

# МЕДИЦИНА ЭКСТРЕМАЛЬНЫХ СИТУАЦИЙ

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ ЖУРНАЛ ФМБА РОССИИ

**ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР** Вероника Скворцова, д. м. н., профессор, член-корр. РАН

**ЗАМЕСТИТЕЛИ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА** Игорь Берзин, д. м. н., профессор;

Дарья Крючко, д. м. н., доцент

**НАУЧНЫЕ РЕДАКТОРЫ** Всеволод Белоусов, д. б. н., профессор, член-корр. РАН;

Антон Кескинов, к. м. н.

**ТЕХНИЧЕСКИЙ РЕДАКТОР** Евгений Лукьянов

**ПЕРЕВОДЧИКИ** Надежда Тихомирова, Вячеслав Витюк

**ДИЗАЙН И ВЕРСТКА** Марины Дорониной

## РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

**В. К. Агапов**, д. м. н., профессор (Москва, Россия)

**А. В. Богомолов**, д. т. н., профессор (Москва, Россия)

**А. Н. Бойко**, д. м. н., профессор (Москва, Россия)

**В. Н. Болехан**, д. м. н., доцент (Москва, Россия)

**И. В. Борисевич**, д. м. н., профессор (Москва, Россия)

**А. Ю. Бушманов**, д. м. н., профессор (Москва, Россия)

**Р. Валента**, д. м. н., профессор (Москва, Россия)

**С. Э. Восканян**, д. м. н., профессор, член-корр. РАН (Москва, Россия)

**Н. А. Дайхес**, д. м. н., профессор, член-корр. РАН (Москва, Россия)

**С. В. Дударенко**, д. м. н., доцент (Санкт-Петербург, Россия)

**К. А. Зыков**, д. м. н., профессор, член-корр. РАН (Москва, Россия)

**Л. А. Ильин**, д. м. н., профессор, академик РАН (Москва, Россия)

**Н. Н. Каркищенко**, д. м. н., профессор, член-корр. РАН (Москва, Россия)

**Р. Р. Каспранский**, к. м. н. (Москва, Россия)

**М. А. Лагарькова**, д. б. н., профессор, член-корр. РАН (Москва, Россия)

**Ю. В. Лобзин**, д. м. н., профессор, академик РАН (Санкт-Петербург, Россия)

**В. В. Никифоров**, д. м. н., профессор (Москва, Россия)

**В. Н. Олесова**, д. м. н., профессор (Москва, Россия)

**Р. В. Петров**, д. м. н., профессор, академик РАН (Москва, Россия)

**Б. А. Поляев**, д. м. н., профессор (Москва, Россия)

**А. С. Радилов**, д. м. н., профессор (Санкт-Петербург, Россия)

**В. Л. Рейнюк**, д. м. н., доцент (Москва, Россия)

**В. Р. Рембовский**, д. м. н., профессор (Санкт-Петербург, Россия)

**А. С. Самойлов**, д. м. н., профессор, член-корр. РАН (Москва, Россия)

**С. В. Сидоренко**, д. м. н., профессор, член-корр. РАН (Санкт-Петербург, Россия)

**В. И. Сергиенко**, д. м. н., профессор, член-корр. РАН (Москва, Россия)

**С. В. Сидоркевич**, д. м. н. (Москва, Россия)

**К. К. Стяжкин**, д. б. н., профессор (Москва, Россия)

**А. В. Троицкий**, д. м. н., профессор (Москва, Россия)

**А. Н. Усков**, д. м. н., доцент (Санкт-Петербург, Россия)

**И. Б. Ушаков**, д. м. н., профессор, академик РАН (Москва, Россия)

**М. Р. Хаитов**, д. м. н., профессор, член-корр. РАН (Москва, Россия)

**С. М. Юдин**, д. м. н., профессор (Москва, Россия)

## РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

**А. В. Аклев**, д. м. н., профессор (Челябинск, Россия)

**С. А. Аракелов**, к. б. н., профессор (Санкт-Петербург, Россия)

**В. П. Баклаушев**, д. м. н., профессор (Москва, Россия)

**М. О. Дегтева**, к. т. н. (Челябинск, Россия)

**Н. В. Ефименко**, д. м. н., профессор (Пятигорск, Россия)

**Е. В. Казакевич**, д. м. н., профессор (Архангельск, Россия)

**В. П. Катунцев**, д. м. н., профессор (Москва, Россия)

**В. А. Климанов**, д. ф.-м. н., профессор (Москва, Россия)

**Д. В. Клинов**, к. ф.-м. н. (Москва, Россия)

**Н. А. Кошурникова**, д. м. н., профессор (Озерск, Россия)

**И. П. Миннуллин**, д. м. н., профессор (Санкт-Петербург, Россия)

**И. Г. Мосягин**, д. м. н., профессор (Санкт-Петербург, Россия)

**О. М. Панасенко**, д. б. н., профессор, член-корр. РАН (Москва, Россия)

**В. А. Рогожников**, д. м. н. (Москва, Россия)

**С. А. Романов**, к. б. н. (Озерск, Россия)

**С. А. Сотниченко**, д. м. н. (Владивосток, Россия)

**Т. Г. Суранова**, к. м. н., доцент (Москва, Россия)

**Р. М. Тахауов**, д. м. н., профессор (Северск, Россия)

**Н. К. Шандала**, д. м. н., профессор (Москва, Россия)

**С. М. Шинкарев**, д. т. н. (Москва, Россия)

**Г. А. Шипулин**, к. м. н. (Москва, Россия)

**Т. В. Яковлева**, д. м. н. (Москва, Россия)

**ПОДАЧА РУКОПИСЕЙ** editor@fmba.press

**ПЕРЕПИСКА С РЕДАКЦИЕЙ** editor@fmba.press

**СОТРУДНИЧЕСТВО** manager@fmba.press

**АДРЕС РЕДАКЦИИ** Волоколамское шоссе, д. 30, стр. 1, г. Москва, 123182, Россия

Журнал включен в Scopus в 2022 г.

