии медицинских наук. – 2021. – Т. 76. – №. 1. – С. 75-85.
2. Воробьева Н. В. Нейтрофильные внеклеточные ловушки: новые аспекты // Вестник Московского университета. Серия 16. Биология. – 2020. – Т. 75. – №. 4. – С. 210-225.
3. Кузник Б.И., Цыбиков Н.Н., Витковский Ю.А. Единая гуморальная система защиты организма // Забайкальский медицинский вестник. - 2004. - № 4. - С. 13-19.
4. Терешин О. С., Исаева О. И., Никушкина К. Н. Пептидил-аргинин деиминаза 4 типа в опухолевой ткани и крови пациенток при различных подтипах рака молочной железы // Уральский медицинский журнал. – 2021. – Т. 20. – №. 2. – С. 64-68.
5. Цыбиков Н.Н., Кузник Б. И., Рудник М.И. Доказательство иммунного механизма регуляции ферментов гемостаза // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1982. – Т. 93. – № 5. С. 8.
6. Alarcón P. et al. Oleic and linoleic acids induce the release of neutrophil extracellular traps via pannexin 1-dependent ATP release and P2X1 receptor activation // Frontiers in Veterinary Science. – 2020. – Т. 7. – С. 260.
7. Awasthi D. et al. Oxidized LDL induced extracellular trap formation in human neutrophils via TLR-ПК-IRAK-MAPK and NADPH-oxidase activation // Free Radical Biology and Medicine. – 2016. – Т. 93. – С. 190-203.
8. Dou H. et al. Oxidized phospholipids promote NETosis and arterial thrombosis in LNK (SH2B3) deficiency // Circulation. – 2021. – Т. 144. – №. 24. – С. 1940-1954.
9. Rosales C Neutrophil: A Cell with Many Roles in Inflammation or Several Cell Types? // Front. Physiol. - 2018. - Vol.9. - P.113. -. DOI: 10.3389/fphys.2018.00113
10. Thiam H. R. et al. Cellular mechanisms of NETosis // Annual review of cell and developmental biology. – 2020. – Т. 36. – №. 1. – С. 191-218.
11. Yotsumoto S. et al. Hyperoxidation of ether-linked phospholipids accelerates neutrophil extracellular trap formation // Scientific reports. – 2017. – Т. 7. – №. 1. – С. 16026.

УДК: 616.379-008.64

Ситнова В. А., Смыслова А. Ю.

ОЦЕНКА ТРИГГЕРНЫХ ФАКТОРОВ, СПОСОБСТВУЮЩИХ РАЗВИТИЮ САХАРНОГО ДИАБЕТА 2 ТИПА СРЕДИ НАСЕЛЕНИЯ

ФГБОУ ВО Тверской государственный медицинский университет, Тверь, Россия

Научный руководитель - к.м.н., доцент, доцент кафедры общей хирургии

Морозов А.М.

Резюме. Сахарный диабет (СД) признан мировой медико-социально значимой проблемой. По данным федерального регистра РФ общая численность пациентов с сахарным диабетом на 1 января 2022 года составляла 4 871 863 человека (3,35% населения страны), из них на долю СД2 приходится 92,3% — это 4,5 млн человек. Целью является определение степени распространенности триггерных факторов сахарного диабета 2 типа среди молодого населения. Избыточный вес и психо-эмоциональные перегрузки более характерны для молодых людей с высшим образованием, а несоблюдение гигиены питания, курение, употребление алкоголя чаще встречаются среди молодых людей со средним образованием.

Ключевые слова: тестирование; анкетирование; опрос; респондент; сахарный диабет.

Sitnova V. A., Smyslova A. Y.

ASSESSMENT OF TRIGGER FACTORS CONTRIBUTING TO THE DEVELOPMENT OF TYPE 2 DIABETES MELLITUS AMONG THE POPULATION

Tver State Medical University, Tver, Russia

Scientific supervisor - Candidate of Medical Sciences, Associate Professor of the Department of General Surgery Morozov A.M.

Abstract. Diabetes mellitus (DM) is recognized as a globally medically and socially significant problem. According to the federal register of the Russian Federation, the total number of patients with diabetes mellitus on January 1, 2022 was 4,871,863 people (3.35% of the country's population), of which 92.3% accounted for DM2 — 4.5 million people. The aim is to determine the prevalence of trigger factors of type 2 diabetes mellitus among the young population. Overweight and psychoemotional overload are more typical for young people with higher education, and non-compliance with food hygiene, smoking, and alcohol consumption are more common among young people with secondary education.

Key words: testing; questionnaire; survey; respondent; diabetes mellitus.

Введение. Сахарный диабет (СД) признан мировой медико-социально значимой проблемой [13]. По данным федерального регистра РФ общая численность пациентов с сахарным диабетом на 1 января 2022 года составляла 4 871 863 человека (3,35% населения страны), из них на долю СД 2 типа приходится 92,3% — это 4,5 млн человек [9]. Из-за неуклонного роста сахарный диабет представляет высокую угрозу посредством высокой инвалидизации и смертности населения [2]. По подсчетам экспертов ВОЗ, 6,28%

населения мира страдают диабетом 2 типа, а показатель распространенности составляет 6059 случаев на 100 000 человек. Ожидается, что к 2030 году это число возрастет до 7079 человек на 100 000 человек. Более того, более миллиона человек ежегодно умирают от осложнений сахарного диабета 2 типа, что делает его девятой по значимости причиной смерти в мире [14].

Избыточная масса тела, висцеральное ожирение, гиподинамия, частые стрессы, наследственность и др. – являются триггерами СД 2 типа [7,11,15]. Кроме перечисленных факторов на развитие СД 2 типа влияют курение и употребление алкоголя [4].

Постоянно разрабатываются новые схемы лечения и коррекции состояния у лиц с диагнозом СД 2 типа, но гораздо важнее предупредить развитие данного заболевания [3,8]. Именно поэтому определение и нивелирование триггерных факторов развития СД 2 типа поможет остановить рост числа данного заболевания, снизить инвалидизацию населения и ее смертность [1,5,6].

Цель. Определить степень распространенности триггерных факторов сахарного диабета 2 типа среди молодого населения.

Методы исследования. Был проведен анонимный опрос среди молодых людей 15-30 лет, среди которых 115 мужчин и 115 женщин (уровень значимости $p=1.000$). В опросе приняли участие 230 человек, среди которых 115 респондентов, имеющих профессиональное среднее образование или получающие его в настоящее время (далее респонденты со средним образованием) и 115 респондентов, имеющих высшее образование или получающие его в настоящее время (далее респонденты с высшим образованием) [12]. В качестве оценки статистической достоверности использовался критерий согласия Пирсона (хи-квадрат).

Результаты. Ни одному из респондентов не поставлен диагноз сахарный диабет. Случаи незначительного повышения уровня глюкозы (сахара) в крови (от 5,6 до 6,9 ммоль/л) были выявлены только у 5,2% респондентов, причем среди респондентов со средним образованием таких 6%, а с высшим – 4,3%.

38,7% респондентов указали, что их родственникам поставлен диагноз – сахарный диабет, 43,9% ответили, что у их ближайших родственников нет данного диагноза. Остальные респонденты затруднились ответить на данный вопрос – 17,4%.

При проведении анкетирования респонденты указывали свои росто-весовые характеристики, на основании которых нами был вычислен индекс массы тела (ИМТ). Средний ИМТ опрошенных 22,84: 22,63 у респондентов со средним образованием, 23,05 - с высшим. Избыточный вес чаще наблюдался у опрошенных, имеющих высшее образование. Среди респондентов со средним образованием ИМТ превышающий норму имели 22,6% (максимальный ИМТ 35,58), тогда как у респондентов с высшим образованием ИМТ выше нормы имели 28,7% (максимальный 35,16) (уровень значимости $p=0.198$). То же самое можно сказать и об окружности талии. С целью оценить окружность талии в тест был включен вопрос о размере джинсов. Согласно форме для оценки риска диабета, окружность талии у женщин должна быть менее 80 см (это соответствует 48 размеру джинсов), у мужчин – менее 94 см (52 размер джинсов). Среди респондентов со средним образованием больший, чем указанный, размер джинсов имели 10,4% респондентов, причем мужчин из них больше, чем женщин (14,5% среди

респондентов-мужчин со средним образованием против 4,3% респондентов-женщин). Среди респондентов с высшим образованием больший, чем указанный, размер джинсов имели 9,6% респондентов, причем мужчин из них меньше, чем женщин (4,3% - мужчин, 13% - женщин).

Ответы на вопросы, связанные с гигиеной питания, показали, что принципов правильного питания чаще придерживаются респонденты с высшим образованием. 3-4 приема пищи (с учетом перекусов) в день имеют 56,5% респондентов со средним образованием и 73% с высшим (уровень значимости $p=0.028$), а 1-2 приема - 31,3% и 13,9% соответственно (уровень значимости $p<0,001$). При этом считали, что постоянно переедают 19,1% респондентов со средним образованием и 20,9% с высшим (уровень значимости $p=0.677$), случаи переедания по праздникам отмечали 31,3% и 27% соответственно (уровень значимости $p=0.388$).

На вопрос «присутствуют ли в Вашем ежедневном рационе 2 и более порции фруктов или овощей?» (1 порция фруктов и овощей, не считая картофеля, равна 200 г) отвечали «да»: 59% респондентов со средним образованием и 68,7% с высшим (уровень значимости $p=0.200$).

Газированные напитки, включая энергетики, не употребляют 12,1% респондентов со средним образованием и 27% с высшим, 1-2 раз в месяц – 36,5% и 41,7%, 2-3 раза в неделю – 17,4% и 15,6%, больше 3 раз в неделю – 34% и 15,7% соответственно.

Частота употребления фастфуда у респондентов практически одинаковая. Фаст-фуд не употребляют 8,7% респондентов со средним образованием и столько же с высшим, 1-2 раз в месяц – результаты также одинаковые по обоим уровням образования 76,5%, 2-3 раза в неделю – 7,8% респондентов со средним образованием и 9,6% с высшим, больше 3 раз в неделю – 7% и 5,2% соответственно.

По результатам опроса респонденты с высшим образованием чаще отмечали умеренное употребление алкоголя. Среди них употребляют алкоголь раз в месяц и реже 34,8%, 2-4 раза в месяц также 34,8%. Среди респондентов со средним образованием больше тех, кто совсем не употребляли алкоголь: среди них таких оказалось 34,8%, тогда как среди респондентов с высшим образованием их 23,5%. Но при этом респонденты со средним образованием чаще злоупотребляли алкоголем: 6% против 2,6%. Если сравнивать количество выпитого за один раз, то 3-4 порции (1 порция равна или 30 мл крепкого алкоголя, или 100 мл сухого вина, или 300 мл пива) среди респондентов со средним образованием и с высшим, практически одинаково 33,3% и 33%. Но среди тех, кто употребляет 1-2 порции, больше респондентов с высшим образованием – 47,7% против 40% респондентов со средним, а больше 4 порций респондентов с высшим образованием меньше – 19,3% против 26,7%

Среди некурящих большинство респондентов с высшим образованием - 65,2% против 47,8% (уровень значимости $p=0.014$). Курящих только электронные сигареты 21,7% с высшим образованием и 24,3% со средним (уровень значимости $p=0.561$). Среди курящих респондентов со средним образованием 31,3% выкуривают более 16 сигарет в день, при этом максимальное количество выкуриваемых сигарет в их ответах было указано 40. Максимальное количество среди курящих респондентов с высшим образованием 15. Менее 5 сигарет в день среди курящих примерно одинаково - 21,9 % среди респондентов

со средним образованием и 20% с высшим. От 5 до 10 сигарет в день – 15,6% респондентов со средним образованием и 33,3% с высшим, от 11 до 15 – 31,3% и 46,7% соответственно.

Режим дня, включая режим сна, постоянно соблюдают 10,4% респондентов со средним образованием и 16,5% с высшим, не соблюдают вообще – 37,4% и 22,6% соответственно.

Респонденты с высшим образованием более подвержены психо-эмоциональным перегрузкам. Испытывают их часто 38,3% респондента с высшим образованием и 34,8% со средним (уровень значимости $p=0.538$), иногда – 43,5% и 27,9%, редко – 14% и 20% (уровень значимости $p=0.113$), не отмечают – 4,3% и 17,3% (уровень значимости $p<0,001$) соответственно.

Выводы. Развитие сахарного диабета 2 типа в первую очередь связано с действием таких триггерных факторов, как избыточная масса тела, висцеральное ожирение, гиподинамия, частые стрессы, и др. Избыточный вес и психо-эмоциональные перегрузки более характерны для молодых людей с высшим образованием, а несоблюдение гигиены питания, курение, употребление алкоголя чаще встречаются среди молодых людей со средним образованием. Чтобы минимизировать риск возникновения сахарного диабета и его последствий, необходимо вести профилактическую работу среди молодежи по формированию здорового образа жизни с учетом особенностей разных образовательных групп.

Список литературы:

1. Диабетическая дистальная полинейропатия: профилактика, лечение и реабилитация (обзор литературы) / А.М. Морозов, Т.В. Сорокикова, С.В. Жуков [и др.] // Вестник медицинского института "РЕАВИЗ": реабилитация, врач и здоровье. – 2022. – № 3(57). – С. 68-77. – DOI 10.20340/vmi-rvz.2022.3.CLIN.4. – URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=49099103> (дата обращения: 15.08.2024).
2. Елиашевич, С.О. Ремиссия сахарного диабета 2 типа: возможности различных стилей питания / С.О. Елиашевич, А.П. Мишарова, О.М. Драпкина // Сахарный диабет. – 2024. – Т.27, №2. – С. 168-173. – DOI 10.14341/DM13050. – URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=66125057> (дата обращения: 15.08.2024).
3. Мкртумян, А.М. Новый мощный подход в лечении больных сахарным диабетом 2 типа / А.М. Мкртумян, М.И. Свиридова // РМЖ. Медицинское обозрение. – 2021. – Т.5, №9. – С. 592–597. – DOI 10.32364/2587-6821-2021-5-9-592-597. – URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=47599939> (дата обращения: 15.08.2024).
4. Моргунов, Л.Ю. Алкоголь и сахарный диабет: палка о двух концах / Л.Ю. Моргунов // Лечащий врач. – 2021. – № 3. – С. 10-15. – DOI 10.51793/OS.2021.24.3.002. – URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=46534219> (дата обращения: 15.08.2024).
5. Операции по трансплантации коронарных артерий (обзор литературы) / А.М. Морозов, А.Н. Сергеев, Э.М. Аскеров [и др.] // Вестник медицинского института "РЕАВИЗ": реабилитация, врач и здоровье. – 2023. – Т. 13, № 4. – С. 45-51. – DOI 10.20340/vmi-rvz.2023.4.CLIN.3. – URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=54476445> (дата обращения: 15.08.2024).
6. Особенности заживления ран у больных с нейроэндокринными патологиями / А.М. Морозов, А.Н. Сергеев, В.А. Кадыков [и др.] // Вестник экспериментальной и

- клинической хирургии. – 2021. – Т. 14, № 3(52). – С. 237-242. – DOI 10.18499/2070-478X-2021-14-3-237-242. – URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=47481568> (дата обращения: 15.08.2024).
7. Покровская, Е.В. Эндотелиальная дисфункция у лиц с ожирением при наличии и отсутствии сахарного диабета 2 типа: оценка специфических маркеров / Е.В. Покровская, Е.А. Шестакова, М.В. Шестакова // Сахарный диабет. – 2023. – Т.26, №5. – С. 439-455. – DOI: 0.14341/DM13088. – URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=54789719> (дата обращения: 15.08.2024).
 8. Роль неинвазивных методов исследования в современной клинической практике / Т.В. Сороковикова, А.М. Морозов, С.В. Жуков [и др.] // Современные проблемы науки и образования. – 2022. – № 2. – С. 137. – DOI 10.17513/spno.31502. – URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=48418800> (дата обращения: 15.08.2024).
 9. Сахарный диабет в Российской Федерации: динамика эпидемиологических показателей по данным федерального регистра сахарного диабета за период 2010-2022 гг. / И.И. Дедов, М.В. Шестакова, О.К. Викулова [и др.] // Сахарный диабет. – 2023. – Т. 26, №2. – С. 104-123. – DOI: 10.14341/DM13035. – URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=53739669> (дата обращения: 15.08.2024).
 10. Свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2022621316 Российская Федерация. Вопросы оказания неотложной медицинской помощи на догоспитальном этапе: № 2022621093: заявл. 19.05.2022: опубли. 03.06.2022 / М.А. Беляк, К.В. Буканова, Э. В. Буланова [и др.]; заявитель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Тверской государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации. – URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=49194135> (дата обращения: 15.08.2024).
 11. Свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2022620562 Российская Федерация. База данных учебно-методических материалов по дисциплине "Анатомия человека": № 2022620324: заявл. 22.02.2022: опубли. 16.03.2022 / М.А. Беляк, К.В. Буканова, Э.В. Буланова [и др.]. – URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=48137431> (дата обращения: 15.08.2024).
 12. Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2021661873 Российская Федерация. Программа для проведения дистанционного социологического анкетирования: № 2021660772: заявл. 05.07.2021: опубли. 16.07.2021 / С.В. Жуков, М.В. Рыбакова, П.И. Дементьева [и др.]. – URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=46483561> (дата обращения: 15.08.2024).
 13. Современные представления о патогенезе сахарного диабета 2-го типа / Д.В. Куркин, Е.И. Морковин, Д.А. Бакулин [и др.] // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. – 2022. – №4. – С. 34-49. – DOI: 10.19163/1994-9480-2022-19-4-34-49. – URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=50014699> (дата обращения: 15.08.2024).
 14. Epidemiology of Type 2 Diabetes - Global Burden of Disease and Forecasted Trends / MAB Khan, MJ Hashim, JK King et al. / Journal of epidemiology and global health. – 2020. – Vol. 10, No. 1. – P. 107-111. – DOI 10.2991/jegh.k.191028.001. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32175717/> (дата обращения: 15.08.2024).

15. Южакова, Е.В. Факторы риска перехода предиабета в сахарный диабет 2-го типа у пациентов, перенесших COVID-19 / Е.В. Южакова, Ж.Г. Шанько // Терапия. – 2023. – Т.9, №3. – С. 480-481. – DOI 10.18565/therapy.2023.3suppl.480-481. – URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=53864607> (дата обращения: 15.08.2024).