Журнал включен в РИНЦ, IF 2018: 0,570

Журнал включен в Перечень 31.01.2020 (№ 1292)

Здесь находится открытый архив журнала

Scopus®

НАУЧНАЯ ЭЛЕКТРОННАЯ  
БИБЛИОТЕКА  
LIBRARY.RU



ВЫСШАЯ  
АТТЕСТАЦИОННАЯ  
КОМИССИЯ (ВАК)

CYBERLENINKA

DOI выпуска: 10.47183/mes.2024-01

Свидетельство о регистрации средства массовой информации № ФС77-25124 от 27 июля 2006 года

Учредитель и издатель: Федеральное медико-биологическое агентство fmba.gov.ru

Журнал распространяется по лицензии Creative Commons Attribution 4.0 International www.creativecommons.org



Подписано в печать 31.03.2024

Тираж 500 экз. Отпечатано в типографии Print.Formula  
www.print-formula.ru

# EXTREME MEDICINE

SCIENTIFIC AND PRACTICAL REVIEWED JOURNAL OF FMBA OF RUSSIA

**EDITOR-IN-CHIEF** Veronika Skvortsova, DSc, professor, RAS corresponding member

**DEPUTY EDITOR-IN-CHIEF** Igor Berzin, DSc, professor;

Daria Kryuchko, DSc

**EDITORS** Vsevolod Belousov, DSc, professor, RAS corresponding member;

Anton Keskinov, PhD

**TECHNICAL EDITOR** Evgeny Lukyanov

**TRANSLATORS** Nadezda Tikhomirova, Vyacheslav Vityuk

**DESIGN AND LAYOUT** Marina Doronina

## EDITORIAL BOARD

Agapov VK, DSc, professor (Moscow, Russia)  
Bogomolov AV, DSc, professor (Moscow, Russia)  
Boyko AN, DSc, professor (Moscow, Russia)  
Bolekhan WN, DSc, docent (Moscow, Russia)  
Borisevich IV, DSc, professor (Moscow, Russia)  
Bushmanov AY, DSc, professor (Moscow, Russia)  
Valenta R, PhD, professor (Moscow, Russia)  
Voskanyan S, member of RAS, DSc, professor (Moscow, Russia)  
Daikhes NA, member of RAS, DSc, professor (Moscow, Russia)  
Dudarenko SV, DSc (Saint-Petersburg, Russia)  
Zykov KA, member of RAS, DSc, professor (Moscow, Russia)  
Ilyin LA, member of RAS, DSc, professor (Moscow, Russia)  
Karkischenko NN, member of RAS, DSc, professor (Moscow, Russia)  
Kaspranskiy RR, PhD (Moscow, Russia)  
Lagarkova MA, member of RAS, DSc, professor (Moscow, Russia)  
Lobzin YV, member of RAS, DSc, professor (Saint-Petersburg, Russia)  
Nikiforov VV, DSc, professor (Moscow, Russia)

Olesova VN, DSc, professor (Moscow, Russia)  
Petrov RV, member of RAS, DSc, professor (Moscow, Russia)  
Polyaev BA, DSc (Moscow, Russia)  
Sadilov AS, DSc, professor (Saint-Petersburg, Russia)  
Rejniuk VL, DSc, docent (Moscow, Russia)  
Rembovsky VR, DSc, professor (Saint-Petersburg, Russia)  
Samoilov AS, member of RAS, DSc, professor (Moscow, Russia)  
Sergienko VI, member of RAS, DSc, professor (Moscow, Russia)  
Sidorenko SV, member of RAS, DSc, professor (Saint-Petersburg, Russia)  
Sidorkevich SV, DSc (Moscow, Russia)  
Styazhkin KK, DSc, professor (Moscow, Russia)  
Troitsky AV, DSc, professor (Moscow, Russia)  
Uskov AN, DSc, docent (Saint-Petersburg, Russia)  
Ushakov IB, member of RAS, DSc, professor (Moscow, Russia)  
Khaitov MR, member of RAS, DSc, professor (Moscow, Russia)  
Yudin SM, DSc, professor (Moscow, Russia)

## ADVISORY BOARD

Akleev AV, DSc, professor (Chelyabinsk, Russia)  
Arakelov SA, PhD, professor (Saint-Petersburg, Russia)  
Baklaushev VP, DSc, professor (Moscow, Russia)  
Degteva MO, PhD (Chelyabinsk, Russia)  
Efimenko NV, DSc, professor (Pyatigorsk, Russia)  
Kazakevich EV, DSc, professor (Arkhangelsk, Russia)  
Katuntsev VP, DSc, professor (Moscow, Russia)  
Klimanov VA, DSc, professor (Moscow, Russia)  
Klinov DV, PhD (Moscow, Russia)  
Koshurnikova NA, DSc, professor (Ozersk, Russia)  
Minnullin IP, DSc, professor (Saint-Petersburg, Russia)

Mosyagin IG, DSc, professor (Saint-Petersburg, Russia)  
Panasenko OM, DSc, member of RAS, professor (Moscow, Russia)  
Rogozhnikov VA, DSc, (Moscow, Russia)  
Romanov SA, PhD (Ozersk, Russia)  
Sotnichenko SA, DSc (Vladivostok, Russia)  
Suranova TG, PhD, docent (Moscow, Russia)  
Takhauov RM, DSc, professor (Seversk, Russia)  
Shandala NK, DSc, professor (Moscow, Russia)  
Shinkarev SM, DSc (Moscow, Russia)  
Shipulin GA, PhD (Moscow, Russia)  
Yakovleva TV, DSc (Moscow, Russia)

**SUBMISSION** editor@fmba.press

**CORRESPONDENCE** editor@fmba.press

**COLLABORATION** manager@fmba.press

**ADDRESS** Volokolamskoe shosse, 30, str. 1, Moscow, 123182, Russia

Indexed in Scopus in 2022

Indexed in RSCI. IF 2018: 0,570

Listed in HAC 31.01.2020 (№ 1292)

Open access to archive

Scopus®

НАУЧНАЯ ЭЛЕКТРОННАЯ  
БИБЛИОТЕКА  
LIBRARY.RU



ВЫСШАЯ  
АТТЕСТАЦИОННАЯ  
КОМИССИЯ (ВАК)

CYBERLENINKA

Issue DOI: 10.47183/mes.2024-01

The mass media registration certificate № 25124 issued on July 27, 2006

Founder and publisher: Federal medical-biological agency fmba.gov.ru

The journal is distributed under the terms of Creative Commons Attribution 4.0 International License www.creativecommons.org



Approved for print 31.03.2024

Circulation: 500 copies. Printed by Print.Formula  
www.print-formula.ru

<b>ОБЗОР</b>	<b>5</b>
<b>Молекулярно-генетическое тестирование в контексте медико-биологических рисков здоровью космонавтов</b> К. В. Латарцев, Р. Р. Каспранский <b>Molecular genetic studies in the context of biomedical risks for cosmonauts' health</b> Latartsev KV, Kaspranskiy RR	
<b>ОБЗОР</b>	<b>13</b>
<b>Глобальные и национальные регистры доноров костного мозга: опыт использования, основные трудности и перспективы</b> О. В. Эйхлер, А. А. Миролубов, Д. Н. Нечаев, А. Г. Титова, Г. А. Трусов, В. В. Гарбуз, А. Н. Ломов, В. С. Юдин, А. А. Кескинов, С. А. Краевой <b>Global and national bone marrow registries: experience of using, main issues, and perspectives</b> Eichler OV, Miroliubov AA, Nechaev DN, Titova AG, Trusov GA, Garbuz VV, Lomov AN, Yudin VS, Keskinov AA, Kraevoy SA	
<b>ОБЗОР</b>	<b>23</b>
<b>Эссенциальный тремор: современный взгляд на проблему и новые возможности нейрохирургических методов лечения</b> Е. А. Катунина, Р. А. Грязнев, Н. Н. Шипилова, Д. А. Катунин, Е. А. Малыгина <b>Essential tremor: modern view of the problem and new neurosurgical treatment options</b> Katunina EA, Gryaznev RA, Shpilova NN, Katunin DA, Malykhina EA	
<b>ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ</b>	<b>32</b>
<b><i>In vitro</i> оценка иммуногенности хондроцитов, полученных из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток с нокаутом B2M</b> А. А. Баринава, А. С. Пикина, П. А. Голубинская, Е. С. Ручко, А. В. Еремеев <b><i>In vitro</i> assessment of immunogenicity in chondrocytes obtained from the B2M knockout induced pluripotent stem cells</b> Barinova AA, Pikina AS, Golubinskaya PA, Ruchko ES, Eremeev AV	
<b>ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ</b>	<b>43</b>
<b>Комбинированные матрицы и тканевые инженерные конструкции из биополимеров в реконструктивно-восстановительной хирургии ЛОР-органов</b> Н. А. Дайхес, Х. М. Диаб, Д. Н. Назарян, В. В. Виноградов, С. С. Решульский, А. С. Мачалов, С. Ш. Каршиева, С. В. Жирнов, Е. О. Осидак, А. В. Ковалев, Ю. Д. Хесуани <b>Combined matrices and tissue-engineered constructs made of biopolymers in reconstructive surgery of ENT organs</b> Daikhes NA, Diab KhM, Nazaryan DN, Vinogradov VV, Reshulskiy SS, Machalov AS, Karshieva SSh, Zhirnov SV, Osidak EO, Kovalev AV, Hesuani YuD	
<b>ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ</b>	<b>50</b>
<b>Связь гена <i>GSTP1</i> с функциональным состоянием почек у больных сахарным диабетом</b> Н. Я. Костюшок, С. В. Горнов, А. В. Сизов <b>Association of <i>GSTP1</i> gene with renal function in patients with diabetes mellitus</b> Kostyushok NYa, Gornov SV, Sizov AV	
<b>ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ</b>	<b>57</b>
<b>Влияние фоновой лимфопении на реактивность показателей неспецифического иммунитета в ответ на общее холодное воздействие</b> В. П. Патракеева, Е. В. Контиевская <b>The impact of background lymphopenia on the reactivity of nonspecific immunity in response to total body cold exposure</b> Patrakeeva VP, Kontievskaya EV	
<b>ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ</b>	<b>64</b>
<b>Антиоксидантные эффекты синтетического аналога тиронамина при экспериментальной ишемии головного мозга</b> Д. А. Филимонов, А. Б. Ереско, Е. В. Ракша, Н. Н. Трубникова, Р. В. Ищенко, Д. А. Терещенко, И. А. Кисиленко, И. Н. Носова <b>Antioxidant effects of the synthetic thyronamine analogue in experimental cerebral ischemia</b> Filimonov DA, Eresko AB, Raksha EV, Trubnikova NN, Ischenko RV, Tereschenko DA, Kisilenko IA, Nosova IN	
<b>ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ</b>	<b>72</b>
<b>Влияние систематической холодной нагрузки на спектральные характеристики тета- и альфа-ритмов ЭЭГ курсантов военного вуза</b> С. Н. Толстогузов, Т. А. Фишер, Ю. В. Найда, О. Н. Лепунова <b>Impact of persistent cold stress on spectral characteristics of EEG alpha and theta rhythms in military academy cadets</b> Tolstoguzov SN, Fisher TA, Naida YuV, Lepunova ON	