УДК 616.72-002.772

Степанов Е. А., Баясхаланова Ц.Б., Терешков П.П., Фефелова Е.В., Степанов А. В.

ОСОБЕННОСТИ СОДЕРЖАНИЯ IL-1b, IL-17, IL-18 и IL-10 В КРОВИ И БОЛЬНОМ СУСТАВЕ ПРИ РЕВМАТОИДНОМ АРТРИТЕ

ФГБОУ ВО Читинская государственная медицинская академия, Чита, Россия

Резюме. Ревматоидный артрит является наиболее распространенной формой воспалительного ревматологического заболевания, поражающей 0,5–1% населения. Ревматоидный артрит связан как с местными, так и с системными воспалительными процессами за счет регуляции воспалительных путей и дисбаланса нескольких медиаторов воспаления. Выявлена различная динамика содержания IL1b, IL10, IL17, IL18 в крови и суставной сумке. Предполагается, что они играют важную роль в патогенезе ревматоидного артрита.

Ключевые слова: ревматоидный артрит, цитокины.

Stepanov E. A., Bayaskhalanova Ts. B., Tereshkov P. P., Fefelova E. V., Stepanov A. V.

FEATURES OF IL-1b, IL-17, IL-18 AND IL-10 CONTENT IN BLOOD AND DISEASED JOINT IN RHEUMATOID ARTHRITIS

Chita State Medical Academy, Chita, Russia

Abstract. Rheumatoid arthritis is the most common form of inflammatory rheumatologic disease, affecting 0.5-1% of the population. Rheumatoid arthritis is associated with both local and systemic inflammatory processes through the regulation of inflammatory pathways and the imbalance of several inflammatory mediators. Various dynamics of the content of IL1b, IL10, IL17, IL18 in the blood and joint bag were revealed. They are thought to play an important role in the pathogenesis of rheumatoid arthritis.

Keywords: rheumatoid arthritis, cytokines.

Ревматоидный артрит (РА) является наиболее распространенной формой воспалительного ревматологического заболевания, поражающей 0,5–1% населения и приводящей к серьезным социально-экономическим последствиям. Он представляет собой хронический иммуноопосредованный воспалительный процесс, преимущественно синовиальных суставов, который приводит к раннему прогрессирующему необратимому костно-суставному повреждению, значительному функциональному дефициту, вторичному остеоартриту. Он часто связан с серьезными внесуставными системными проявлениями, которые приводят к сокращению продолжительности жизни [1].

Развитие опухшего сустава традиционно считается началом РА. В последние годы

появилась концепция РА как «континуума болезни». Согласно этой концепции, РА начинается с доклинической фазы, в которой люди, «имеющие риск» этого заболевания (из-за наличия генетических/экологических факторов риска), проходят через различные фазы аутоиммунитета и субклинического воспаления, прежде чем перейти в хроническое (и клинически очевидное) состояние болезни. Этот «континуум болезни» РА охватывает сложные механизмы заболевания и разнообразие профилей иммунных клеток у отдельных пациентов. За последнее десятилетие многочисленные исследования пытались предотвратить развитие РА (или отсрочить его начало) у людей, «имеющих риск», с некоторыми обнадеживающими результатами. Важный аспект, который следует учитывать, заключается в том, что не у всех людей, «имеющих риск», разовьется клинический РА [2].

РА связан как с местными, так и с системными воспалительными процессами за счет aberrантной регуляции воспалительных путей и дисбаланса нескольких медиаторов воспаления. Во многих иммунных реакциях и воспалительных процессах играют роль IL-1b, IL-17, IL-18 и IL-10. Данные молекулы являются одними из ключевых в развитии РА [3, 4, 5].

Однако изменения количества этих цитокинов изучалось в основном в крови, а данные о их количестве в поврежденных суставах довольно противоречивыми.

Цель исследования.

Выявить изменения концентрации цитокинов IL-1b, IL-17, IL-18 и IL-10 в крови и в поврежденном суставе при РА.

Материалы и методы исследования.

Исследование было проведено на 40 крысах линии Wistar, средний возраст особей – 18-20 недель, вес – 200-300 г. В ходе эксперимента животные были разделены на 4 группы, три из которых экспериментальные, четвертая интактная. В начале исследования каждому животному экспериментальных групп была выполнена внутрибрюшинная инъекция раствора коллагена 2 типа (Chondrex, Inc., США) в неполном адьюванте Фрейнда. Это стандартный вариант вызвать экспериментальный ревматоидный артрит [6].

Животные содержались в условиях вивария, оборудованного в соответствии с санитарными требованиями. Протокол локального этического комитета №124 от 10.11.2022 г.

Выведение животных из эксперимента осуществляли на 7, 14, 21 дни, далее осуществляли забор материала (суставы с околосуставными тканями).

Концентрацию интерлейкинов IL1b, IL10, IL17, IL18 определяли, используя наборы для мультиплексного анализа Rat Inflammation Panel V02 (Biolegend, США) с помощью проточного цитофлуориметра Cytomics FC500 (Beckman Coulter, США).

Статистический анализ проводили с помощью программы Jampvi версия 2.3. Перед началом анализа вариационные ряды тестировались на нормальность, при помощи критерия Шапиро-Уилка. Учитывая распределение признаков, отличное от нормального, полученные данные представлены в виде медианы, межквартильным интервалом (25-го; 75-го перцентилей). Сравнение количественных признаков выполняли с применением критерия Краскела-Уоллиса (H). Во всех случаях различия считали статистически значимыми при $p < 0,001$.

Результаты исследования и обсуждение:

На первом этапе мы решили оценить при экспериментальном РА изменения в крови изучаемых цитокинов (табл. 1).

Таблица 1.

Концентрация цитокинов при экспериментальном ревматоидном артрите в крови

Показатели	Интактные животные	Индукцированный ревматоидный артрит		
		7 сутки	14 сутки	21 сутки
Группы	1	2	3	4
IL-10 пг/мл	37,4	69,6	149	816
	[28,30; 38,70]	[66,00; 86,80]	[120,00; 212,00]	[615,00; 1125,00]
		P1<0,001	P1<0,001	P1<0,001
			P2 <0,001	P2<0,001
				P3<0,001
IL-18 пг/мл	52,4	103	504	107
	[50,10; 53,90]	[92,90; 135,00]	[381,00; 1883,00]	[92,00; 157,00]
		P1<0,001	P1<0,001	P1<0,001
			P2<0,001	P1>0,001
				P3<0,001
IL-1b пг/мл	23,8	73,3	1339	228
	[23,00; 24,50]	[67,40; 107,00]	[1022,00; 3313,00]	[169,00; 307,00]
		P1<0,001	P1<0,001	P1<0,001
			P2<0,001	P2<0,001
				P3<0,001
IL-17A пг/мл	27,2	50,1	202	1205
	[21,30; 36,30]	[45,20; 51,50]	[179,00; 230,00]	[898,00; 1883,00]
		P1<0,001	P1<0,001	P1<0,001
			P2<0,001	P2<0,001
				P3<0,001

Примечание. P1- достоверность между 1 группой и 2, 3, 4

P2 - достоверность между 2 группой и 3, 4

P3 - достоверность между 3 группой и 4

На 7 сутки развития процесса увеличивается содержание IL1b, IL10, IL17, IL18. На 14 сутки их концентрация еще возрастает. К 21 суткам продолжает увеличиваться содержание IL10 и IL17, а вот IL1b и IL18 снижается. При этом концентрация IL18 становится равной на 7 и 21 сутки развития экспериментального РА.

В дальнейшем мы решили оценить при экспериментальном РА изменения изучаемых молекул в поврежденном суставе (табл. 2).

Таблица 2.

Концентрация цитокинов при экспериментальном ревматоидном артрите в гомогенате синовиальной оболочки

Показатель	Интактная группа	Индукцированный ревматоидный артрит		
		7 сутки	14 сутки	21 сутки
	1	2	3	4
IL10 пг/мл	37,2	500,3 (402,4; 555,7)	135,5 (114,6; 156,7)	36,5(31,8;42,7)
	(32, 2; 41,8)	P1<0,001	P1<0,001	P1>0,001
			P2 <0,001	P2<0,001
				P3<0,001
IL18 пг/мл	93,5	140,0 (134,3; 147,6)	102,0 (96,7; 108,1)	52,8(48,3; 57,1)
	(87,3; 99,6)	P1<0,001	P1<0,001	P1>0,001
			P2 <0,001	P2>0,001
				P3<0,001
IL1b пг/мл	23,9	114,4 (109,8; 119,6)	65,5 (61,3; 70,5)	23,8(20,9; 27,1)
	(20,3; 26,7)	P1<0,001	P1<0,001	P1>0,001
			P2 <0,001	P2<0,001
				P3<0,001
IL17A пг/мл	36,1	52,8 (45,6; 60,2)	46,6 (38,8; 52,4)	42,7(35,9; 49,1)
	(31,7; 42,9)	P1<0,001	P1<0,001	P1>0,001
			P2 <0,001	P2<0,001
				P3>0,001

Примечание. P1 - достоверность между 1 группой и 2, 3, 4

P2 - достоверность между 2 группой и 3, 4

P3 - достоверность между 3 группой и 4

На 7 сутки развития процесса также как в крови увеличивается содержание IL1b, IL10, IL17, IL18. Причем к 14 суткам концентрация этих цитокинов снижается, а к 21 суткам экспериментального РА содержание IL1b, IL10, IL17 приближается к показателям контроля, IL18 падает даже ниже показателей интактных животных.

Известно, что во многих иммунных реакциях и болезненных процессах IL-17, IL-18 и IL-1b усиливают воспаление и рекрутирование лейкоцитов, в то время как контррегуляторные цитокины IL-10 уменьшают воспаление. Нарушение регуляции и дисбаланс этих систем является механизмом аутоиммунной дисфункции, наблюдаемой при РА. Активированные макрофаги в тканях суставов больных РА секретируют различные провоспалительные цитокины. Эта цепочка реакций впоследствии активирует ядерный фактор транскрипции-kB (NF-kB), который является одним из основных воспалительных путей, наблюдаемых при РА. В этом пути рецептор-активатор лиганда ядерного фактора каппа-B (RANKL), который посредством повышенной активности остеокластов участвует в регенерации и ремоделировании кости, одновременно запускается и продуцирует высокие уровни IL-1b и IL-17 [7]. Повышенная экспрессия NK-kB также приводит к увеличению уровня металлопротеиназ (ММП), особенно ММП-2 и ММП-9, которые являются ферментами,

ответственными за разрушение хряща в синовиальной жидкости пациентов с РА. Кроме того, IL-18 обнаруживается в относительно более высоких концентрациях в синовиальных тканях пациентов с РА, что, также посредством активации NF-κB, индуцирует выработку IFN-γ Т-клетками и естественными клетками-киллерами в синовиальных тканях. Экспрессия IL-17 в сыворотке коррелирует с клинической активностью заболевания РА. IL-17 также стимулирует дифференцировку иммунных клеток Th17 и последующую остеокластическую активность. Таким образом, цитокиновые процессы, ответственные за прогрессирование заболевания и воспаление при РА, включают сложные механизмы обратной связи, главным образом, между интерлейкинами IL-1b, IL-17 и IL-18 [8]. IL-10 ингибирует как созревание, так и дифференцировку остеокластов. Высокий уровень IL-10 ингибирует активность провоспалительных цитокинов и также снижает экспрессию IL-6 и TNF-α [4]. Также важную роль в этом играет белок S100 [9]. По нашему мнению, возможно одним из эффективных методов лечения является коррекция иммунной системы [10, 11, 12].

Выводы.

1. При экспериментальном РА содержание IL1b, IL10, IL17, IL18 резко возрастает к 7 суткам экспериментального РА (острый период) как в крови так и в суставе.
2. В суставной сумке поврежденного сустава к 14 суткам содержание этих цитокинов снижается, однако в крови и концентрация становится еще больше.
3. К 21 суткам РА в крови продолжает увеличиваться содержание IL10 и IL17, а вот IL1b и IL18 снижается. Другая картина наблюдается в суставе: концентрация IL1b, IL10, IL17 и IL18 приближается к показателям контроля.

Список литературы:

1. A.N. Theofanidis, V. Timkova, Z. Macejova Kotradyova et al. Pain in Biologic-Treated Rheumatoid Arthritis Patients: The Role of Illness Perception Before and After the COVID-19 Pandemic. - DOI: 10.1002/msc.1958.// Musculoskeletal Care. – 2024. Vol. 22(4):e1958.
2. D. Sahin, A. Di Matteo, P. Emery / Biomarkers in the diagnosis, prognosis and management of rheumatoid arthritis: A comprehensive review. - DOI: 10.1177/00045632241285843. // Ann Clin Biochem. - 2024 1:45632241285843.
3. Степанов Е.А. Иммунные клетки и метаболизм триптофана в ткани суставной сумки при ревматоидном артрите. DOI: 10.29413/ABS.2024-9.4.23. // Acta biomedica scientifica. 2024 - № 9(4). С. 215-220.
4. Ni S., Shan F., Geng J. Interleukin-10 family members: Biology and role in the bone and joint diseases. - DOI: 10.1016/j.intimp.2022.108881. // Int Immunopharmacol. - 2022. - Vol. 108. – P. 108881.
5. А. В. Степанов, К. Г. Шаповалов. Мониторинг иммунной системы у пациентов в критическом состоянии (обзор). - DOI.org/10.15360/1813-9779-2024-3-2388. // Общая реаниматология. - 2024; №20 (3). – С. 42–52.
6. Šteigerová M., Šíma M., Slanař O. Pathogenesis of Collagen-Induced Arthritis: Role of Immune Cells with Associated Cytokines and Antibodies. - DOI: 10.14712/fb2023069020041. // Comparison with Rheumatoid Arthritis. Folia Biol (Praha). - 2023. – Vol. 69(2). –P. 41-49.
7. Ilchovska D., Barrow M. An Overview of the NF-κB mechanism of pathophysiology in

- rheumatoid arthritis, investigation of the NF-kB ligand RANKL and related nutritional interventions. - DOI.org/10.1016/j.autrev.2020.102741 //Autoimmunity Reviews. - 2021, Vol.20(2). - P.102741.
8. Lanspa M., Kothe B., Pereira M.R. et al. A Systematic Review of Nutritional Interventions on Key Cytokine Pathways in Rheumatoid Arthritis and Its Implications for Comorbid Depression: Is a More Comprehensive Approach Required? - DOI: 10.7759/cureus.28031. // Cureus. - 2022. - Vol.15. - P.14(8).
 9. Степанов Е.А., Баясхалагла Ц.Б., Фефелова Е.В. и др. Белок S100 и метаболиты триптофана в развитии ревматоидного артрита. // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2024. –Т.68, №3. – С. 31-36.
 10. Степанов А. В., Шаповалов К. Г. Иммунная коррекция у пациентов с сепсисом (обзор литературы) - DOI: 10.24884/2078-5658-2024-21-2-103-111 // Вестник анестезиологии и реаниматологии. – 2024. – Т. 21, № 2. – С. 103–111.
 11. Цепелев В.Л., Степанов А.В. Влияние регуляторных пептидов на продукцию провоспалительных цитокинов // Забайкальский медицинский вестник. - 2015. - № 2. - С. 147-150.
 12. Степанов А.В., Цепелев С.Л., Цепелев В.Л. и др. Результаты исследования эффективности синтетического иммуностимулятора нового поколения // Фундаментальные исследования. - 2012. - №12 (1). -С. 142-145.

УДК: 616-053.3

¹Сущенко Р.А., ²Панченко А.С.

ЛОКАЛЬНОЕ РЕМОДЕЛИРОВАНИЕ КОСТЕЙ СВОДА ЧЕРЕПА В ПАТОГЕНЕЗЕ КЕФАЛОГЕМАТОМ У НОВОРОЖДЕННЫХ

¹ФГБОУ ВО Читинская государственная медицинская академия, Чита, Россия

²ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет, Санкт-Петербург, Россия

Резюме. Изучались патологические изменения костей свода черепа в зоне сепарации надкостницы при кефалогематомах у новорожденных (определяли величину локальной деформации костной пластинки и уровень маркеров костного ремоделирования в сыворотке крови). Выявлено, что патологическое ремоделирование костей свода черепа у пациентов со средними и большими размерами кефалогематом проявлялось локальным остеоллизисом, а у пациентов с малым объемом поднадкостничного кровоизлияния гиперпластическими изменениями. При этом уровень маркеров костного ремоделирования в сыворотке крови был выше у пациентов с кефалогематомами малого объема.

Ключевые слова: новорожденный; кефалогематома; остеоллизис; оссификация; ремоделирование кости

¹Sushchenko R.A., ²Panchenko A.S.

LOCAL REMODELING OF CALVARIUM BONES IN THE PATHOGENESIS OF CEPHALOHEMATOMS IN NEWBORNS

¹*Chita State Medical Academy, Chita, Russia*

²*St. Petersburg State Pediatric Medical University, St. Petersburg, Russia*

Abstract. *Pathological changes in the bones of the calvarium in the zone of periosteum separation in cephalohematomas in newborns were studied (the magnitude of local deformation of the bone plate and the level of markers of bone remodeling in the blood serum were determined). It was revealed that pathological remodeling of the bones of the cranial vault in patients with medium and large cephalohematomas was manifested by local osteolysis, and in patients with a small volume of subperiosteal hemorrhage, hyperplastic changes. At the same time, the level of bone remodeling markers in the blood serum was higher in patients with small-volume cephalohematomas.*

Key words: *newborn; cephalohematoma; osteolysis; ossification; bone remodeling*

Актуальность

Кефалогематома – вид родовой травмы головы новорожденного, характеризующийся травматической отслойкой надкостницы от костей свода черепа [2]. Частота встречаемости кефалогематом варьирует от 0,2 до 10% случаев и не имеет тенденции к снижению [3]. Травматическая сепарация остеоактивных тканей в условиях длительно существующего поднадкостничного кровоизлияния может нарушать ход репаративного процесса с развитием осложнений [6, 7, 10]. Особым видом осложнения при кефалогематомах является патологическое ремоделирование костей свода черепа [4]. Существуют данные, указывающие на неопределенность патологических изменений костной ткани в зоне травматической сепарации надкостницы [12]. В основе ремоделирования костной ткани лежат механизмы остеолизиса и остеогенеза, которые могут быть отслежены в ходе патофизиологического процесса. Определение динамики локальных костных изменений в сочетании с мониторингом уровня маркеров костного ремоделирования стало основой нашего исследования.