<b>ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ</b>	<b>81</b>
<hr/>	
<b>Взаимосвязь уровней гистамина, диаминооксидазы и субстанции P в сыворотке крови у пациентов с хронической крапивницей</b> Н. В. Микрюкова, Н. М. Калинина <b>Correlations between serum levels of histamine, diamine oxidase, substance P in patients with chronic urticaria</b> Mikryukova NV, Kalinina NM	
<b>ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ</b>	<b>86</b>
<hr/>	
<b>Лазеротерапия и разгрузочная лечебная гимнастика в лечении нарушений липидного обмена</b> А. А. Ачилов, А. В. Баранов, С. В. Горнов, Д. У. Усмонзода, Ш. А. Ачилова, М. Д. Пулатова, Ал. А. Ачилов, И. А. Мамедьярова, М. И. Лазечко <b>Laser therapy and unloading therapeutic gymnastics in the treatment of dyslipoproteinemia</b> Achilov AA, Baranov AV, Gornov SV, Usmonzoda DU, Achilova SA, Pulatova MD, Achilov AIA, Mamedyarova IA, Lazechko MI	
<b>ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ</b>	<b>93</b>
<hr/>	
<b>Результаты ультразвукового скрининга дисплазии тазобедренных суставов у детей грудного возраста</b> К. В. Митряшов, И. В. Митряшов <b>Results of ultrasound screening for hip dysplasia in infants</b> Mitryashov KV, Mitryashov IV	
<b>ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ</b>	<b>97</b>
<hr/>	
<b>Экспертная оценка требований для присвоения квалификационной категории врачам</b> В. М. Мишарин, А. В. Кочубей <b>Expert assessment of the requirements for assigning qualification grades to physicians</b> Misharin VM, Kochubey AV	
<b>ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ</b>	<b>101</b>
<hr/>	
<b>Оценка влияния ретроцереbellарных кист головного мозга на ликворную систему как критерий годности к летной работе</b> В. Г. Коломийцев, С. В. Горнов, В. В. Горнов, И. В. Бурова, Р. В. Еселевич, Е. А. Литвиненко, Р. А. Крупа, Д. В. Карпенко <b>Assessment of the impact of retrocerebellar cysts in the brain on the cerebrospinal fluid system as a criterion of fitness for flight</b> Kolomitsev VG, Gornov SV, Gornov VV, Burova IV, Eselevich RV, Litvinenko EA, Krupa RA, Karpenko DV	
<b>КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ</b>	<b>106</b>
<hr/>	
<b>Интракоронарное применение левокарнитина при стентировании коронарных артерий у пациентов высокого риска</b> Н. Ю. Семиголовский, М. Ф. Баллузек, А. Б. Гуслев, С. О. Мазуренко, А. В. Козаев, И. Г. Семёнова, Е. М. Никольская, А. Н. Щеглов <b>Intracoronary use of levocarnitine for coronary artery stent insertion in high-risk patients</b> Semigolovskii NYu, Balluzek MF, Guslev AB, Mazurenko SO, Kozhev AV, Semenova IG, Nikolskaya EM, Scheglov AN	
<b>КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ</b>	<b>112</b>
<hr/>	
<b>Клинические особенности затяжного течения кишечной инфекции, ассоциированной с <i>Klebsiella pneumoniae</i>, у ребенка грудного возраста</b> Н. В. Гончар, А. К. Коперсак, Н. В. Скрипченко, И. В. Раздьяконова, Ю. А. Подлипная <b>Clinical features of protracted intestinal infection associated with <i>Klebsiella pneumoniae</i> in an infant</b> Gonchar NV, Kopersak AK, Skripchenko NV, Razdyakonova IV, Podlipnaya YuA	

## МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ТЕСТИРОВАНИЕ В КОНТЕКСТЕ МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИХ РИСКОВ ЗДОРОВЬЮ КОСМОНАВТОВ

К. В. Латарцев<sup>1,2</sup>✉, Р. Р. Каспранский<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Федеральный научно-клинический центр космической медицины Федерального медико-биологического агентства, Москва, Россия

<sup>2</sup> Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова, Москва, Россия

Генетические исследования сегодня позволяют получить достаточно большое количество информации о человеке, на основе которой иногда возможно прогнозировать риски возникновения определенных заболеваний. Это дает основания полагать, что подобное тестирование можно применять и в области пилотируемых космических полетов с целью выявления кандидатов, наиболее приспособленных к специфическим рискам. В статье рассмотрены публикации, посвященные генетическим полиморфизмам и их влиянию на фенотип носителя, а именно на проявления, представляющие интерес в контексте рисков, возникающих во время длительных космических полетов. Перечислены конкретные гены и приведены примеры аллельных вариантов. Уделено также внимание публикациям, описывающим новые молекулярные методы наблюдения за здоровьем человека, определены биомаркеры, которые могут быть использованы для исследований в интересах регулярного обследования действующих космонавтов.

**Ключевые слова:** генетическая предрасположенность, молекулярные маркеры, риски длительных космических полетов, отбор космонавтов

**Финансирование:** обзор выполнен за счет средств, предоставленных для выполнения государственного задания «Изучение состояния здоровья космонавтов, завершивших летную деятельность» (шифр «Долголетие-3»).

**Вклад авторов:** К. В. Латарцев — поиск и анализ источников, написание текста, редактирование; Р. Р. Каспранский — разработка концепции, редактирование рукописи.

✉ **Для корреспонденции:** Константин Владимирович Латарцев  
ул. Щукинская, д. 5, стр. 4, г. Москва, 123182, Россия; k.latartsev@gmail.com

**Статья получена:** 16.11.2023 **Статья принята к печати:** 20.12.2023 **Опубликована онлайн:** 04.03.2024

**DOI:** 10.47183/mes.2024.002

## MOLECULAR GENETIC STUDIES IN THE CONTEXT OF BIOMEDICAL RISKS FOR COSMONAUTS' HEALTH

Latartsev KV<sup>1,2</sup>✉, Kaspranskiy RR<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Federal State Budgetary Institution "Federal Research and Clinic Center of Space Medicine" of the Federal Biomedical Agency

<sup>2</sup> Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

Today, genetic studies yield quite a large amount of information about a person, which, in many cases, allows predicting the risks of certain diseases. This gives grounds to believe that such testing can also be applied in the field of manned spaceflights in order to identify candidates best adapted to specific risks. The article examines publications on genetic polymorphisms and their effects on the carrier phenotype, namely, on such manifestations that are of interest in the context of risks arising during long-term space flights. Specific genes are listed and examples of allelic variants are given. Publications describing new molecular methods of monitoring human health are also considered, biomarkers that can be used for research in the interests of regular examination of active astronauts are identified.

**Keywords:** genetic predisposition, molecular markers, long-term spaceflight risks, cosmonaut selection

**Funding:** the study was supported by the RSF grant (project № 22-25-20145 "Exploring the Mechanisms Underlying the Effects of Tolerance to Food Antigens on the Glucose Utilization").

**Author contributions:** Latartsev KV — search and analysis of sources, article authoring, editing; Kaspranskiy RR — concept development, article editing.

✉ **Correspondence should be addressed:** Konstantin V. Latartsev  
Shchukinskaya, 5, str. 2, Moscow, 123182, Russia, k.latartsev@gmail.com

**Received:** 16.11.2023 **Accepted:** 20.12.2023 **Published online:** 04.03.2024

**DOI:** 10.47183/mes.2024.002

За последние годы методы лабораторной диагностики шагнули вперед и на сегодняшний день позволяют достаточно быстро проводить полногеномное секвенирование ДНК с последующим анализом полученных последовательностей. В теории, если знать, каким образом каждый из аллелей в генотипе влияет на фенотип организма по отдельности, а также в совокупности с другими аллелями, то можно прогнозировать множество важных показателей, таких как степень приспособленности к тем или иным условиям, степень предрасположенности к различным заболеваниям, а также реакцию организма на определенные воздействия. Интерес представляет исследование возможности отбора кандидатов, которые на основе данных генетического анализа будут определены как наиболее приспособленные к условиям космического полета и наименее подверженные рискам, возникающим в результате воздействия его факторов. Следовательно, для таких людей период профессионального долголетия может

быть заметно увеличен. Однако количество аллелей, роль которых в формировании фенотипа исследована, пока остается ограниченным, поэтому полные данные, которые дали бы исчерпывающее представление о характеристиках организма, на сегодняшний день получить практически невозможно. Несмотря на это, уже сейчас накоплено достаточно информации, на основе которой можно выбрать аллели, предположительно дающие преимущество в контексте устойчивости к классифицированным, а также иным факторам космического полета. Кроме того, известны гены, для которых влияние аллельных вариантов на фенотип пока не выяснено. Однако в будущем эта информация может оказаться актуальной, а значит, возможно дополнительное изучение данного вопроса. Были также рассмотрены публикации, в которых описаны молекулярные исследования, рекомендуемые нами для проведения до и после полета, а также на всем его протяжении, чтобы получать наиболее полную



информацию как о состоянии здоровья космонавта, так и о специфических процессах, происходящих в его организме.