Цель исследования – оценить динамику локальных костных изменений костей свода черепа, определить уровень маркеров костного ремоделирования в сыворотке венозной крови у новорожденных с кефалогематомами.

Методика

В исследовании участвовало 90 новорожденных. Первую группу (n=30) составили новорожденные с кефалогематомами средних и больших размеров (более 5 см в диаметре), вторую (n=30) с кефалогематомами малых размеров (менее 5 см), контрольная группа (n=30) сформирована из здоровых детей. Пациентам первой группы выполняли пункционное удаление гематомы на 10 сутки, во второй группе пункцию не проводили. Новорожденным с кефалогематомами проводили серию из двукратного инструментального и лабораторного обследования на 10-е и 28-е сутки жизни, в группе контроля исследование выполняли однократно. Критерии включения: гестационный возраст 37-41 неделя, наличие кефалогематомы. Критерии исключения: гестационный

возраст менее 37 недель, врожденные аномалии остеогенеза, родовая травма костей, противопоказания к проведению инвазивных манипуляций.

Инструментальное обследование было направлено на измерение величины деформации костной пластинки в проекции кефалогематомы. Для регистрации показателей использовалась ультрасонография (Voluson E6 GE, USA) и локальная краниометрия. Лабораторное исследование включало определение в сыворотке венозной крови уровня маркеров костного ремоделирования Бета-CrossLaps (bCTX) и N-Остеокальцина (OC). Концентрацию маркеров определяли методом иммуноферментного анализа на анализаторе Biochrom Asys Expert 96 (ASYS HITECH, AUT).

Статистический анализ выполняли с помощью пакета программ IBM SPSS Statistics Version 25.0 (IBM Corporation, USA). Тип распределения данных оценивали с помощью критерия Шапиро-Уилка. Количественные данные имели распределение отличное от нормального и были описаны с применением медианы (Me) и процентилей (25; 75). Для определения равенства медиан применяли однофакторный дисперсионный анализ Краскела-Уоллиса, при $p < 0,05$ различия считали значимыми. Парное сравнение показателей осуществляли с помощью критерия Манна-Уитни (U) и поправки Бонферрони. Для оценки значимости изменения показателей использовали тест Вилкоксона (Т-критерий преобразован в величину Z (Z-score)). Корреляционный анализ проводили путем расчета коэффициента ранговой корреляции Спирмена и определения уровня его значимости. Статистическую значимость принимали при $p < 0,05$.

Результаты

При оценке данных краниометрии отмечено, что на 10-е сутки величина остеолитического провисания костной пластинки в проекции кефалогематомы у пациентов первой группы превышала в 3,0 раза показатели второй группы ($U=244,0$, $p=0,002$). На 28-е сутки исследования высота локальной протуберации костной пластинки у пациентов второй группы была в 5,0 раза больше, чем в первой группе наблюдения ($U=199,5$, $p=0,001$). При оценке динамики изменений конфигурации костей свода черепа отмечено уменьшение величины провисания костной пластинки к 28-м суткам после проведения пункционного удаления содержимого кефалогематомы у пациентов первой группы ($Z= -4,42$, $p < 0,001$). При этом во второй группе (не получавшей пункционное лечение) отмечено нарастание величины деформации в следствии оссификации остаточного объема кровоизлияния ($Z= -4,46$, $p < 0,001$).

На 10-е сутки концентрация bCTX в сыворотке крови у пациентов первой группы была 2,57 раза выше, чем в группе контроля ($U=99,0$, $p < 0,001$). При этом уровень bCTX у пациентов второй группы превышал 4,45 раза показатели контрольной группы ($U=69$, $p < 0,001$). На 28-е сутки уровень bCTX в первой группе превышал в 2,51 раза показатели группы контроля ($U=51,0$; $p < 0,001$). Концентрация bCTX во второй группе была выше в 3,48 раза, чем в контрольной группе на 28-е сутки исследования ($U=90,0$, $p < 0,001$).

Уровень OC на 10-е сутки в первой группе превышала в 1,77 раза показатель контрольной группы ($U=248,0$, $p=0,005$). Во второй группе концентрация OC была выше 1,43 раза, чем в группе контроля на 10-е сутки ($U=127,0$, $p < 0,001$). При этом уровень OC в сыворотке крови у пациентов второй группы превышала показатель первой группы в 1,43 раза на 10-е сутки исследования ($U=262,0$, $p=0,005$). Концентрация OC на 28-е сутки у пациентов

из первой группы была в 1,81 раза выше, чем в группе контроля ($U=154,0$, $p<0,001$). Во второй группе уровень ОС превышал в 2,13 раза показатель контрольной группы на 28-е сутки исследования.

Установлена обратная умеренная корреляционная связь величины локальной деформации костей свода черепа с уровнем bСТх в сыворотке крови у новорожденных с кефалогематомами на 10-е сутки исследования ($\rho = -0,3$, $p=0,004$), прямая умеренная корреляционная связь с концентрацией bСТх ($\rho=0,46$, $p<0,001$) и ОС ($\rho=0,33$, $p=0,001$) на 28-е сутки исследования.

Обсуждение

При оценке краниометрических показателей выявлено, что у пациентов с кефалогематомами средних и больших размеров репаративный процесс сопровождался более выраженной остеолитической трансформацией костей свода черепа на 10-е сутки наблюдения, в отличие от группы пациентов с малым размером поднадкостничного кровоизлияния. При этом уровень маркера костной резорбции bСТх в сыворотке крови у пациентов с кефалогематомами малого размера была выше, чем у новорожденных со средними и большими размерами кровоизлияния. Повышение уровня bСТх в сыворотке крови возникает при распаде коллагена I типа матрикса зрелой костной ткани и указывает на активный остеолитический процесс [1, 5]. Данное противоречие свидетельствует о наличии дополнительного патогенетического фактора влияющего на величину провисания костной пластинки в зоне сепарации надкостницы. Вероятным фактором может выступать гидростатическое давление гематомы, что подтверждается данными краниометрии у пациентов, получивших пункционное лечение. После удаления содержимого гематомы происходило обратное восстановление конфигурации костной пластинки в проекции кровоизлияния к 28-м суткам наблюдения. Выявлено, что локальная патологическая трансформация костей свода черепа в виде протуберации костной пластинки чаще возникала у новорожденных с малым размером поднадкостничного кровоизлияния в следствии оссификации остаточного объема гематомы к 28-м суткам исследования. Так же отмечено, что на 10-е сутки уровень ОС у пациентов с малым размером кефалогематом был выше, чем у пациентов с большими объемами кровоизлияния. Остеокальцин синтезируется на поздней стадии дифференцировки остеобластов и участвует в минерализации костной ткани [8, 9, 11]. Более высокая концентрация ОС в сыворотке крови у пациентов с малым объемом поднадкостничного кровоизлияния может указывать на начало ранней оссификации кефалогематомы с последующей отсроченной локальной трансформацией костной пластинки по гиперпластическому типу в зоне сепарации надкостницы.

Выводы

Репаративный процесс при кефалогематомах сопровождается локальным патологическим ремоделированием костей свода черепа в зоне сепарации надкостницы. Изменение уровня маркеров костного ремоделирования может отражать динамику и направленность патологической трансформации костной пластинки в проекции поднадкостничного кровоизлияния.

Список литературы:

1. Зейналов, Ю.Л. Показатели кальциевого обмена и маркеры костеобразования у больных идиопатическим сколиозом в зависимости от возраста / Ю.Л. Зейналов, Г.В. Дьячкова, И.В. Сутягин // Забайкальский медицинский вестник. – 2021. – № 2. – С. 47-55. – DOI: 10.52485/19986173_2021_2_47.
2. Иова, А.С. Особенности ведения новорождённых с кефалогематомами: индивидуализированный подход и минимальная инвазивность / А.С. Иова // StatusPraesens. Педиатрия и неонатология. – 2020. – № 3-4 (70-72). – С. 101-105.
3. Киосов, А.Ф. Факторы риска и клинические особенности формирования кефалогематом у новорожденных детей / А.Ф. Киосов, А.Р. Галиаскарова // Уральский медицинский журнал. – 2019. – № 15 (183). – С. 23-27. – DOI 10.25694/URMJ.2019.15.07.
4. Мирсадыков, Д.А. Вариант эволюции кальцифицированной кефалогематомы / Д.А. Мирсадыков, А.М. Миножов, М.М. Абдумажитова [и др.] // Нейрохирургия и неврология детского возраста. – 2010. – № 2 (24). – С. 50-57.
5. Халяпина, А.Б. Ранняя диагностика костно-хрящевых изменений при остеоартрите / А.Б. Халяпина, М.В. Паршиков, Н.В. Ярыгин // Кафедра травматологии и ортопедии. – 2022. – № 3 (49). – С. 90-98. – DOI: 10.17238/2226-2016-2022-3-90-98.
6. Calloni, T. Infant ossified cephalohematoma: a review of the surgical management and technical update / T. Calloni, A. Trezza, F. Mazzoleni [et al.] // J Neurosurg Sci. – 2020. – Vol. 64 (6). – P. 552-557. – DOI: 10.23736/S0390-5616.20.05052-3.
7. Kandemirli, S.G. Temporal Evolution of Imaging Findings in Ossified Cephalohematoma / S.G. Kandemirli, M. Cingoz, C. Bilgin [et al.] // J Craniofac Surg. – 2020. – Vol. 31 (4). – P. 375-378. – DOI: 10.1097/SCS.00000000000006319.
8. Komori, T. Functions of Osteocalcin in Bone, Pancreas, Testis, and Muscle / T. Komori // Int J Mol Sci. – 2020. – Vol. 21 (20). – P. 7513. – DOI: 10.3390/IJMS21207513.
9. Rashdan, N.A. Osteocalcin Regulates Arterial Calcification Via Altered Wnt Signaling and Glucose Metabolism / N.A. Rashdan, A.M. Sim, L. Cui [et al.] // J Bone Miner Res. – 2020. – Vol. 35 (2). – P. 357-367. – DOI: 10.1002/JBMR.3888.
10. Üçer, M. Observational Case Analysis of Neonates With Large Cephalohematoma / M. Üçer, A.E. Taçyıldız, I. Aydın [et al.] // Cureus. – 2021. – Vol. 13 (4). – P. 14415. – DOI: 10.7759/CUREUS.14415.
11. Wang, J.S. Sclerostin and Osteocalcin: Candidate Bone-Produced Hormones / J.S. Wang, C.M. Mazur, M.N. Wein // Front Endocrinol (Lausanne). – 2021. – Vol. 12. – P. 584147. – DOI: 10.3389/FENDO.2021.584147.
12. Wong, C.H. Calcified cephalohematoma: classification, indications for surgery and techniques / C.H. Wong, C.L. Foo, W.T. Seow // J Craniofac Surg. – 2006. – Vol. 17 (5). – P. 970-9. – DOI: 10.1097/01.SCS.0000229552.82081.DE.

УДК: 616-006.81.04:576.08

Тенешев Н.В., Есимбекова А.Р.

УСИЛЕНИЕ АДГЕЗИВНОЙ СПОСОБНОСТИ КЛЕТОК МЕЛАНОМЫ КОЖИ НА ФОНЕ ТЕРАПИИ ВЕМУРАФЕНИБОМ

*ФГБОУ ВО КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого Минздрава России,
Красноярск, Россия*

Резюме. Лечение таргетным препаратом вемурафениб, применяемым в терапии распространенной формы меланомы кожи, становится неэффективным из-за развития лекарственной устойчивости у большинства пациентов. В нашем эксперименте продемонстрировано увеличение адгезивной способности клеток меланомы кожи линии A375 в ответ на воздействие вемурафенибом. Увеличение адгезивной способности сопровождалось усилением экспрессии генов интегринов ITGA5 и ITGAV. Таким образом, повышенная адгезивная способность клеток за счет увеличения экспрессии интегринов ITGA5 и ITGAV может играть роль в развитии лекарственной устойчивости, опосредованной клеточной адгезией и служить мишенью при разработке новых терапевтических средств.

Ключевые слова: меланома, вемурафениб, лекарственная устойчивость, фокальная адгезия, интегрины.

Teneshev N.V., Esimbekova A.R., Ruksha T.G.

ENHANCEMENT OF THE SKIN MELANOMA ADHESIVE ABILITY AFTER VEMURAFENIB TREATMENT

Krasnoyarsk State Medical University, Krasnoyarsk, Russia

Abstract. Treatment with the targeted drug vemurafenib, used in the treatment of a prevalent form of cutaneous melanoma, becomes ineffective due to the development of drug resistance in most patients. In our experiment, an increase in the adhesive ability of A375 cutaneous melanoma cells was demonstrated in response to exposure to vemurafenib. The increase in adhesive ability was accompanied by an increase in the expression of the ITGA5 and ITGAV integrin genes. Thus, the increased adhesive ability of cells due to increased expression of ITGA5 and ITGAV integrins may play a role in the development of drug resistance mediated by cell adhesion and serve as a target for the development of new therapeutic agents.

Key words: melanoma, vemurafenib, drug resistance, focal adhesion, integrins.

Введение

Таргетный препарат вемурафениб является препаратом первой линии при лечении распространенной формы меланомы кожи. Вемурафениб применяется для лечения меланомы и других злокачественных новообразований, клетки которых имеют мутацию в гене BRAF, что обуславливает пролиферацию опухоли при отсутствии факторов роста. За счёт способности ингибировать BRAF-киназы и, как следствие, останавливать неконтролируемое деление опухолевых меланоцитов вемурафениб применяется при лечении неоперабельных и метастатических меланом [1-3].

Несмотря на высокую эффективность данного таргетного препарата, у большинства пациентов возникает приобретенная лекарственная устойчивость к вемурафенибу, усложняющая лечение онкологических заболеваний. Одним из механизмов возникновения лекарственной устойчивости к таргетным препаратам является синтез белков-интегринов, которые связываются с элементами внеклеточного матрикса (ВКМ), тем самым обуславливая лекарственную устойчивость, опосредованную клеточной адгезией (СAM-DR) [4].

Интегрины обеспечивают передачу межклеточных сигналов, влияющих на клеточные процессы, тем самым участвуя в их регуляции. Интегрины опухолевых клеток способствуют формированию лекарственной устойчивости опухоли через взаимодействие с такими элементами ВКМ, как фибронектин, остеопонтин и т.д. [5]. В связи с чем возникает необходимость поиска механизма возникновения лекарственной устойчивости, опосредованной клеточной адгезии в ответ на таргетную терапию, а также поиска мишеней и путей ее преодоления.

Материалы и методы

Клеточные линии и условия культивирования. В данной исследовательской работе была использована клеточная линия меланомы человека A375 (ATCC® CRL-1619™). Клетки культивировали в среде DMEM (ПанЭко, Москва, Россия) с добавлением 10% фетальной бычьей сыворотки (FBS) (HyClone, Логан, США), 1% антибиотика/антимикотика (Gibco, Карлсбад, США) при температуре 37°C с 5% CO₂ в инкубаторе (Sanyo Electric, Токио, Япония).

Обработка вемурафенибом. Клетки обрабатывали 0,45 мкмоль и 0,9 мкмоль вемурафениба (Selleck Chemicals, Хьюстон, США), соответствующие концентрации полумаксимального (IC₅₀) и максимального (2IC₅₀) ингибирования препарата, в течение 3 дней. В дальнейшем клетки промывали ФСБ (Хеликон, Москва, Россия) и культивировали дополнительно 2 дня без добавления вемурафениба. В группу отрицательного контроля добавляли растворитель вемурафениба - диметилсульфоксид.

Измерение адгезивной способности клеток методом центрифугирования. Культуральные матрасы с равным количеством клеток ($2 \cdot 10^5$ клеток/мл) заполняли ФСБ по горлышко и герметично закрывали крышкой. Матрасы центрифугировали вверх монослоем в течении 3 минут при 1000 об/мин. Оставшиеся прикрепленные к адгезивному слою матрасов клетки промывали ФСБ, фиксировали 10% формалином. Количество адгезивных клеток подсчитывали по меньшей мере в 10 полях зрения на микроскопе Floyd Cell Imaging Station (Thermo Fisher Scientific). Уровень адгезии рассчитывался для каждого образца по формуле: число клеток после ЦФ*100/число клеток до ЦФ, результат выражен в процентах.

ПЦР в режиме реального времени (ПЦР-РВ). Для выделения РНК клеток использовали набор для выделения РНК из культур клеток DiaGene (Диаэм, Москва Россия). Выделенная РНК была подвержена обратной транскрипции с использованием набора реактивов для синтеза первой цепи кДНК MMLV RT kit (Евроген, Москва, Россия). Для приготовления ПЦР-смеси использовали набор реагентов для проведения ПЦР-РВ в присутствии референсного красителя ROX (Синтол, Москва, Россия). Используемые праймеры (ДНК-синтез, Москва, Россия): ITGA5 (Ensembl: ENSG00000161638), ITGAV

(Ensembl: ENSG00000138448), ITGB1 (Ensembl: ENSG00000150093), ITGB3 (Ensembl: ENSG00000259207). Праймеры для эндогенного контроля (ДНК-синтез, Москва, Россия): GAPDH (Ensembl: ENSG00000111640). Для проведения реакции использовали амплификатор StepOne (Applied Biosystems, Сингапур). Уровень экспрессии определяли методом $\Delta\Delta C_t$.

Статистический анализ. Все экспериментальные процедуры были проведены в трёх повторах. Статистический анализ был проведён с помощью U-критерия Манна-Уитни с использованием программы Statistica 7.0 (StatSoft, США), при $p < 0,05$ результаты считались статистически значимыми.

Результаты

Согласно результатам проведённой работы, была выявлена способность таргетного препарата вемурафениб в концентрации IC_{50} и $2IC_{50}$ увеличивать адгезивную способность клеток меланомы кожи линии A375, при чем увеличение адгезивной силы клеток были пропорциональны повышению концентрации препарата (Таблица 1).

Таблица 1.

Адгезивная способность клеточной линии меланомы кожи A375 после действия вемурафениба в концентрации IC_{50} и $2IC_{50}$, определенная на основе воздействия центробежной силы.