При изучении аллельных вариантов различных генов было решено разделить их на группы в зависимости от рисков при длительных космических полетах, в контексте которых рассматриваемые полиморфизмы могут снижать, либо наоборот, увеличивать подверженность данным рискам. Для этого были изучены как литература отечественного происхождения, так и зарубежные источники, ссылки на которые в основном были взяты при анализе всех представленных на сайте Human research roadmap NASA (HRP NASA) документов, подтверждающих риск (Risk Evidence Documents). Как следствие, часть статей имеет возраст более 10 лет, несмотря на это, коллектив авторов посчитал нужным включить их в обзор. Кроме того, были использованы дополнительные источники литературы, что в итоге позволило выявить гены, вариации которых могут влиять на степень подверженности факторам космического полета будущих космонавтов, а, следовательно, и на их профессиональное долголетие.

### Генетические полиморфизмы в контексте рисков, возникающих при длительных космических полетах

В области оценки и смягчения риска неблагоприятных когнитивных или поведенческих состояний и психических расстройств в космическом полете были выявлены полиморфизмы в циркадных генах *CLOCK* и *NPAS2*, которые, как было показано, могут быть ответственны за нарушение сна [1, 2], что служит одним из дополнительных факторов развития депрессии. Был обнаружен значимый полиморфизм в промоторной области, связанной с транспортером серотонина (5-HTTLPR). Показано, что лица с S-аллелем имеют более высокий риск развития депрессии, когда сталкиваются с жизненными трудностями [3]. Аллельные вариации генов некоторых ионотропных каналов, таких как ионотропный глутаматный рецептор AMPA3 или АТФ-зависимый селективный кальциевый канал P2RX7, могут увеличивать риск возникновения суицидальных мыслей во время приема антидепрессантов и повышать уровни депрессии соответственно [4, 5]. Было также обнаружено, что ген метилентетрагидрофолатредуктазы, участвующей в метаболизме фолиевой кислоты, при определенном гаплотипе может положительно коррелировать с депрессивными состояниями [6].

В части, касающейся риска снижения производительности и появления неблагоприятных последствий для здоровья в результате недосыпания, циркадных нарушений и переутомления наиболее часто встречались полиморфизмы циркадных генов, таких как *CLOCK*, *NPAS2* и *PERIOD3*, в которых определенные вариации могут ассоциироваться с нарушениями сна, а также, в случае *PERIOD3*, способствовать дифференциальной нейроповеденческой уязвимости к острой тотальной депривации сна [7–10]. Было обнаружено, что фермент катехол-О-метилтрансфераза (COMT), модулирующий дофаминергический катаболизм в префронтальной коре, демонстрирует трех-четырёхкратное снижение активности при наличии замены Val158Met в аминокислотной последовательности, что приводит к большей доступности дофамина на рецепторах и более высокой концентрации кортикального дофамина. Этот полиморфизм COMT функционально предсказывает

менее эффективное функционирование префронтальной коры и плохие показатели рабочей памяти у здоровых испытуемых с высокоактивным аллелем Val [11]. Дополнительно, у людей с генотипом Met/Met наблюдают более быстрое снижение маркеров гомеостатического давления сна. В то же время все генотипы демонстрировали сопоставимое снижение когнитивной работоспособности и увеличение физиологической сонливости при хронической частичной депривации сна [9, 10]. С различными нарушениями связаны полиморфизмы в таких генах, как ген аденозиндезминазы (*ADA*), рецептора аденозина (*ADORA2A*), а также лейкоцитарного антигена человека (*DQB1*). Последний оказался тесно связан с нарколепсией, расстройством сна, характеризующимся чрезмерной дневной сонливостью, фрагментированным сном и укороченной задержкой быстрого сна. Носители полиморфизма *DQB1\*0602* гена *DQB1* демонстрируют более резкое снижение гомеостатического давления во время сна, в целом большую сонливость и утомляемость. Однако как носители, так и не носители данного аллеля демонстрировали сопоставимое снижение когнитивных способностей и увеличение физиологической сонливости при хронической частичной депривации сна. Ген аденозиндезминазы, как оказалось, связан с изменением длительности медленноволнового сна, способствуя межиндивидуальной вариабельности исходного уровня сна, а полиморфизм в гене рецептора аденозина — с объективными и субъективными различиями в воздействии кофеина на сон после острой тотальной депривации сна [9, 10].

Касательно оценки и смягчения риска, связанного с использованием неэффективных или токсичных лекарств во время длительного космического полета, наиболее важную роль играет статус метаболизатора, то есть скорость, с которой данный индивид может метаболизировать тот или иной лекарственный препарат. В зависимости от этого организму может потребоваться доза препарата, отличная от нормальной, причем как в меньшую, так и в большую сторону. Игнорирование особенностей метаболизма может увеличивать риск передозировок, либо наоборот, приводить к тому, что терапевтический уровень препарата не будет достигнут. Статус метаболизатора зависит от множества аллельных вариантов генов, которые кодируют ферменты, а также белки-переносчики, участвующие в метаболизме и выведении лекарственных средств.

Ключевую роль в процессах метаболизма лекарственных препаратов играют ферменты суперсемейства цитохромов P450, они присутствуют во многих тканях, но наиболее распространены в печени. Основные ферменты из данного суперсемейства — это белки CYP2D6, CYP2C19, CYP3A4. Они участвуют в переработке основной доли применяемых сегодня лекарственных препаратов, и для их генов найдены десятки аллелей, которые способны влиять на ферментативную кинетику, то есть скорость протекания химической реакции, результатом которой является расщепление либо модификация молекул лекарственных препаратов. Таким образом, диапазон скоростей работы изоформ ферментов может быть весьма широким, начиная с практически полной потери активности и заканчивая так называемыми «ультрабыстрыми» вариантами [12–15].

Поскольку в аптечке на американском сегменте Международной космической станции (МКС) есть два вида антидепрессантов, были также рассмотрены гаплотипы, влияющие на степень выраженности эффектов при

приеме данных препаратов. Так, исследователями было показано, что некоторые из аллельных вариантов последовательностей промотора гена белка-переносчика серотонина 5-HTTLPR и гена рецептора серотонина 5HT<sub>1A</sub> ассоциированы с лучшим ответом на антидепрессанты, некоторые же, наоборот, с худшей переносимостью препаратов [16, 17].

В области оценки и смягчения риска сердечно-сосудистых адаптаций были обнаружены значимые полиморфизмы, ассоциированные с различными сердечно-сосудистыми патологиями. Так, оказалось, что полиморфизм *C1561T* гена *GCP2* служит независимым фактором риска ишемической болезни сердца и вызывает увеличение вероятности развития данного заболевания в 2,71 раза, в то же время полиморфизм *C1420TT* гена *sSHMT* снижает риск практически вдвое [18]. Для гена метионинсинтазоредуктазы (*MTRR*) эта же группа ученых обнаружила ассоциацию одного из аллельных вариантов в гомозиготном состоянии с увеличением окислительного стресса, что также приводит к увеличению риска ишемической болезни сердца. Было показано общегеномное значимое взаимодействие полиморфизмов в локусах генов *HCN4* и *SLC28A1*, связанное с повышенным риском развития фибрилляции предсердий [19]. На риск развития сердечно-сосудистых патологий оказывает влияние и уровень холестерина липопротеинов низкой плотности, а также общий уровень холестерина. Группа ученых обнаружила, что изоформы аполипопротеина E (ApoE), белка, участвующего в метаболизме жиров в организме млекопитающих, ассоциированы с изменениями показателей холестерина в крови испытуемых, причем в зависимости от наличия тех или иных аллелей показатели были повышены или понижены относительно средних величин по популяции [20].

Затрагивая вопрос оценки и смягчения риска повышенного внутричерепного давления и нейроокулярного синдрома, связанных с космическим полетом, стоит упомянуть исследования, авторы которых опирались на данные о выявлении в крови у астронавтов, подверженных риску нейроокулярного синдрома, более высоких концентраций одноуглеродных метаболитов, таких, как, например, цистеин. Исходя из этого, ученые выдвинули предположение, что генетические вариации в генах одноуглеродного метаболизма могут способствовать восприимчивости астронавтов к офтальмологическим изменениям. В результате было обнаружено, что полиморфизмы генов *MTRR* и *SHMT1420* значительно влияют на то, в какой степени длительное пребывание на МКС будет воздействовать на состояние зрительного анализатора [21]. В другом исследовании были приведены данные, согласно которым носители полиморфизма *MTNFR677TT* в гене *MTNFR* чаще страдают от идиопатической внутренней гипертензии [22].

При поиске генетических вариантов, имеющих связь с риском радиационного канцерогенеза, удалось найти мутацию, которая встречается у 0,4% европейской популяции в гетерозиготном варианте. В данном случае речь идет о мутации в гене мутантного при атаксии-телеангиэктазии белка (*ATM*, серин/треониновая протеинкиназа, которая рекрутируется и активируется двунитевыми разрывами ДНК), при которой наблюдают статистически значимое превышение частоты рака молочной железы у женщин-гетерозиготных носителей мутации. Повышен также общий риск развития рака у носителей *ATM* по сравнению с общей популяцией, который

был несколько выше у женщин-носителей [23]. В целом, идея поиска гаплотипов, носители которых будут меньше подвержены риску возникновения злокачественных опухолей, на данный момент выглядит тяжело реализуемой в силу сложности и многофакторности заболеваний данного типа. Однако в будущем космонавтов начнут отправлять в долгосрочные экспедиции, в первую очередь марсианские, при которых риск возникновения и развития злокачественных опухолей будет значительно выше, чем сейчас. В связи с этим данные о предпочтительных гаплотипах могут оказаться чрезвычайно полезными, поэтому стоит продолжать поиски и в этом направлении.