	Уровень адгезии (среднее значение), %	ДИ -95%	ДИ +95%	СОС	P-уровень
Контроль	55,27	53,67	56,88	0,37	0,050
Вемурафениб IC_{50}	66,6	52,47	80,74	3,28	
Контроль	55,27	53,67	56,88	0,37	0,050
Вемурафениб $2IC_{50}$	79,05	74,93	83,16	0,96	

По результатам ПЦР в режиме реального времени мы наблюдали увеличение экспрессии генов интегринов *ITGA5* (Рис. 1А), *ITGAV* (Рис. 1Б) в пробах с вемурафенибом в концентрации $2IC_{50}$. Эти изменения сопровождались снижением экспрессии интегринов *ITGB1* (Рис. 1В) и *ITGB3* (Рис. 1Г).

Таким образом, в клетках меланомы кожи после воздействия вемурафениба наблюдается разнонаправленное изменение экспрессии генов интегринов. Увеличению экспрессии *ITGA5* и *ITGAV* может быть связано с увеличением синтеза интегринов альфа-5 и альфа-V на поверхности клеток меланомы, участвующих в адгезии, а, следовательно, об увеличении интегрин-опосредованной адгезивной силы клеток меланомы.

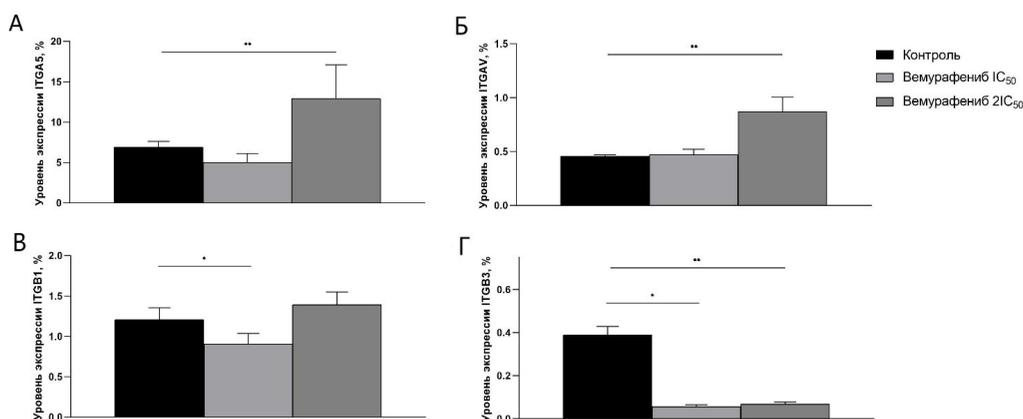


Рисунок 1. Изменение в клетках меланомы линии A375 относительного уровня экспрессии генов интегринов *ITGA5* (А), *ITGAV* (Б), *ITGB1* (В) и *ITGB3* (Г) по данным ПЦР-РВ после действия вемурафениба в концентрации IC₅₀ и 2IC₅₀.

Примечание: * – $p < 0.05$ – статистически значимые отличия между пробами с вемурафенибом в концентрации IC₅₀ и контролем. ** – $p < 0.05$ – статистически значимые отличия между пробами с вемурафенибом в концентрации 2IC₅₀ и контролем.

Выводы

Таргетный препарат вемурафениб, применяемый в лечении распространенной формы меланомы кожи, индуцирует повышение адгезивной способности клеток меланомы кожи линии A375.

Продемонстрированная нами повышенная адгезивная способность клеток за счет увеличения экспрессии интегринов *ITGA5* и *ITGAV* может играть роль в развитии лекарственной устойчивости, опосредованной клеточной адгезией, что требует дальнейшего изучения для разработки терапевтических средств, направленных на данную мишень.

Список литературы:

1. Nelson, B. E. BRAF v600E–mutant cancers treated with vemurafenib alone or in combination with everolimus, sorafenib, or crizotinib or with paclitaxel and carboplatin (VEM-PLUS) study / B. E. Nelson, J. Roszik, F. Janku [et al.]. // NPJ Precision Oncology. – 2023. – Vol. 7, №. 1. – P. 19. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36801912>
2. Komina, A.V. Semaphorin-5A downregulation is associated with enhanced migration and invasion of BRAF-positive melanoma cells under vemurafenib treatment in melanomas with heterogeneous BRAF status / A.V. Komina, N.V. Palkina, M.B. Aksenenko [et al.]. // Melanoma Research. – 2019. – Vol. 29, №. 5. – P. 544-548. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31116162/>
3. Насхлеташвили, Д. Р. Вемурафениб в лечении больных меланомой с метастазами в головной мозг / Д. Р. Насхлеташвили, В. А. Горбунова, А. Х. Бекашев [и др.]. // Опухоли головы и шеи. – 2016. – №. 4. – С. 30-34.
4. Boz Er, A. B. Overcoming Vemurafenib Resistance in Metastatic Melanoma: Targeting Integrins to Improve Treatment Efficacy / A. B. Boz Er, H. M. Sheldrake, M. Sutherland. // International Journal of Molecular Sciences. – 2024. – Vol. 25, №. 14. – P. 7946. URL: <https://doi.org/10.3390/ijms25147946>

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39063187/>

5. Damiano, J. S. Cell adhesion mediated drug resistance (CAM-DR): role of integrins and resistance to apoptosis in human myeloma cell lines / J. S. Damiano, A. E. Cress, L. A. Hazlehurst [et al.]. // Blood, the Journal of the American Society of Hematology. – 1999. – Vol. 93, №. 5. – P. 1658-1667. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih>

УДК 616 – 71

Филиппова О.П., Нестеренко Е.С., Петрова Е.И., Литвинцева К.А., Нольфин Н.А.,
Баясхаланова Ц.Б.

МЕТОДИКА ОБЪЕКТИВИЗАЦИИ ЭЛЕКТРОГРАФИЧЕСКИХ ДАННЫХ, ПОЛУЧАЕМЫХ ПРИ РАБОТЕ С ЛАБОРАТОРНЫМИ КРЫСАМИ ФГБОУ ВО Читинская государственная медицинская академия, Чита, Россия

Резюме. В данном исследовании была разработана методика для объективизации электрографических данных, получаемых при проведении электромиографии (ЭМГ) на лабораторных крысах, с целью уменьшения двигательных артефактов, вызванных повышенной возбудимостью животных. Для этого был создан бандаж-фиксатор, позволяющий надежно фиксировать крысу и обеспечивать свободное размещение электродов. В результате эксперимента с использованием фиксатора удалось значительно улучшить качество ЭМГ-записей: амплитуда колебаний в состоянии покоя составила $0,07 \pm 0,03$ мВ, а при электростимуляции – $0,9 \pm 0,15$ мВ. Исследование подтвердило эффективность разработанного устройства и предложило подробный алгоритм подготовки к экспериментам, что может быть полезно для дальнейших исследований в этой области.

Ключевые слова: методика, фиксация, крыса, бандаж, электрография.

Filippova O.P., Nesterenko E.S., Petrova E.I., Litvintseva K.A., Nolfin N.A., Bayaskhalanova Ts.B.

OBJECTIVIZATION METHODS FOR ELECTROGRAPHIC DATA COLLECTED FROM RESEARCH CONDUCTED WITH LABORATORY RATS

Chita State Medical Academy, Chita, Russia

Abstract. In this study, a method was developed for objectifying electrographic data obtained during electromyography (EMG) on laboratory rats in order to reduce movement artifacts caused by increased excitability of the animals. For this purpose, a bandage-fixator was created that allows for secure fixation of the rat and provides free placement of the electrodes. As a result of the experiment using the fixator, it was possible to significantly improve the quality of EMG recordings: the amplitude of oscillations at rest was 0.07 ± 0.03 mV, and during electrical stimulation - 0.9 ± 0.15 mV. The study confirmed the effectiveness of the developed device and proposed a detailed algorithm for preparing for experiments, which may be useful for further research in this area.

Key words: methods, fixation, rat, bandage, electromyography.

Одной из основных трудностей, связанных с проведением инструментальных исследований на мелких животных, является их повышенная возбудимость, что приводит к значительной подвижности. Это, в свою очередь, вызывает появление двигательных артефактов в записях и осложняет процесс анализа и интерпретации собранных данных. По литературным данным существует множество жестких фиксирующих устройств для лабораторных животных, представляющие собой металлические короба [2,3]. Данные устройства предназначены для взятия биоматериала (кровь, моча), для моделирования стресса и т.д. Для проведения таких исследований, как электромиография (ЭМГ), электроэнцефалография и электрокардиография требуется мягкая фиксирующее устройство с возможностью свободной установки электродов[1].

Цель: Создание методики объективизации электрографических данных, получаемых при работе с лабораторными крысами.

Материалы и методы: В работе использовались 8 взрослых крыс линии Wistar, которые были разделены по массе на две группы: 1-ая весом 350 ± 10 г, 2-ая 250 ± 15 г. По средним размерам каждой группы крыс был построен чертеж бандажа-фиксатора в программе CorelDraw. Бандаж представлял собой двухслойное текстильное изделие шириной 255 мм и длиной 195 мм, с функциональными отверстиями для лап и хвоста. Для улучшения фиксации на краях отверстий для передних лап была вшита резиновая лента. В наружном контуре бандажа были предусмотрены отверстия для крепления стержней штатива. В качестве соединительных элементов для половинок бандажа использовались швейные кнопки диаметром 10 мм. Бандажи для более мелких крыс меньшего размера имели аналогичную конструкцию, но их размер был уменьшен на 30%. Схема второй части устройства – штатива, была выполнена в программе Aspire 10.5, выгравирован на станке CNC 3018. В качестве материала использовалось органическое стекло. Размеры штатива составили 300 мм, в высоту 180, в длину 200 мм. На верхней грани были выточены вырезки для размещения стержней. Каждой группе крыс была проведена электромиография (ЭМГ) без фиксатора и с его использованием. Датчики мышечного сигнала накладывались на следующие участки тела крыс: передняя брюшная стенка, наружная поверхность проксимальных отделов конечностей. Предварительно с необходимых областей была удалена шерсть с помощью триммера и нанесения электропроводного геля «Унигель». В течение 7 минут проводилась регистрация ЭМГ-сигнала. Запись была поделена на 3 периода: 1 период – регистрация сигнала в покое в течение 1 минуты, 2 период – регистрация сигнала с ежеминутным раздражением исследуемой группы мышц слабым электрическим разрядом ($P=2,5$ Вт; $I=2,5$ мА) в течение 5 минут, 3 период – период восстановления в течение 1 минуты. Полученные результаты были обработаны с помощью языка программирования Python 3.11.

Результаты. Приснятии данных ЭМГ под действием раздражителя в виде электрического разряда в обеих группах без фиксатора проведение исследования было невозможным в виду повышенной мышечной активности животных. Данные представляли собой фоновые, беспорядочные колебания, отражающие хаотичные движения крыс. С применением фиксатора в покое амплитуда колебаний составила $0,07 \pm 0,03$ mV, при электростимуляции можно было отследить момент действия раз раздражителя и измерить силу мышечного сокращения. Так среднее значение при ЭМГ-стимуле составило $0,9 \pm 0,15$ mV.

После завершения ЭМГ был составлен подробный план действий для проведения данного исследования на крысах, который можно использовать в качестве готового алгоритма. Данный план включал несколько ключевых шагов: 1) иммобилизация крысы, начиная с фиксации хвоста и шеи, а затем применение затяжек на передних конечностях. Для исследования предпочтительно использовать крыс первой группы, так как размеры особей 2 группы не подходят для установки ЭМГ-датчиков и могут усложнить подготовку; 2) подвешивание бандажа через стержни с дистального и каудального концов, а также его установка на штатив для обеспечения надежной фиксации; 3) удаление шерсти с рабочей области, выбранной на участке бедра задней конечности, поскольку в этом месте отсутствуют помехи от сердечного ритма, лучше выражен мышечный каркас, а площадь контакта с электродами значительно больше, что упрощает процесс бритья; 4) надежная фиксация датчиков для повышения точности измерений; 5) запись данных с ежеминутной стимуляцией слабыми электрическими разрядами, что оказалась более эффективным методом по сравнению с тактильной стимуляцией, так как последняя не обеспечивала стабильной реакции на механическое воздействие. Соблюдение разработанного алгоритма позволит повысить эффективность исследования и минимизировать риски травматизации подопытных животных и исследователя.

Выводы: В ходе выполненных работ была разработана установка для иммобилизации крыс, определены оптимальные участки для сбора наиболее информативной и качественной информации, а также составлен подробный алгоритм исследования, что будет оптимизировать процесс проведения доклинических испытаний.

Список литературы:

1. Зайцева Т. Н. и др. Электромиографические характеристики передней большеберцовой мышцы крысы в условиях моделируемой гипогравитации и постгипогравитационной реадаптации // Российский кардиологический журнал. – 2021. – №. S5. – С. 35-35.
2. Панфилова В. В. и др. Устройство для фиксации лабораторных животных. – 2020.
3. Южаков В. В. и др. Устройство для фиксации лабораторных животных при локальном облучении головного мозга. – 2020.

УДК: 616 – 092 : 616.151.5

Н.Н Цыбиков

МЕХАНИЗМЫ РАЗВИТИЯ ИММУНОТРОМБОЗА

ФГБОУ ВО Читинская государственная медицинская академия, Чита, Россия

Резюме. Представлены собственные и литературные данные по доминантным механизмам формирования иммунотромбоза при различной патологии.

Ключевые слова: иммунные комплексы; комплемент; протромбиназа; тромбоз.

N.N. Tsybikov

MECHANISMS OF DEVELOPMENT OF IMMUNOTHROMBOSIS

Chita State Medical Academy, Chita, Russia

Abstract. *Own and literature data on the dominant mechanisms of immunothrombosis formation in various pathologies are presented.*

Key words: *Immune complexes; complement; prothrombinase; thrombosis.*

450 млн назад у беспозвоночных, в частности, у мечехвоста, появились клетки – амебоциты, способные распознать липополисахариды бактерий и более того, лизат этих клеток коагулировал цитоплазму с микроорганизмами [9]. Это первая ситуация в эволюции, где объединились врожденный иммунитет и гемостаз. В дальнейшем, эти синергетические процессы развивались параллельно, и в конечном итоге, были описаны как иммунотромбоз [7], хотя ради справедливости, следует указать на феномены Артюса, Шварцмана и Санаррелли, в которых экспериментальные некрозы являлись следствием тромбозов, инициированных эфферентными иммунными реакциями. В этой связи нельзя не вспомнить работы научной школы Б.И. Кузника.

С 80-х годов прошлого века в лаборатории профессора Кузника Б.И. интенсивно исследовались механизмы взаимосвязи между системами иммунитета и гемостаза. Было установлено, что иммунодефицит, созданный у животных (крысы, кролики, морские свинки, хомяки, собаки) тимэктомией и у птиц (курицы) бурсаэктомией протекает с закономерным развитием гиперкоагуляции и ингибицией фибринолиза. У таких животных и птиц в различных экспериментальных моделях (каловый перитонит, инъекции тромбина, тромбопластина, гетерогенной крови, флегмоны) показано, что эти состояния протекают тяжелее, с высоким процентом смертности вследствие тромбозов. Введение препаратов тимуса (тималин) или бурсы (авистимулин) снижает остроту патологических процессов [2]. Был установлен совершенно новый факт - открытие аутоантител (аАт) к активным факторам свертывания крови, способных регулировать гемостатический потенциал как путем прямого ингибирования коагулянтов, так и ускоренной элиминацией из кровотока. Позже было показано, что аАт образуются и к цитокинам как в крови, так и секретах слизистых [10]. Комплексы аАт с цитокинами способны активировать фактор Хагемана и активировать внутренний путь коагуляции. В специальных исследованиях было показано, что в культурах клеток крови цитокины способны вызывать усиление секреции тканевого фактора и тем самым активировать внешний путь образования протромбиназы. Невозможно в формате данной статьи даже перечислить все направления исследований, по взаимосвязи иммунных и гемостатических реакций, проведенных под руководством Кузника Б.И. [1].

Иммунотромбоз следует рассматривать как суммарный итог параллельной суперактивации иммунитета и гемостаза со сложнейшими механизмами их взаимосвязи. Образованный фибриновый сгусток выполняет две диаметрально противоположные функции. С одной стороны, тромб ограничивает миграцию микроорганизмов по кровотоку, а с другой – возникает опасность тромбоза и тромбоэмболии. Для упрощения понимания патогенеза иммунотромбоза логично выделить фундаментальные механизмы

фибринообразования при активации иммунитета: стимуляция внешнего и внутреннего пути образования протромбиназы; снижение антикоагуляционного и фибринолитического потенциалов крови; генерация тромбоцитарных гетероагрегатов; формирование нейтрофильных ловушек и иммунных комплексов.

Триггером внешнего пути коагуляции является тканевой фактор (ТФ), источники которого разнообразны. В афферентной части иммунного ответа активируются антигенпрезентирующие клетки (АПК), которые при фагоцитозе и процессинге антигена секретируют ТФ. Последний в комплексе с фактором V11a переводит фактор X в Xa, который включается в состав протромбиназы. Далее иммунокомпетентные клетки вступают в митозы, что также сопровождается секрецией ТФ. Клеточное звено эфферентного иммунного ответа сопровождается повреждением Т-киллерами клеток-мишеней с выделением ТФ. Гуморальный иммунный ответ приводит к образованию иммунных комплексов (ИК), которые активируют систему комплемента с генерацией мембраноатакующего комплекса (МАК) и анафилактоксинов (компонентов C3a и C5a). МАК, в первую очередь, повреждает клетку-мишень, а фиксированные ИК – эндотелий. Анафилактоксины рекрутируют провоспалительные клетки, в основном, нейтрофилы и моноциты, которые также секретируют ТФ. Более того, циркулирующие и фиксированные ИК активируют фактор Хагемана и запускается внутренний путь формирования протромбиназы [4].

Особую роль в патогенезе иммуотромбоза отводится нейтрофильным ловушкам (НЕТоз). Триггерами НЕТоз являются ЛПС микроорганизмов, провоспалительные цитокины (особенно ИЛ-6, ИЛ-8), ИК, активированные тромбоциты и эндотелий и ряд других. При НЕТоз активируется фактор Хагемана. Следует учесть, что нити ДНК содержат фиксированные ферменты: эластазу, миелопероксидазу, пептидил-аргининдезаминазу, катепсин G и другие, которые усиливают повреждение клеток-мишеней, а, следовательно, приводят к гиперпродукции ТФ. Гистоны при НЕТозе имеют высокое сродство к фосфолипидам и поэтому модифицируют мембраны клеток, что сопровождается притоком кальция в цитоплазму и активацией эндотелиальных клеток. Гистоны через Toll-рецепторы стимулируют тромбоциты. Последние не только адгезируют и агрегируют, но и образуют гетероагрегаты с нейтрофилами, лимфоцитами, моноцитами с последующей продукцией ТФ. Более того, НЕТоз активирует коагуляционный каскад и по другим путям. Так, нейтрофильная енолаза инактивирует ингибитор внешнего пути протромбиназы и дополнительно активирует фактор Хагемана. Гистоны способны модулировать активность тромбомодулина, вследствие чего снижается активность протеина C, т.е. теряется антикоагулянтный потенциал эндотелия. В ходе иммунного ответа формируются микровезикулы с разнообразными фенотипами, также несущими ТФ. Мощным источником ТФ являются активированные тромбоциты и моноциты. Образуются «порочные круги». Так формирование протромбиназы сопровождается появлением сериновых протеаз, которые способны усиливать альтерацию клеток и, следовательно, экспрессию ТФ. Это далеко не полный перечень источников ТФ при иммунном ответе [4].

Следует указать на многообразие ИК, формирующихся по различным механизмам. В первую очередь это ИК, образованные аАт к активным факторам свертывания крови.

Доказано, что в условиях нормы в крови существует постоянный пул аАт к прокагулянтам. В эфферентную фазу иммунного ответа появляются активные факторы свертывания крови, которые вступают в образование ИК [3]. Описаны ИК, возникающие вследствие реакций идиотип-антиидиотип. Источником ИК являются аАт к молекулам повреждения и другим неоантигенам, экспрессирующимся при иммунном ответе. Особый интерес представляют аналоги эпитопов белка S вируса ковида с эпитопами тканей человека. Репликация вируса в длительный инкубационный период достаточна для образования антител к различным эпитопам белка S. Однако вследствие сходства с человеческими эпитопами формируется большое количество ИК, которые, безусловно, имеют громадный тромбогенный потенциал. В наших исследованиях обнаружены аАт к цитокинам не только в сыворотке крови, но и в секретах слизистых: смешанная слюна, назальный секрет, слезная жидкость. Доказано, что в этих биологических жидкостях присутствуют аАт и к нейронспецифическим антигенам, которые, кстати, в составе спинномозговой жидкости мигрируют через периневральные пространства черепномозговых нервов в секреты соответствующих компартаментов организма в условиях нормы и, особенно, патологии [11]. Из анналов классической патофизиологии и иммунологии известно, что в феноменах Артюса, Шварцмана, Санаррели причиной тромбозов, в основном, являлись ИК.

Таким образом, термин «иммунотромбоз» предложенный Engelmann D., Massberg S. в 2013 г. [7], известный ранее как «тромбоз при иммунном воспалении» (Kuznik B.I., Thybikov N.N., 1992 г.) [8] сопровождает повреждения, вызванные эфферентными иммунными гиперреакциями. Доминирующими механизмами иммунотромбоза являются иммунные комплексы, нейтрофильные ловушки, провоспалительные цитокины, система комплемента, тромбоцитарные гетероагрегаты приводящие к активации внешнего и внутреннего пути образования протромбиназы, генерации тромбина и фибринообразованию.

Список литературы:

1. Кузник Б.И. Клеточные и молекулярные механизмы регуляции системы гемостаза в норме и патологии: монография / Б.И. Кузник. Чита: Экспресс-издательство, 2010. 832с.: ил. + 8с. цв. вкл.
2. Кузник Б.И., Будажабон Г.Б, Цыбиков Н.Н. Тималин как модулятор иммуногенеза и гемостаза//Фармакология и токсикология. 1984. Т. 47. №1 С. 67-71.
3. Кузник Б.И., Цыбиков Н.Н. Белки теплового шока, атеросклероз, ДВС-синдром и тромбоз//Проблемы клинической медицины. 2009. № 1 (19). С. 110-117.
4. Кузник Б.И., Смоляков Ю.Н., Цыбиков Н.Н., Шаповалов К.И. Активация тромбоцитов и механизмы формирования тромбэмболий у больных с тяжелым течением COVID-19. Альтернативные механизмы деятельности системы гемостаза //Успехи современной бмологии.2023.Т.143.№4.С.335-358.
5. Цыбиков Н.Н., Кузник Б.И. Иммунный механизм регуляции системы гемостаза// Пробл. гематол. и перелив. крови. 1986. № 2. С. 23-8.
6. Цыбиков Н.Н., Рудник М.П., Кузник Б.И. Выявление аутоантител к факторам свёртывания крови реакцией пассивной геагглютинации и иммуноферментным

- (ELISA) методом//Бюл. exper. биол. и мед. 1985. № 4. С. 467-9.
7. Engelmann B, Massberg S. Thrombosis as an intravascular effector of innate immunity. *Nat Rev Immunol.* 2013;13(1):34– 45. <https://doi.org/10.1038/NRI3345>
 8. Kuznik B. I., Tsybikov N. N. Immune mechanisms regulating the haemostasis system // *Hematology Reviews and Communications.* 1992. Т3. № 2. С. 3-20.
 9. Opal SM, Esmon CT. Bench-to-bedside review: functional relationships between coagulation and the innate immune response and their respective roles in the pathogenesis of sepsis. *Crit Care.* 2003;7(1):23. <https://doi.org/10.1186/CC1854>
 10. Tsybikov N.N., Kuznik B.I., Egorova E.V. [et. al.] Anticytokine autoantibodies in chronic rhinosinusitis // *Allergy and Asthma Proceedings/.* 2015. Т. 36. № 6. С. 473-480.
 11. Tsybikov N.N., Egorova E.V., Fefelova E.V. [et al]. Biomarker assessment in chronic rhinitis and chronic rhinosinusitis: endothelin-1, tarcccl17, neopterin, and α -defensins // *Allergy and Asthma Proceedings/.* 2016. Т37. № 1. С. 35-42/

УДК 616-092.9

Четыркина М.В., Безруких Т.Н., Баясхаланова Ц.Б., Обыденко В.И.
**АНАЛИЗ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ В ОРГАНАХ
КРЫС, ПОДВЕРГШИХСЯ ВОЗДЕЙСТВИЮ ЖЕВАТЕЛЬНОЙ
НИКОТИНСОДЕРЖАЩЕЙ СМЕСИ**

ФГБОУ ВО Читинская государственная медицинская академия, Чита, Россия

Резюме. Изучалось влияние на ткани печени, почек, селезёнки и семенников самцов-крыс различных концентраций никотина в составе никотиносодержащей жевательной смеси путем её трансбукального нанесения. Показаны дистрофические и деструктивные изменения тканей исследуемых органов, связанные с временным периодом воздействия смеси и концентрации в ней никотина.

Ключевые слова: никотиносодержащая жевательная смесь, морфологическое исследование, дистрофические изменения тканей, очаги некроза.

Chetyrkina M.V., Bezrukikh T.N., Bayaskhalanova Ts.B., Obydenko V.I.
**ANALYSIS OF PATHOLOGICAL CHANGES IN THE ORGANS OF RATS EXPOSED
TO A CHEWING NICOTINE-CONTAINING MIXTURE**
Chita State Medical Academy, Chita, Russia

Abstract. The effect of different concentrations of nicotine in a nicotine-containing chewing mixture on the tissues of the liver, kidneys, spleen and testes of male rats was studied by its transbucal application. Dystrophic and destructive changes in the tissues of the studied organs associated with the time period of exposure to the mixture and the concentration of nicotine in it are shown.

Key words: nicotine-containing chewing mixture, morphological examination, dystrophic tissue changes, foci of necrosis.

Актуальность. В последние годы возросла популярность никотиносодержащих жевательных смесей, особенно среди молодежи, благодаря своей доступности и отсутствию необходимости в курении [1,3]. Исследуемая смесь представляет собой вид некурительного изделия, предназначенного для аппликационного перорального применения, изготовленного без добавления табачного сырья [4,6,7]. Располагая в полости рта эту смесь, никотин пролонгировано проникает через сосуды слизистой оболочки в кровь, и в дальнейшем распространяется по организму [5,7]. Считается, что данное изделие имеет пониженную концентрацию канцерогенных веществ и высокую концентрацию никотина [6]. В настоящее время есть данные о местном влиянии никотиносодержащих смесей: возникновение эрозий, стоматит и т.д. [7], однако эффекты на организм в целом остаются малоизученными.

Цель исследования: изучение патоморфологических изменений в печени, почках, селезенке и анализ цитоморфологического состава извитых семенных канальцев, у животных, подвергшихся воздействию никотинсодержащей жевательной смеси трансбуккально с различной концентрацией никотина и в разный временной промежуток.

Материалы и методы. В ходе эксперимента участвовало 12 крыс-самцов линии Вистар, масса которых в среднем составила 350 ± 20 грамм.

Лабораторные животные были разделены на три группы по 4 особи в каждой. Всем экспериментальным группам были проведены аппликации исследуемого вещества с различной концентрацией никотина 1 раз в сутки в течении 35 дней. Первой группе проводили аппликации никотиносодержащей жевательной смеси с содержанием никотина 50 мг, второй группе - 150 мг, третьей контрольной группе проводили аппликации физиологическим раствором. Исследуемая смесь в своём составе имела целлюлозную основу, на которую наносился никотин различной концентрации, ароматизаторы, пищевую соль и различные пищевые добавки (Е460, Е-1520 и др.). Далее проводилось морфологическое исследование печени, селезенки, почек и семенников. Забор органов проводился на 15 и 35 сутки. Отобранный материал подвергали стандартной проводке и заливке в парафин. Гистологические препараты были окрашены гематоксилин – эозином. Оценку морфологического состояния органов проводили с применением программного обеспечения МЕКОС.

Функциональную оценку активности сперматогенного эпителия самцов крыс оценивали по цитоморфологической характеристике семенных извитых канальцев, для которой были подсчитаны следующие индексы: герминативный индекс (ГИ): отношение числа сперматогониев к числу sustentоцитов; индекс зрелости сперматогенеза (ИЗС): отношение суммы сперматогоний и сперматоцитов к сумме сперматид и сперматозоидов; индекс напряженности сперматогенеза (ИНС): отношение суммарного содержания герминативных клеток, к числу sustentоцитов. Наиболее чувствительным к действию токсических веществ является индекс напряженности сперматогенеза и герминативный индекс [2].

Был проведен сравнительный статистический анализ с помощью критерия U по Манна-Уитни.

Результаты микроскопии почек на 15 сутки показали следующее: ядра в состоянии сморщивания, распада и частично лизиса. Был отмечен застой крови в крупных сосудах и

капиллярах кортико-медуллярного интерстиция. В отдельных областях возникали очаги перигломерулярных кровотечений. Обнаружены расширенные капилляры гломерулы и суженные мочевые пространства. На 35 сутки отмечались явления некроза. Наблюдались патологические изменения ядер паренхимы. Эпителиальные клетки характеризовались вакуолизацией, апикальным вздутием, разрушением щеточной каемки. В сосудах крупного калибра отмечено полнокровие. Встречались диффузные геморрагии в корковом и медулярном интерстиции.

По результатам микроскопического и статистического исследования семенников было выявлено общее снижение герминативных клеток в извитых канальцах у всех животных в экспериментальных группах. При анализе количества сустентоцитов наблюдалось значительное снижения числа этих клеток у крыс обеих экспериментальных групп.

Герминативный индекс (ГИ) у контрольной группы составил 6,85. ГИ у экспериментальных групп оказался следующим: для 1-ой группы на 15 сутки он составил – 3,47, на 35 сутки – 7,61; для 2-ой группы на 15 сутки – 3,67, на 35 сутки – 3,89. В ходе сравнительного анализа данных 1-ой группы с контрольной было выявлено, что ГИ экспериментальных животных на 15-й день снизился на 50%, в то время как на 35-й день он увеличился на 11%. Однако это увеличение не свидетельствует о повышении активности сперматогенеза, а лишь указывает на снижение количества сустентоцитов в знаменателе индекса. Цитоморфологический анализ ГИ у 2-ой группы в сравнении с контрольной группой показал существенное снижение индекса на 15, 35 сутки (46% и 43%). ИЗС в обеих экспериментальных группах также увеличивался.

Индекс зрелости сперматогенеза (ИЗС) был оценен в контрольной и экспериментальных группах. В контрольной группе ИЗС составил 0,62. В 1-ой группе на 15-й день ИЗС увеличился до 1,69, однако на 35-й день уровень ИЗС снизился до 1,17, что может указывать на угасание адаптивных процессов или на недостаточное поддержание сперматогенеза по сравнению с первоначальным уровнем. Во 2-ой экспериментальной группе на 15-й день ИЗС составил 1,71, однако к 35-му дню наблюдается резкое снижение этого показателя до 0,83, что может свидетельствовать о выраженном ухудшении условий для сперматогенеза. Эти данные подчеркивают изменение состояния сперматогенного процесса в зависимости от времени и условия эксперимента, а также требуют дальнейшего изучения факторов, влияющих на долгосрочные результаты сперматогенеза.

В контрольной группе индекс напряженности сперматогенеза (ИНС) составил 65,46. 1-ой экспериментальной группе на 15-й день ИНС значительно снизился до 18,74. Это резкое уменьшение может свидетельствовать о нарушениях в процессе сперматогенеза в результате воздействия исследуемых факторов. На 35-й день уровень ИНС восстановился до 56,17, что может указывать на определённую компенсацию и восстановление функций сперматогенеза, однако всё равно остаётся ниже контрольного значения. Во 2-ой экспериментальной группе на 15-й день ИНС составил 20,86, что также указывает на значительное снижение активности сперматогенеза. На 35-й день этот показатель повысился до 30,4, однако остаётся существенно ниже контрольного уровня, что может свидетельствовать о продолжающихся негативных воздействиях на сперматогенез, недостаточной компенсации после первоначального снижения. Таким образом, данные о ИНС подчеркивают изменчивость состояния сперматогенеза в зависимости от времени

и условий эксперимента.

При микроскопии селезенки отмечено увеличение лимфоидных фолликулов, некоторые из которых сливались друг с другом, также наблюдалось изменение структуры тканей. На 35 сутки пролиферировала периваскулярная и маргинальная зоны фолликула, лимфоидные скопления диффузно распространялись в пульпу. Наблюдалась неравномерно сформированные фолликулы, которые имели неправильную форму, нарушалась общая архитектоника фолликула. Стенки кровеносных сосудов были утолщены и однородны.

По результатам микроскопического исследования печени на 15 сутки изменился количественный состав и размеры вакуолей. В зоне дистрофии были заметны патологические изменения клеточного состава печеночной ткани – различные размеры гепатоцитов, нечеткие границы между ними, рыхлая неравномерно окрашенная цитоплазма, большинство ядер находились в состоянии кариорексиса, кариопикноза и, в меньшей степени, кариолизиса. Произошло нарушение в строении структуры долек печени. Наблюдалась расширенные синусные капилляры, наполненные кровью. В небольшом количестве отмечалось накопление липофусцина. На 35 сутки мелкокапельная везикулярная дистрофия распространилась по всему объёму печеночных долек. Многие ядра в состоянии кариолизиса, однако видны и безъядерные гепатоциты. Заметны очаги некроза и тельца Маллори. В сосудах отмечался застой крови. Диффузные диапедезные геморрагии в паренхиме органа.

Вывод. Морфологическое исследование тканей печени, почек, семенников и селезёнки крыс-самцов, подвергшихся воздействию никотиносодержащей жевательной смеси, показало дистрофические, деструктивные изменения в исследуемых органах, коррелирующее с продолжительностью влияния смеси на организм и её концентрацией.

Список литературы:

1. Горячев А. А. Некоторые аспекты развития норм административно-правовой защиты здоровья граждан от воздействия окружающего табачного дыма, последствий потребления табака и никотинсодержащей продукции //Актуальные вопросы применения норм административного права (" Корневские чтения"). – 2021. – С. 117-121.
2. Золотарёва Т. А. и др. Современные представления о механизмах стрессобусловленных изменениях активности сперматогенеза //Мир медицины и биологии. – 2011. – Т. 7. – №. 4. – С. 134-137.
3. Кубиясова А. М. Актуальные проблемы противодействия распространению некурительной никотинсодержащей продукции среди несовершеннолетних // Противодействие наркоугрозе на современном этапе: правовой и социально-гуманитарный аспекты. – 2020. – С. 59-62.
4. Шкидюк М. В., Дон Т. А., Бедрицкая О. К. Комплексная оценка некурительной никотинсодержащей продукции //Вестник Воронежского государственного университета инженерных технологий. – 2021. – Т. 83. – №. 1 (87). – С. 179-186.
5. Шульгина Е. В. О вреде потребления продукции с содержанием никотина и запрете на ее распространение //Социология и право. – 2021. – №. 2. – С. 46-52.
6. Rungraungrayabkul D. et al. What is the impact of nicotine pouches on oral health: a

systematic review //BMC Oral Health. – 2024. – Т. 24. – №. 1. – С. 889.

7. Scherer G. et al. Assessment of nicotine delivery and uptake in users of various tobacco/nicotine products //Current Research in Toxicology. – 2022. – Т. 3. – С. 100067.

УДК: 616.314: 616.34-008.6

Шаповалова А.К., Фоминых М.С.

БЕЛКИ ЭМАЛИ КАК МИШЕНИ ДЛЯ АНТИТЕЛ ПРИ ЦЕЛИАКИИ
ФГБОУ ВО Читинская государственная медицинская академия, Чита, Россия

Резюме: Имеется взаимосвязь между целиакией и дефектами развития эмали. Методами иммуногистохимии обнаружена высокая реактивность IgG как против пептидов глиадина, так и против белков эмали.

Ключевые слова: целиакия, антитела, белки эмали.

Shapovalova A.K., Fominykh M.S.

ENAMEL PROTEINS AS TARGETS FOR ANTIBODIES IN CELIAC DISEASE
Chita State Medical Academy, Chita, Russia

Abstract: There is a relationship between celiac disease and enamel development defects. Immunohistochemistry methods revealed high IgG reactivity against both gliadin peptides and enamel proteins.

Keywords: celiac disease, antibodies, enamel proteins.

Связи между целиакией и дефектами развития эмали (ДРЭ) были зарегистрированы с 1990-х годов [1]. У пациентов с целиакией значительно чаще встречается ДРЭ, чем у здоровых людей [2].

Принято считать, что специфические ДРЭ могут быть единственными клиническими проявлениями целиакией [3]. Описан широкий спектр ДРЭ, включая изменение цвета, прозрачности и наличие ямок и горизонтальных борозд эмали, от гипоминерализованных участков эмали до очевидных структурных дефектов.

Дефекты развития эмали, связанные с целиакией, характеризуются симметричным и хронологическим распределением и поражением одного и того же типа зубов во всех четырех сегментах, в отличие от ДРЭ, наблюдаемых при широком спектре других не связанных с ними состояний (таких как преждевременные роды, инфекции или воздействие химических веществ) [4].

Зубная эмаль – это высоко минерализованная ткань без какой-либо метаболической активности после ее формирования. Поэтому ДРЭ являются результатом нарушений процесса амелогенеза, которые происходят с внутриутробного периода до подросткового возраста, в зависимости от того, какая группа зубов поражена.

Нарушение амелогенеза на разных стадиях может вызвать несколько фенотипов ДРЭ. Нарушения, возникающие на секреторной стадии, могут привести к изменению архитектуры зубов (гипоплазия), тогда как неадекватное созревание кристаллов связано

с гипоминерализацией зубов. Любая стадия амелогенеза может быть нарушена в зависимости от конкретной модели ДРЭ, связанной с целиакией, но механизмы и триггеры, стоящие за ними, до сих пор неизвестны. Описано наличие общих пептидных мотивов среди последовательностей амелогенина, амелобластина и глиадина. Перекрестная реактивность с амелогенином продемонстрирована для образцов сыворотки с высокими титрами антиглиадина, полученных от пациентов с целиакией, которые специфически распознавали амелогенин в сыром экстракте белка эмали, полученного из свиной матрицы [5].

Опосредованные антителами иммунные реакции в переходном эмалевом органе во время развития зубов могут вызывать нарушения в структуре эмали.

Дефекты развития эмали обычно описываются в клинической практике и могут быть определены как отклонения в качестве или количестве эмали, вызванные нарушением и/или повреждением зуба [4]. Интересно, что, поскольку эмаль не имеет ремоделирующей активности, эти наблюдаемые дефекты могут служить маркером повреждений зуба на протяжении его развития. В результате хронологии развития человеческих зубов (от внутриутробных стадий до позднего подросткового возраста) возникновение преходящего состояния, нарушающего физиологию зуба, может стать очевидным спустя месяцы или годы. Определение дефектов зубной эмали может способствовать ранней диагностики развития целиакии, которая часто остается не диагностированной в течение многих лет. Это особенно актуально, поскольку наличие ДРЭ может быть единственным клиническим проявлением целиакии. Напротив, если целиакия начинается после того, как зубы полностью развились, никаких изменений в зубной эмали не ожидается, что подтверждено у взрослых пациентов с целиакией.

На основе теоретического изучения последовательности белков матрикса эмали свиньи и иммуноанализов *in vitro* выдвинута гипотеза, что дефекты могут быть отнесены к иммунным механизмам, опосредованным перекрестно-реактивными антителами к глиадину. В этом исследовании использовали в качестве модели ткань зубного зачатка свиньи. Свиньи, как правило, считаются подходящей животной моделью для стоматологических биомедицинских исследований из-за высокого сходства морфологии зубов и наличия молочных зубов и всех других типов зубов (т. е. клыков, премоляров и т. д.). Кроме того, высокая гомология нескольких свиных биоактивных молекул с их человеческими аналогами позволяет использовать экстракты матрикса эмали, полученные из свиньи, в регенеративной медицине и позволяет использовать свиную ткань в иммунохимических исследованиях с человеческими антителами. Показано, что антитела в сыворотке пациентов с целиакией распознают компоненты белков эмали. Иммуногистохимическая характеристика этих антител похожа на картину антител, полученных от иммунизированных глиадином мышей к амелогенин-специфическому антителу. Самый сильный сигнал наблюдался в незрелой эмали, где большая часть амелогенина нетронута. В зрелой эмали, однако, где амелогенин постепенно расщепляется, более слабый сигнал может быть приписан как нативному белку, так и некоторым производным белка эмали. Инфильтрация сывороточных белков через слой амелобластов в эмаль была описана ранее, что можно объяснить проницаемостью слоя амелобластов и близостью фенестрированных капилляров на переходных/зрелых стадиях

[6]. В частности, показано, что сывороточный альбумин диффундирует в пористую эмаль, предполагается прохождение и других белков плазмы [7]. В этом контексте *in vivo* инфильтрация антител может происходить в базальных условиях и может усиливаться местным воспалением. В соответствии с этим, ДРЭ у недоношенных новорожденных были связаны с местной травмой, вызванной интубацией трахеи, что позволяет предположить, что даже при отсутствии аутоантител аутоиммунный ответ против белков эмали может иметь место и опосредовать образование ДРЭ [8]. Принимая во внимание все вышеизложенное, предполагается, что реакция *in vivo* у пациентов с целиакией возможна, учитывая высокую гомологию белков эмали обоих видов [7] и инфильтрацию сывороточных белков в эмаль зуба при физиологических и патологических состояниях.

У детей с целиакией поражаются как молочные, так и постоянные зубы. Следовательно, возможно, что как эндогенные, так и материнские антитела могут участвовать в первоначальном ДРЭ. Целиакия по-прежнему недодиагностирована [9] и поражает женщин в два раза чаще, чем мужчин. Иммуноглобулины класса G матери циркулируют в организме плода во время беременности, что совпадает с развитием зубов во время внутриутробного развития.

Аутоиммунная полиэндокринопатия-кандидоз-эктодермальная дистрофия – еще одно аутоиммунное клиническое состояние, которое подозревается в этиологии ДРЭ. Подобно целиакии, картина нарушений эмали может отличаться от одного человека к другому. В отличие от целиакии, поражаются исключительно постоянные зубы. Было высказано предположение, что аутоантитела могут атаковать амелобласты и другие типы клеток или взаимодействовать с белками, которые секретируются во внеклеточный матрикс [10], хотя антиген еще не охарактеризован. При целиакии аутоиммунный эпизод может быть связан с высоким титром сывороточных аутоантител, которые в конечном итоге попадают в эмаль зуба. Это объясняет почему соблюдение безглютеновой диеты приводит к нормализации развития зубов: циркулирующие аутоантитела, вызывающие ДРЭ, просто уменьшаются или полностью исчезают [11]. Экспрессия амелогенина, обычно приписываемая исключительно амелобластам, недавно была описана в других типах клеток [12-13]. Было высказано предположение, что, помимо своей основной роли в минерализации эмали, амелогенин участвует в отложении других твердых тканей во время развития и регенерации, действуя как сигнальная молекула [14]. В этом контексте изменения функции амелогенина могут иметь последствия, выходящие за рамки образования эмали, и нельзя исключать участие других иммунных компонентов. До настоящего времени не оценивалось иммунологическое участие в формировании ДРЭ у пациентов с целиакией. Однако имеются доказательства, подтверждающие патологическую роль антиглиадиновых Ig в этиологии ДРЭ. Это может быть ценным в диагностике целиакии посредством обследования внешнего вида эмали, особенно у бессимптомных детей, имеющих генетическую предрасположенность к целиакии. Будущая идентификация специфических эмалевых белков, которые служат антигенами для аутоантител, поможет определить профилактические стратегии, чтобы избежать дефектов эмали на постоянных зубах у детей с целиакией.

Могут ли антитела, которые получают доступ к зубному зачатку *in vivo*, вызывать временные изменения в развитии эмали, еще предстоит установить. Амелогенин действует

как белок-каркас для образования кристаллов гидроксиапатита кальция; следовательно, возможно, что антитела, взаимодействующие полностью сформированными наносферами амелогенина или растущими наносферами, могут мешать биоминерализации.

Список литературы:

1. Aine L, Maki M, Collin P, Keyrilinen O. Dental enamel defects in celiac disease. *J Oral Pathol Med* 1990; 19: 241–245.
2. Trotta L, Biagi F, Bianchi Pi, Marchese A, Vattiato C, Balduzzi D, Collesano V, Corazza GR. Dental enamel defects in adult coeliac disease: prevalence and correlation with symptoms and age at diagnosis. *Eur J Intern Med* 2013; 24: 832–834.
3. Hill ID, Dirks MH, Liptak GS, Colletti RB, Fasano A, Guandalini S, Hoffenberg EJ, Horvath K, Murray JA, Pivor M, Seidman EG. Guideline for the diagnosis and treatment of celiac disease in children: recommendations of the North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2005; 40: 1–19.
4. Salantri S, Seow WK. Developmental enamel defects in the primary dentition: aetiology and clinical management. *Aust Dent J* 2013; 58: 133–140; quiz 266.
5. Munoz F, Del rio N, Sonora C, Tiscornia I, Marco A, Hernandez A. Enamel defects associated with coeliac disease: putative role of antibodies against gliadin in pathogenesis. *Eur J Oral Sci* 2012; 120: 104–112.
6. Garant PR, Gillespie R. The presence of fenestrated capillaries in the papillary layer of the enamel organ. *Anat Rec* 1969; 163: 71–79.
7. Garnett J, Dieppe P. The effects of serum and human albumin on calcium hydroxyapatite crystal growth. *Biochem J* 1990; 266: 863–868.
8. Seow WK, Brown JP, Tudehope DI, O’Callaghan M. Developmental defects in the primary dentition of low birth-weight infants: adverse effects of laryngoscopy and prolonged endotracheal intubation. *Pediatr Dent* 1984; 6: 28–31.
9. Mearin ML. The prevention of coeliac disease. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2015; 29: 493–501.
10. Pavlic A, Waltimo-Siren J. Clinical and microstructural aberrations of enamel of deciduous and permanent teeth in patients with autoimmune polyendocrinopathy-candidiasis-ectodermal dystrophy. *Arch Oral Biol* 2009; 54: 658–665.
11. Dahlbom I, Korponay-Szabo IR, Kovacs JB, Szalai Z, Maki M, Hansson T. Prediction of clinical and mucosal severity of coeliac disease and dermatitis herpetiformis by quantification of IgA/IgG serum antibodies to tissue transglutaminase. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2010; 50: 140–146.
12. Papagerakis P, Macdougall M, Hotton D, Bailleul-For- Estier I, Oboeuf M, BERDAL A. Expression of amelogenin in odontoblasts. *Bone* 2003; 32: 228–240.
13. Janones DS, Massa LF, Arana-Chavez VE. Immunocytochemical examination of the presence of amelogenin during the root development of rat molars. *Arch Oral Biol* 2005; 50: 527–532.
14. Mitsiadis TA, Filatova A, Papaccio G, Goldberg M, About I, Papagerakis P. Distribution of the amelogenin protein in developing, injured and carious human teeth. *Front Physiol* 2014; 5: 477.

УДК 616.33.616.342- 616.097+616-092+615.2

В.А. Щербак, Н.М. Щербак

ЛИМФОЦИТАРНО-ТРОМБОЦИТАРНАЯ АДГЕЗИЯ У ДЕТЕЙ С ХРОНИЧЕСКИМ ГАСТРОДУОДЕНИТОМ

ФГБОУ ВО Читинская государственная медицинская академия, Чита, Россия

Резюме. Лимфоцитарно-тромбоцитарная адгезия (ЛТА) заключается в спонтанном или стимулированном цитокинами присоединении кровяных пластинок к лимфоцитам. Обследовано 65 больных и 13 здоровых детей в возрасте 11-16 лет. ЛТА у больных хроническим гастродуоденитом в периоде обострения снижена. Уменьшение ЛТА связано с патологическим действием *H. pylori*. Феномен ЛТА можно использовать для прогнозирования течения эрозивных гастродуоденитов.

Ключевые слова: лимфоцитарно-тромбоцитарная адгезия, хронический гастродуоденит, *H. pylori*. дети.

V.A. Shcherbak, N.M. Shcherbak

LYMPHOCYTE-PLATELET ADHESION IN CHILDREN WITH CHRONIC GASTRODUODENITIS

Chita State Medical Academy, Chita, Russia

Abstract. Lymphocyte-platelet adhesion (LPA) consists in spontaneous or cytokines stimulated connection of blood platelets to lymphocyte. 65 patients and 13 healthy children in the age of 11-16 years were examined. LPA at patients with chronic gastroduodenitis in the period of an aggravation was reduced. Reduction of LPA is connected by pathological action *H. pylori*. The phenomenon of LPA can be used for forecasting current of erosive gastroduodenitis.

Key words: lymphocyte-platelet adhesion, chronic gastroduodenitis, *H. Pylori*, children

Хронические гастродуодениты (ХГ) остаются актуальной проблемой в педиатрической практике [1, 3]. Одним из основных этиологических факторов данной патологии является инфекция *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) [8, 11]. Согласно современным представлениям, существует единая система защиты, включающая в себя гемостаз, иммунитет и неспецифическую резистентность организма [4, 5]. Феномен лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии (ЛТА) позволяет судить о функциональном состоянии этой системы, поэтому её можно использовать в диагностических целях и для оценки эффективности проводимой терапии [6, 7]. Он заключается в спонтанном или стимулированном цитокинами присоединении кровяных пластинок к лимфоцитам. Из всего пула лимфоцитов коагрегаты с тромбоцитами способны образовывать только CD4+ и CD16+ [7]. Адгезивную способность лимфоцитов с кровяными пластинками стимулируют IL-1 и IL-2, а ингибируют IL-4, IL-10 и If- α [12].

Целью нашего исследования явилось изучение лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии у детей с хроническим гастродуоденитом (ХГ).

Материалы и методы

Обследовано 13 здоровых и 65 детей с ХГ в возрасте 11-16 лет. У 43 больных отмечался

болевым синдром, при этом у 24 из них боли были после приема пищи, а у 19 – натощак. Диспепсические проявления в виде тошноты, изжоги, отрыжки, склонности к запорам были у 18 пациентов. Определение ЛТА адгезии проводили по методу, предложенному Ю.А. Витковским и соавт. [2]. Статистическая обработка полученных результатов проводилась с использованием пакетов программ Microsoft Excel 2010, STATISTICA 25.0 (StatSoftInc., США). Количественные результаты исследования описывались с использованием медианы (Me) с центильным отклонением [25-75]. Значение $p < 0,05$ считалось статистически значимым.

Результаты и обсуждение

Диагноз ХГ подтверждался фиброгастродуоденоскопией. Поверхностный гастродуоденит выявлен у 22 детей, эрозивный – у 43 больных. Антитела (IgG и IgM) к *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) определены методом ИФА наборами фирмы Diagnostic System Laboratories (США). У 32 больных установлена хеликобактерная природа ХГ. Средняя концентрация IgG *H. pylori* составила у них 106,7 [95,4; 115,9]; IgM *H. pylori* - 71,2 [60,4; 81,2] АЕ/мл.

Установлено, что в при эрозивном ХГ количество ЛТА по сравнению с контролем снижается почти вдвое ($p < 0,01$), а при поверхностной форме - на 60% (таблица 1). Ранее нами установлено в период обострения ХГ у детей снижение числа лимфоцитов, несущих кластер дифференцировки CD4+ [9, 10]. Это объясняет изменение ЛТА, поскольку адгезия тромбоцитов происходит именно к данной субпопуляции лимфоцитов.

Таблица 1

Состояние ЛТА у детей с ХГ в зависимости от эндоскопической формы гастродуоденита, Me [25; 75]

Показатель	Контроль n=13	Эрозивный ХГ n=43	Поверхностный ХГ n=22
ЛТА (%)	14,2 [12,1; 16,7]	7,6 [5,0; 9,3] $p < 0,01$	9,9 [6,5; 10,4] $p < 0,01$; $p1 < 0,05$

Примечания: p – статистическая разница по сравнению с контролем; p1 - статистическая разница по сравнению с эрозивным гастродуоденитом.

Далее мы проанализировали уровень ЛТА в зависимости от этиологии ХГ. Обследовано 26 детей, антитела к *H. pylori* (IgG и IgM) определены методом ИФА. У больных с *H. pylori*(+) ХГ этот показатель был ниже.

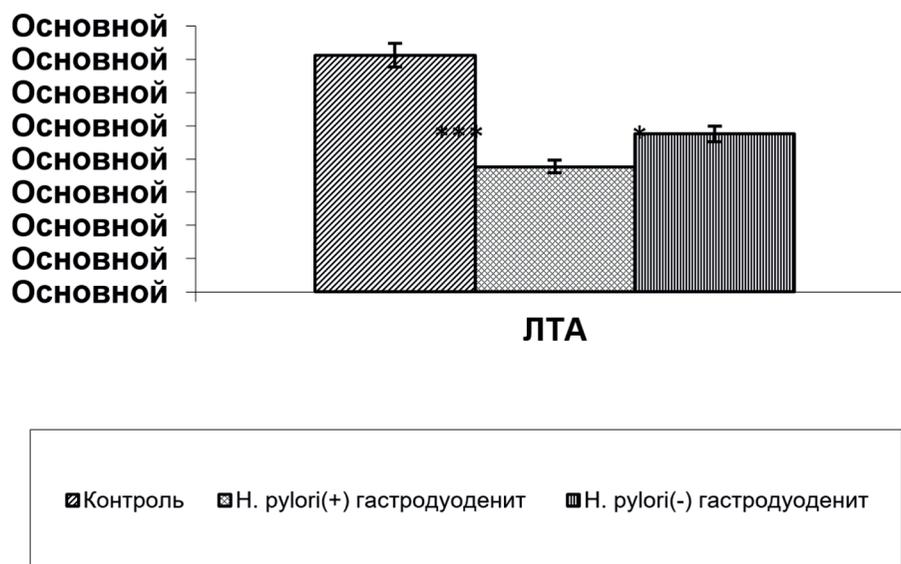


Рис. 1. Состояние ЛТА у детей с ХГ в зависимости от этиологии.

Примечание: * статистическая разница по сравнению с контролем.

Феномен ЛТА можно использовать для прогнозирования течения гастродуоденита у детей. С этой целью обследовано 19 больных эрозивным гастродуоденитом (ЭГ) в периоде обострения. Установлено, что содержание ЛТА у здоровых составило 14,2 [12,1; 16,7], а при ЭГ этот показатель снижался (таблица 2). Больные были разделены на 2 группы: первую составили пациенты, у которых после лечения произошло заживление эрозий слизистой оболочки желудка (СОЖ) и двенадцатиперстной кишки (ДПК), во вторую вошли дети, у которых сохранялись эрозии слизистой после терапии.

Таблица 2

Содержание ЛТА у детей, больных эрозивным гастродуоденитом Me [25; 75]

Группы детей	n	ЛТА, %
Здоровые	13	14,2 [12,1; 16,7]
Больные ЭГ до лечения (все)	19	7,6 [5,0; 9,3]
		p<0,001
Больные ЭГ до лечения, у которых после терапии произошла эпителизация слизистой оболочки (1 группа)	14	9,3 [6,3; 11,1]
		p<0,01
Больные ЭГ до лечения, у которых после терапии не произошла эпителизация слизистой оболочки (2 группа)	5	4,4 [3,0; 6,7]
		p<0,001

Примечание. P - уровень значимости различий по сравнению с контролем.

Результаты исследования выявили значительные колебания количества ЛТА у больных обеих групп. Так, если у детей 1 группы содержание ЛТА составляло от 6 до 13%, то у пациентов 2 группы этот показатель был в пределах 3-6% (таблица 3).

Распределение больных по содержанию ЛТА (количество детей)

Содержание ЛТА (%)	1 группа (n)	2 группа (n)
3		1
4		2
5		1
6	1	1
7		
8	3	
9	6	
10		
11	2	
12	1	
13	1	

У большинства детей 1 группы ЛТА составила от 8 до 11%, и только у одного ребенка этот показатель был 6%. У всех пациентов 2 группы содержание ЛТА было ниже 7%. Метод ЛТА предлагается использовать для прогнозирования течения ЭГ у детей. Специфичность данного способа составила 94,74% (ошибка: 1 больной из 19).

Примеры выполнения:

Пример 1. Выписка из истории болезни №2832.

Анна Б., 14 лет. Диагноз эрозивный гастродуоденит. Масса 46 кг, рост 156 см. При поступлении предъявляла жалобы на боли в эпигастрии после приема пищи, тошноту. Фиброгастродуоденоскопия 1: острые эрозии антрального отдела желудка. ЛТА 9%. Фиброгастродуоденоскопия 2: при контрольном осмотре отмечается эпителизация эрозий антрального отдела желудка.

Пример 2. Выписка из истории болезни № 1711.

Наталья О., 14 лет. Диагноз эрозивный гастродуоденит, обострение. При поступлении жалобы на болящую характерав верхней половине живота через 20 минут после приема пищи, тошноту, изжогу, запоры. Масса 52 кг, рост 163 см. Фиброгастродуоденоскопия 1: Распространенный поверхностный гастрит, острые эрозии антрального отдела желудка, бульбит. ЛТА – 4%. Фиброгастродуоденоскопия после лечения: сохраняются эрозии антрального отдела желудка.

Таким образом, до начала лечения выявлено существенное отличие показателя ЛТА у больных ЭГ, что позволяет использовать его для прогнозирования исхода эрозий СОЖ и ДПК. При содержании ЛТА менее 7% до начала терапии можно прогнозировать сохранение после лечения эрозий слизистой оболочки желудка и двенадцатиперстной кишки.

Выводы:

1. Лимфоцитарно-тромбоцитарная адгезия у больных хроническим гастродуоденитом в периоде обострения снижена.
2. Уменьшение лимфоцитарно-пластиночной адгезии связано с патологическим действием *H. pylori*.

3. Феномен лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии можно использовать для прогнозирования течения эрозивных гастродуоденитов у детей.

Список литературы:

1. Бельмер С.В., Волынец Г.В., Горелов А.В. [и др.] Диагностика и лечение хеликобактерной инфекции у детей // Материалы XXIX Конгресса детских гастроэнтерологов России и стран СНГ («Актуальные проблемы абдоминальной патологии у детей»). Под общей редакцией проф. С.В. Бельмера и проф. Л.И. Ильенко. М.: ИД «Медпрактика-М». - 2022. – С. 178-191. ISBN 978-5-98803-452-0.
2. Витковский Ю.А. Феномен лимфоцитарно-тромбоцитарного розеткообразования / Ю.А. Витковский, Б.И. Кузник, А.В. Солпов // Иммунология. – 1999. - №4. – С.35-37.
3. Вшивков В.А., Поливанова Т.В. Уровень цитокинов крови у детей школьного возраста с эрозивным гастритом // Российский педиатрический журнал. - 2021. Т.24, №4. – С. 248-249.
4. Кузник Б. И., Цыбиков Н.Н Аутоиммунные механизмы регуляции системы гемостаза. //Сибирский онкологический журнал. - 2005. - №1. – С. 88-95.
5. Кузник Б. И., Цыбиков Н.Н., Витковский Ю.А. Единая гуморальная система защиты организма. // Забайкальский медицинский журнал. 2004. - №4. – С. 13-19.
6. Кузник Б.И., Максимова О.Г. Клиническая гематология детского возраста. Москва : "Вузовская книга", 2010. 496 с. ISBN 978-5-9502-0413-5.
7. Физиология : Учебник для студентов лечебного и педиатрического факультетов / Н. А. Барбараш, М. Д. Берг, Н. Р. Григорьев [и др.]. 5-е издание, исправленное и дополненное. – Москва : Издательство "Медицинское информационное агентство", 2017. - 512 с. ISBN 978-5-9986-0261-0.
8. Щербак В.А. Процессы перекисного окисления липидов в слизистой оболочке желудка при хроническом гастродуодените у детей. // Российский педиатрический журнал. - 2006. - №1. - С. 18-21.
9. Щербак В.А., Витковский Ю. А., Кузник Б. И. Иммунные нарушения и обоснование их коррекции при хроническом гастродуодените у детей.// Медицинская иммунология. – 2008. - Т 10, №1. – С. 59-66.
10. Щербак В.А., Кузник Б. И., Витковский Ю. А. Цитокины при иммуномодулирующей терапии детей с хроническим гастродуоденитом. // Иммунология. – 2005. Т. 26, №6. – С. 342-344.
11. Щербак В.А., Щербак Н.М. Новые данные об этиологии и патогенезе хронических гастродуоденитов у детей // Забайкальский медицинский вестник. – 2014. - №3. – С.148-155.
12. Vitkovsky Yu. Cytokine influence on platelet-lymphocyte adhesion / Yu. Vitkovsky, A. Solpov, B. Kuznik // Thrombosis and Haemostasis. – 2001. – Suppl. - P. 2711.

УДК: 616.927-022

^{1,3}Эрдынеев С.В., ^{1,2,3,4}Арефьева Н.А., ¹Джиоев Ю.П., ¹Борисенко А.Ю., ^{4,5}Букин Ю.С.,
¹Антипин Д.А., ⁴Саловарова В.П., ^{1,6}Злобин В.И.

**СРАВНИТЕЛЬНЫЙ IN SILICO АНАЛИЗ РАЗНООБРАЗИЯ ПРОФАГОВ
В ГЕНОМАХ СЕРОВАРОВ SALMONELLA ENTERICA: TYPHIMURIUM,
ENTERITIDIS, INFANTIS**

¹*ФГБОУ ВО Иркутский государственный медицинский университет,
Иркутск, Россия*

²*ФГБНУ Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека,
Иркутск, Россия*

³*ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и
Дальнего Востока РОСПОТРЕБНАДЗОРА, Иркутск, Россия*

⁴*ФГБОУ ВО Иркутский государственный университет, Иркутск, Россия*

⁵*ФГБУН Лимнологический институт Сибирского отделения РАН, Иркутск, Россия*

⁶*Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии
им. Н. Ф. Гамалеи, Москва, Россия*

Аннотация. *Salmonella enterica*-грамотрицательный внутриклеточный патоген человека и животных является источником сальмонеллезов пищевого происхождения, в основном продукты от домашних птиц и скота. Вид *S. enterica* включает более 2600 различных сероваров. Посредством *in silico* методов в геномах трех сероваров: *S. Typhimurium*, *S. Enteritidis*, *S. Infantis* проведен поиск и анализ разнообразия локусов и структур профагов. Больше всего профагов оказалось в геномах штаммов *S. Typhimurium*. Самый большой профаг был в геноме *S. Typhimurium* и определен как фаг сальмонеллы, а самый маленький в геноме *S. Infantis* и был идентифицирован, как фаг хлореллы.

Ключевые слова: серовары: *S. Typhimurium*, *S. Enteritidis*, *S. Infantis*, методы *in silico*, профаги

^{1,3}Erdynееv S.V., ^{1,2,3,4}Arefieva N.A., ¹Dzhioev Yu.P., ¹Borisenko A.Yu., ^{3,5}Bukin Yu.S.,
¹Antipin D.A., ⁴Salovarova V.P., ^{1,6}Zlobin V.I.

**COMPARATIVE IN SILICO ANALYSIS OF PROPHAGE DIVERSITY IN THE
GENOMES OF SALMONELLA ENTERICA SEROVARS: TYPHIMURIUM,
ENTERITIDIS, INFANTIS**

¹*Irkutsk State Medical University, Irkutsk, Russia*

²*Scientific Center for Family Health and Human Reproduction, Irkutsk, Russia*

³*Irkutsk Research Anti-Plague Institute of Siberia and the Far East, Irkutsk, Russia*

⁴*Irkutsk State University, Irkutsk, Russia*

⁵*Limnological Institute of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences,
Irkutsk, Russia*

⁶*National Research Center of Epidemiology and Microbiology named after N. F.
Gamaleya, Moscow, Russia*

Abstract. *Salmonella enterica* is a Gram-negative intracellular pathogen of humans and

animals, a source of foodborne salmonellosis, mainly products from poultry and cattle. The species S. enterica includes more than 2600 different serovars. Using in silico methods, the diversity of loci and structures of prophages was searched for and analyzed in the genomes of three serovars: S. Typhimurium, S. Enteritidis, S. Infantis. Most prophages were found in the genomes of S. Typhimurium strains. The largest prophage was in the genome of S. Typhimurium and was defined as a salmonella phage, and the smallest in the genome of S. Infantis and was identified as a chlorella phage.

Key words: *serovars: S. Typhimurium, S. Enteritidis, S. Infantis, in silico methods, prophages*

Введение. Вид *Salmonella enterica* из рода *Salmonella* - грамотрицательный факультативный патоген человека и животных является одним из наиболее распространенных причин инфекций пищевого происхождения в мире [1]. По статистике ежегодно регистрируется 93,8 миллиона случаев гастроэнтерита, что приводит примерно к 215 000 смертей [2]. Основными источниками сальмонеллезов являются в большей мере продукты от домашней птицы и скота. Вид *S. enterica* включает более 2600 различных сероваров, среди которых на долю двух: *S. enterica Typhimurium* и *S. enterica Enteritidis* приходится почти 60% всех вспышек сальмонеллы во всем мире [3, 4]. Серовары *S. enterica* глобально распространены и многие из них приобрели множественную лекарственную устойчивость (МЛУ) к современным антибиотикам [5, 6]. В связи с этим стали вновь развивать технологии фаготерапии против бактерии с МЛУ [7]. Однако, еще мало научных знаний по генетическим механизмам антагонистических взаимоотношений между бактериями и фагами, которые формировались в течение почти четырех миллиардов лет. Для устойчивости к фагам бактерии эволюционно сформировали систему адаптивной защиты-CRISPR/Cas [8]. Но фаги также формировали свои системы проникновения в бактерии и адаптации в их геномах в форме профагов [9]. Они могут составлять до 10-20% генома бактерии и играют большую роль в их эволюции. Помимо лизогенной конверсии профаги обеспечивают механизм горизонтального переноса генов между различными хозяевами посредством генерализованной (вирулентные), специализированной (дефектные) и латеральной (плазмиды) трансдукции. Из литературы известно, что серовары сальмонелл различаются большими вставками профагов и примерно 60% из них получены от умеренных фагов (рис.1.) [10]. Однако, чтобы всесторонне изучить множество ролей и видовое разнообразие профагов, сначала необходимо предсказать их присутствие в геномах исследуемых бактерий методами геномики и биоинформатики.

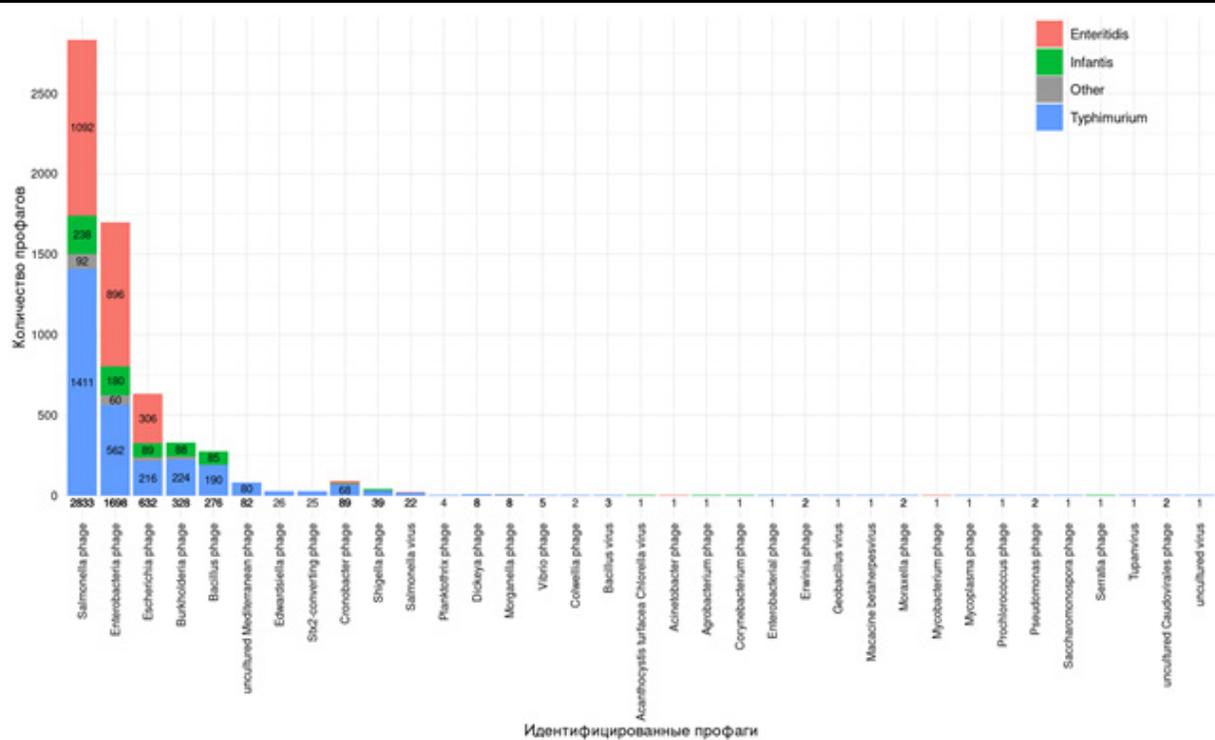


Рис. 2. Количественное распределение выявленных профагов в геномах трех сероваров: *S. Typhimurium*, *S. Enteritidis* и *S. Infantis*.

В геномах сальмонелл серовара *Typhimurium* идентифицировано больше видов фагов, чем в *Enteritidis* или *Infantis*. Самый маленький фрагмент профага длиной 2333 п.о. был в геноме *S. Infantis* и идентифицированный, как фаг хлореллы. Фрагмент содержал 6 рамок считывания, 4 из которых отвечали за метаболизм сахаров, а именно фруктозы и мальтозы. Самый большой фрагмент профага длиной 160595 п.о. был в геноме *S. Typhimurium* и идентифицированный, как фаг сальмонеллы. Профаг, содержал 158 рамок считывания, имел ключевые профаговые белки, такие как хвост, интегразу, транспозазу и другие.

Выводы. Проведен биоинформатический анализ с использованием алгоритма DBSCAN-SWA для поиска и предсказания профаговых областей в геномных трех сероваров *Salmonella enterica subsp. enterica: Enteritidis, Infantis* и *Typhimurium*. Выявлено, что в среднем количество профагов в геномах штаммов *S. Typhimurium* достоверно выше, чем в двух остальных сероварах, при этом среднее которых друг от друга не отличается. Таким образом, для *S. Enteritidis* и *S. Infantis* среднее количество профагов равно 8, а для *S. Typhimurium* 12-13. Также, был выявлен самый большой профаг в геноме *S. Typhimurium* и идентифицированный, как фаг сальмонеллы, а самый маленький оказался в геноме *S. Infantis* и был идентифицирован, как фаг хлореллы.

Финансирование. Работа выполнена при поддержке гранта Российского научного фонда (проект № 23-25-00520).

Список литературы:

1. Teklemariam AD, Al-Hindi RR, Albiheyri RS, et.al. Human *Salmonellosis*: A Continuous Global Threat in the Farm-to-Fork Food Safety Continuum. *Foods*. 2023 Apr 23;12(9):1756. doi: 10.3390/foods12091756.
2. Gal-Mor O, Boyle EC, Grassl GA. Same species, different diseases: how and why typhoidal and non-typhoidal *Salmonella enterica* serovars differ. *Front Microbiol*. 2014 Aug 4;5:391. doi: 10.3389/fmicb.2014.00391.
3. Gal-Mor O, Boyle EC, Grassl GA. Same species, different diseases: how and why typhoidal and non-typhoidal *Salmonella enterica* serovars differ. *Front Microbiol*. 2014 Aug 4;5:391. doi: 10.3389/fmicb.2014.00391.
4. Griffith R.W., Carlson S.A., Krull A.C. *Salmonellosis*. *Dis. Swine*. 2019:912–925. doi: 10.1002/9781119350927.ch59.
5. Du P, Liu X, Liu Y, et.al. Dynamics of Antimicrobial Resistance and Genomic Epidemiology of Multidrug-Resistant *Salmonella enterica* Serovar Indiana ST17 from 2006 to 2017 in China. *mSystems*. 2022 Aug 30;7(4):e0025322. doi: 10.1128/msystems.00253-22.
6. Ксуан Да Фам, Хао Ле Ти Хонг, Хуен Тран Ти Тан, и др. Мультирезистентные к антибиотикам штаммы и гены вирулентности *Salmonella* Strains, выделенной из мяса кур (Ханой, Вьетнам)// Анализ риска здоровью. 2023. № 1. С. 115–123. doi: 10.21668/health.risk/2023.1.11.
7. Grabowski Ł, Węgrzyn G, Węgrzyn A, Podlacha M. Phage Therapy vs. the Use of Antibiotics in the Treatment of *Salmonella*-Infected Chickens: Comparison of Effects on Hematological Parameters and Selected Biochemical Markers. *Antibiotics (Basel)*. 2022 Dec 9;11(12):1787. doi: 10.3390/antibiotics11121787.
8. Bhokisham N, Laudermilch E, Traeger LL, et.al. CRISPR-Cas System: The Current and Emerging Translational Landscape. *Cells*. 2023 Apr; 12(8): 1103. doi: 10.3390/cells12081103.
9. Wahl A, Battesti A, Ansaldi M. Prophages in *Salmonella enterica*: a driving force in reshaping the genome and physiology of their bacterial host?. *Mol Microbiol*. 2019. V. 111, № 2. P. 303-316. doi: 10.1111/mmi.14167.
10. Wahl A, Battesti A, Ansaldi M. Prophages in *Salmonella enterica*: a driving force in reshaping the genome and physiology of their bacterial host?. *Mol Microbiol*. 2019 Feb;111(2):303-316. doi: 10.1111/mmi.1416

ОГЛАВЛЕНИЕ

Антипин Д.А., Джиоев Ю.П., Арефьева Н.А., Борисенко А.Ю., Эрдынеев С.В., Букин Ю.С., Кахиани К.Б., Семинский И.Ж. БИОИНФОРМАЦИОННЫЙ АНАЛИЗ РАЗНООБРАЗИЯ СТРУКТУР G-КВАДРУПЛЕКСОВ В ГЕНОМАХ SALMONELLA SPP И ИХ РОЛЬ В РЕГУЛЯЦИИ УСТОЙЧИВОСТИ К ФАГАМ (ОБЗОР).....	4
Бабинский В.В., Терешков П.П., Фефелова Е.В., Жигжитова Е.Б., Мигунова В.М., Куфорова В.В. Цыбиков Н.Н. ИЗМЕНЕНИЯ УРОВНЯ sPD-1, sPD-L1, sCTLA-4, sB7.2У БОЛЬНЫХ С РАЗЛИЧНЫМИ ФОРМАМИ АУТОИММУННОГО ТИРЕОИДИТА.....	9
Бакшеева Е.Г., Цыбиков Н.Н., Галак И.Р. КОАГУЛЯЦИОННЫЕ СВОЙСТВА МОЧИ ПО ДАННЫМ КЛОТТИНГОВЫХ ТЕСТОВ У ПАЦИЕНТОВ С ПОЧЕЧНОЙ КОЛИКОЙ.....	13
Баясхаланова Ц.Б., Фефелова Е.В., Цыбиков Н.Н., Обыденко В.И., Нестеренко Е.С. РОЛЬ HMGB-1 В ПАТОГЕНЕЗЕ РАЗВИТИЯ РЕВМАТОИДНОГО АРТРИТА.....	16
Богомягкова Е.Н., Солпов А.В., Терешков П.П., Витковский Ю.А. СОДЕРЖАНИЕ РАСТВОРИМЫХ МОЛЕКУЛ АДГЕЗИИ И ТРОМБОЦИТАРНО-ЛЕЙКОЦИТАРНЫХ КОАГРЕГАТОВ В ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ПОДРОСТКОВ ПРИ COVID-19.....	20
Бокова Ю.А., Степанова Ю.Н., Цыбиков Н.Н. НЕКОТОРЫЕ МЕХАНИЗМЫ КОАГУЛОПАТИИ У БОЛЬНЫХ ТУБЕРКУЛЕЗОМ ОРГАНОВ ДЫХАНИЯ И КОИНФЕКЦИЕЙ ТУБЕРКУЛЕЗ И ВИЧ-ИНФЕКЦИЯ.....	24
Болотов Э.С., Четверяков А.В., Терешков П.П., Фефелова Е.В., Каюкова Е.В. ЛОКАЛЬНЫЙ УРОВЕНЬ БЕЛКОВ ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ИММУННОГО ЦИКЛА В РЕГИОНАРНЫХ ЛИМФАТИЧЕСКИХ УЗЛАХ У БОЛЬНЫХ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ И КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКА.....	28
Борисенко А.Ю., Арефьева Н.А., Джиоев Ю.П., Большедворская П.М. ПОИСК И АНАЛИЗ РАЗНООБРАЗИЯ ФАГОВ, ВЫЯВЛЯЕМЫХ ЧЕРЕЗ CRISPR/CAS-СИСТЕМЫ В ГЕНОМАХ SALMONELLA ENTERICA МЕТОДАМИ БИОИНФОРМАТИКИ.....	34
Бочарова Н.В., Коваленко И.С., Новгородцева Т.П., Ермоленко Е.В. УРОВНИ N-АЦИЛЭТАНОЛАМИНОВ В ПЛАЗМЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ.....	39
Бутин Е.В. ПАТОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ГЕМОСТАЗА И ВТОРИЧНОГО ПОРАЖЕНИЯ ПРИ ИШЕМИЧЕСКОМ ПОРАЖЕНИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА.....	42
Власова А.Н., Фефелова Е.В. РОЛЬ ГИДРОКСИХОЛЕКАЛЬЦИФЕРОЛА В ПАТОГЕНЕЗЕ РАЗВИТИЯ БРОНХИАЛЬНОЙ ОБСТРУКЦИИ У ДЕТЕЙ С РАЗНЫМ УРОВНЕМ SP-D.....	46
Викторовская А.А., Бочарова Н.В. МОДИФИКАЦИЯ СОСТАВА ЖИРНЫХ КИСЛОТ ЛЕЙКОЦИТОВ ПРИ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЕ ЛЕГКОЙ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ.....	49
Гайдукова Т.В., Лукьянов С.А., Шаповалов К.Г., Фефелова Е.В., Терешков П.П., Цыбиков Н.Н. НЕКОТОРЫЕ МЕХАНИЗМЫ РАЗВИТИЯ КОАГУЛОПАТИИ У БОЛЬНЫХ С COVID-19....	53

Галак И. Р., Цыдендамбаев Б.Б., Боязитова Е.А. СТРАТЕГИЯ ИЗУЧЕНИЯ НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ВНЕКЛЕТОЧНЫХ ЛОВУШЕК. ТОНКОСТИ И ПОДВОДНЫЕ КАМНИ ПРИ РАБОТЕ С НЕЙТРОФИЛАМИ.....	58
Галак И.Р., Жалсараева Д.Б., Бабинский В.В., Максимова О.Г. ПАТОГЕНЕТИЧЕСКАЯ РОЛЬ НЕДОСТАТОЧНОСТИ КРОВЕТВОРЕНИЯ В РАЗВИТИИ ПАРОКСИЗМАЛЬНОЙ НОЧНОЙ ГЕМОГЛОБИУРИИ НА ПРИМЕРЕ КЛИНИЧЕСКОГО НАБЛЮДЕНИЯ.....	63
Галашина Е.А. ПАТОГЕНЕТИЧЕСКАЯ РОЛЬ МАРКЕРОВ РЕМОДЕЛИРОВАНИЯ КОСТНОЙ ТКАНИ В РАЗВИТИИ ОСТЕОПОРОЗА (ОБЗОР).....	68
Гераськин И.В. Дерюгина А.В. Гераськин В.А. Антошина В.В. ИЗМЕНЕНИЕ СТРУКТУРНЫХ И ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ПАРАМЕТРОВ ГЕМОГЛОБИНА У ПАЦИЕНТОВ НЕОНАТАЛЬНОГО ПЕРИОДА ПОСЛЕ ГЕМОТРАНСФУЗИЙ.....	72
Гугунишвили А.Т., Фисюк Е.А. ИЗУЧЕНИЕ РАСПРОСТРАНЕННОСТИ ФАКТОРОВ РИСКА РАЗВИТИЯ ИНФАРКТА МИОКАРДА В РАННЕМ ВОЗРАСТЕ.....	76
Гусев А.В., Бурдиенко Т.О. ЛЕЙКОЦИТАРНО-ТРОМБОЦИТАРНЫЕ КОАГРЕГАТЫ В НОРМЕ И ПАТОЛОГИИ.....	81
Давыдов А.О. МЕХАНИЗМЫ РАЗВИТИЯ ДИСФУНКЦИИ ЭНДОТЕЛИЯ ПРИ ГИПЕРГОМОЦИСТЕИНЕМИИ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ).....	85
Джиоев Ю.П., Арефьева Н.А., Борисенко А.Ю., Эрдынеев С.В., Карноухова О.Г., Мирошниченко Л.А., Антипин Д.А., Вершинина Т.И., Семинский И.Ж. ИНДИКАТОРЫ ПАТОГЕНЕЗА САЛЬМОНЕЛЛЕЗОВ, ВЫЗЫВАЕМЫХ SALMONELLA ENTERICA И ПЕРСПЕКТИВЫ ИХ ФАГОТЕРАПИИ (ОБЗОР).....	90
Дутова С.В., Маниковская Т.М., Сердцев М.И., Нестеренко Е.С., Филиппова О.П., Баясхаланова Ц.Б., Егорова Е.В., Фефелова Е.В. ОСОБЕННОСТИ МОРФОЛОГИЧЕСКОЙ ХАРАКТЕРИСТИКИ ЭОЗИНОФИЛЬНО- ГО ТИПА ПОЛИПОЗНОГО РИНОСИСУСИТА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ НАЛИЧИЯ АЛЛЕРГОЛОГИЧЕСКОГО АНАМНЕЗА.....	95
Иванов М.О., Егорова Е.В., Фефелова Е.В., Цыбиков Н.Н. АНАЛИЗ ФАКТОРОВ РИСКА РАЗВИТИЯ ПОЛИПОЗНОГО РИНОСИСУСИТА.....	100
Игнатъева А.В., Цыбиков Н.Н. СОДЕРЖАНИЕ ОТДЕЛЬНЫХ ФАКТОРОВ СВЕРТЫВАНИЯ КРОВИ И ФИБРИНОЛИЗА У ДЕТЕЙ, РОДИВШИХСЯ ОТ МАТЕРЕЙ С COVID-19.....	106
Казумова А. Б. КОРРЕКЦИЯ КОАГУЛОПАТИЙ, ОБУСЛАВЛИВАЮЩИХ ОСЛОЖНЕНИЯ БЕРЕМЕННОСТИ.....	110
Кахиани К.Б., Арефьева Н.А., Джиоев Ю.П., Борисенко А.Ю., Эрдынеев С.В., Букин Ю.С., Антипин Д.А., Карноухова О.Г., Семинский М.Ж. IN SILICO ПОИСК И СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ РАЗНООБРАЗИЯ СТРУКТУР G-КВАДРУПЛЕКСОВ В ГЕНАХ CAS БЕЛКОВ SALMONELLA ENTERICA.....	113
Киселева С.П., Юнина А.С. ОТНОШЕНИЕ НАСЕЛЕНИЯ К РАЗЛИЧНЫМ СПОСОБАМ СНИЖЕНИЯ МАССЫ ТЕЛА..	118

Кондратьева Е.В., Виткина Т.И. ВЛИЯНИЕ ТВЕРДЫХ ВЗВЕШЕННЫХ ЧАСТИЦ АТМОСФЕРНОГО ВОЗДУХА НА ЭНЕРГЕТИЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЕ CD4+ КЛЕТОК ПРИ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЕ ЛЕГКОЙ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ.....	122
Коновалова А.А., Цепелев В.Л. ЛИПОКАЛИН, МАТРИКСНЫЕ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗЫ В ПАТОГЕНЕЗЕ ОСТРОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ ПОЧЕК ПРИ ТЕРМИЧЕСКИХ ОЖОГАХ КОЖИ.....	127
Крюкова В.В., Цепелев В.Л., Себаочжай А.В., Денисова К.М. ЭКСПРЕССИЯ СТЛА-4 Т-ЛИМФОЦИТАМИ В ТКАНИ ОПУХОЛИ И РЕГИОНАРНЫХ ЛИМФОУЗЛАХ ПРИ РАКЕ ТОЛСТОЙ КИШКИ.....	131
Крюкова В.В., Цепелев В.Л., Кочергина Я.В., Доржиева Д.Б. ЭКСПРЕССИЯ БЕЛКА PD-1 ЛИМФОЦИТАМИ ОПУХОЛЕВОГО МИКРООКРУЖЕНИЯ У БОЛЬНЫХ С КОЛОРЕКТАЛЬНЫМ РАКОМ.....	134
Лапкина Е.З. ОВЕРЭКСПРЕССИЯ MIR-204-5P ИНДУЦИРУЕТ ДИССЕМИНАЦИЮ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК МЕЛАНОМЫ B16 В ЛЕГКИЕ МЫШЕЙ C57BL6.....	137
Лисина С.В., Шахматов И.И., Блажко А.А. ВЛИЯНИЕ ГИПОКСИИ И КУРСОВОГО ПРИЕМА МЕКСИДОЛА НА РЕАКЦИЮ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА ПРИ ОДНОКРАТНЫХ НАГРУЗКАХ РАЗНОЙ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ.....	141
Литвинцева К.А., Обыденко К.Ю., Якименко М.А., Обыденко В.И., Баясхаланова Ц.Б. ВЛИЯНИЕ ПОВЕРХНОСТНО-АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ, ВХОДЯЩИХ В СОСТАВ ЗУБНЫХ ПАСТ, НА ПОВРЕЖДЁННЫЕ СЛИЗИСТЫЕ ОБОЛОЧКИ ПОЛОСТИ РТА У ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ.....	145
Лобанов С.Л., Паздникова Д.В., Мнацаканян А.Е., Маниковская Т.М., Сердцев М.И., Баясхаланова Ц.Б. МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПОЛИПОВ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ У МАЛЫХ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ.....	148
Ма-Ван-дэ А.Ю., Фефелова Е.В. ПОКАЗАТЕЛИ НЕКОТОРЫХ МОЛЕКУЛ TNF И НЕЙРОВОСПАЛЕНИЯ В ОСТРЕЙШУЮ СТАДИЮ ИШЕМИЧЕСКОГО ИНСУЛЬТА (АТЕРОТРОМБОТИЧЕСКИЙ И ЛАКУНАРНЫЙ ПОДТИПЫ).....	150
Марковский А.В., Сычёва О.А. СОВРЕМЕННАЯ ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ДИСЛИПИДЕМИЙ.....	154
Мишин А.К., Фефелова Е.В. РОЛЬ РАСТВОРИМОГО РЕЦЕПТОРА ИНТЕРЛЕЙКИНА-2 В НОРМЕ И ПАТОЛОГИИ....	159
Нимаев А.Ж., Галак И.Р., Орлов П.А. НОВЫЙ ВЗГЛЯД НА ГИПЕРЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ. СОВРЕМЕННАЯ НОМЕНКЛАТУРА АЛЛЕРГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ.....	163
Подхватилина Н.А., Фисюк Е.А. ОЦЕНКА ТРИГГЕРНЫХ ФАКТОРОВ, ВЛИЯЮЩИХ НА РАБОТУ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ.....	167
Решетникова С.С., Галак И.Р. РОЛЬ НЕКОТОРЫХ НЕНАСЫЩЕННЫХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ, ОКИСЛЕННЫХ ФОСФОЛИПИДОВ И ЛИПОПРОТЕИДОВ В ФОРМИРОВАНИИ НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ВНЕ-КЛЕТОЧНЫХ ЛОВУШЕК.....	172

Ситнова В. А., Смыслова А. Ю. ОЦЕНКА ТРИГГЕРНЫХ ФАКТОРОВ, СПОСОБСТВУЮЩИХ РАЗВИТИЮ САХАРНОГО ДИАБЕТА 2 ТИПА СРЕДИ НАСЕЛЕНИЯ.....	175
Степанов Е. А., Баясхаланова Ц.Б., Терешков П.П., Фефелова Е.В., Степанов А. В. ОСОБЕННОСТИ СОДЕРЖАНИЯ IL-1b, IL-17, IL-18 и IL-10 В КРОВИ И БОЛЬНОМ СУСТАВЕ ПРИ РЕВМАТОИДНОМ АРТРИТЕ.....	180
Сущенко Р.А., Панченко А.С. ЛОКАЛЬНОЕ РЕМОДЕЛИРОВАНИЕ КОСТЕЙ СВОДА ЧЕРЕПА В ПАТОГЕНЕЗЕ КЕФАЛОГЕМАТОМ У НОВОРОЖДЕННЫХ.....	185
Тенешев Н.В., Есимбекова А.Р. УСИЛЕНИЕ АДГЕЗИВНОЙ СПОСОБНОСТИ КЛЕТОК МЕЛАНОМЫ КОЖИ НА ФОНЕ ТЕРАПИИ ВЕМУРАФЕНИБОМ.....	190
Филиппова О.П., Нестеренко Е.С., Петрова Е.И., Литвинцева К.А., Нольфин Н.А., Баясхаланова Ц.Б. МЕТОДИКА ОБЪЕКТИВИЗАЦИИ ЭЛЕКТРОГРАФИЧЕСКИХ ДАННЫХ, ПОЛУЧАЕМЫХ ПРИ РАБОТЕ С ЛАБОРАТОРНЫМИ КРЫСАМИ.....	194
Цыбиков Н.Н. МЕХАНИЗМЫ РАЗВИТИЯ ИММУНОТРОМБОЗА.....	196
Четыркина М.В., Безруких Т.Н., Баясхаланова Ц.Б., Обыденко В.И. АНАЛИЗ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ В ОРГАНАХ КРЫС, ПОДВЕРГШИХСЯ ВОЗДЕЙСТВИЮ ЖЕВАТЕЛЬНОЙ НИКОТИНСОДЕРЖАЩЕЙ СМЕСИ.....	200
Шаповалова А.К., Фоминых М.С. БЕЛКИ ЭМАЛИ КАК МИШЕНИ ДЛЯ АНТИТЕЛ ПРИ ЦЕЛИАКИИ.....	204
Щербак В.А., Щербак Н.М. ЛИМФОЦИТАРНО-ТРОМБОЦИТАРНАЯ АДГЕЗИЯ У ДЕТЕЙ С ХРОНИЧЕСКИМ ГАСТРОДУОДЕНИТОМ.....	208
Эрдынеев С.В., Арефьева Н.А., Джюев Ю.П., Борисенко А.Ю., Букин Ю.С., Антипин Д.А., Саловарова В.П., Злобин В.И. СРАВНИТЕЛЬНЫЙ IN SILICO АНАЛИЗ РАЗНООБРАЗИЯ ПРОФАГОВ В ГЕНОМАХ СЕРОВАРОВ SALMONELLA ENTERICA: TYPHIMURIUM, ENTERITIDIS, INFANTIS.....	213