Помимо перечисленных, также существуют неклассифицированные риски, которые, несмотря на это, стоит принять во внимание. Так, известны данные, согласно которым полиморфизмы в гене белка теплового шока *Hsp70* могут как предохранять носителя от потери слуха, вызванной продолжительным шумовым воздействием, так и повышать чувствительность носителя к данному фактору окружающей среды [24, 25]. Предположительно, белок теплового шока *Hsp70* может выделяться в том числе в ответ на воздействие громкого шума и предохранять волосковые клетки во внутреннем ухе от повреждения и последующей гибели, однако точный механизм защиты до сих пор неизвестен. Помимо шумового, в космосе присутствует радиационное воздействие, от которого, предположительно, могут в некоторой степени защищать определенные аллели гена аполипопротеина [26, 27], а также аллель *HLA-DRB1\*11* гена главного комплекса гистосовместимости [28].

Впрочем, существуют аллельные варианты генов, влияние которых на подверженность рискам, сопряженным с факторами космического полета, еще предстоит изучить. В их число входят различные замены в последовательности гена каталазы (*CAT*). Выявленные на данный момент полиморфизмы оказывали противоположный эффект в разных популяциях, однако они достоверно влияют на степень потери слуха [29]. Предстоит также исследовать гены, полиморфизмы в которых могут повлиять на предрасположенность человека к саркопении, в их число входят такие кандидаты, как *ACE*, *ACTN3*, *MSTN*, *CNTF*, *VDR*, *IGF1* [30]. Наконец, предстоит выявить связь между определенными гаплотипами различных генов и скоростью прогрессирования остеопороза у людей. В силу того, что остеопороз — чрезвычайно сложное с точки зрения количества включенных генов заболевание [31], до сих пор не удается выявить генетические варианты или их комбинации, которые достоверно бы снизили скорость потери костной массы при остеопорозе. Однако на данный момент найдены гены-кандидаты, которые можно исследовать, и этот список продолжает пополняться [32].

### **Биомаркеры, которые могут быть использованы для наблюдения за состоянием организма действующих космонавтов**

Помимо предложений по модификации процесса отбора космонавтов на основе их генотипа, также существует потребность в расширении способов мониторинга здоровья космонавтов с целью увеличения их профессионального долголетия. Далее будут приведены рассуждения, цель которых — представление биомаркеров. Их мониторинг позволит получать более полную информацию о состоянии здоровья космонавтов.

*Исследования теломер*

Предположительно, динамика длины теломер служит информативным биомаркером здоровья людей, в том числе космонавтов, поскольку отражает степень влияния воздействий, которым космонавт подвергается во время космического полета. Индивидуальные генетические особенности, пищевые, психологические и физические стрессовые воздействия, уникальные условия окружающей среды, такие как микрогравитация, космическая радиация, измененная атмосфера на космической станции, — все эти факторы оказывают влияние на космонавта, которое отражается в изменении длины его теломер.

Исследования показывают, что длина теломер, на которую способны влиять различные факторы образа жизни, может свидетельствовать о повышенных темпах старения и возникновения возрастных заболеваний и отрицательно коррелирует с возрастом. Экспрессия биомаркеров теломерной дисфункции и повреждения ДНК, таких как статмин (регулирует динамику микротрубочек, нарушения в его работе могут приводить к неконтролируемой сборке митотических веретен деления) и EF1-а (опосредует поступление аминокислот в рибосому), увеличивается с возрастом [33]. При длительном наблюдении (более 5 лет) было обнаружено, что люди с более короткими теломерами имеют достоверно более низкую выживаемость, что связано с повышенной частотой сердечно-сосудистых и инфекционных заболеваний [34]. Нестабильность ДНК, связанная с дисфункцией теломер (сильным укорочением) — раннее событие в онкогенезе. Было обнаружено, что у пациентов, страдающих раковыми заболеваниями, статистически значимо более короткие теломеры по сравнению с контрольной группой [35]. В целом на длину теломер влияет множество факторов, включая пол, факторы образа жизни, диету, психологический стресс, хронический стресс и болезни. Теломеры также отражают воздействие окружающей среды на организм, поскольку на их длину влияют загрязнение воздуха, ультрафиолетовое и ионизирующее излучение [36], более того, их принято считать отличительными признаками радиочувствительности [37]. Теломеры тяжело секвенировать короткими прочтениями из-за того, что они, по сути, представляют собой tandemные повторы, однако недавно стало возможно их секвенировать при помощи длинных прочтений, тем самым определяя их длину и локализацию неканонических повторов [38].

Исследования одиннадцати астронавтов показали, что их теломеры короче, а теломераза менее активна, чем у наземного контроля, как до, так и после космического полета, однако во время космического полета длина их теломер значительно возростала. Было также показано, что хронический окислительный стресс во время полета коррелирует с динамикой длины теломер. Концентрации воспалительных цитокинов (интерлейкинов, IL4, IL10, IL5, IL1a, IL2) и хемокинов (CCL5, CCL4, CXCL5), а также фактора роста эндотелия сосудов 1 (VEGF-1) сильно коррелировали с длинами теломер до, во время и после полета [39]. На протяжении всей годовой миссии на МКС в плазме крови космонавтов была повышена концентрация VEGF-1, что, вероятно, связано с увеличенной экспрессией индуцируемого гипоксией фактора альфа-1 (HIF-1a), который также участвует в повышенной регуляции и активации hTERT, каталитической субъединицы теломеразы человека [40], что может объяснять увеличение длины теломер во время космического полета.

*Исследования экзосом*

Экзосомы — внеклеточные везикулы, выделяемые клетками во внешнее межклеточное пространство и содержащие белки, РНК, пептиды и фрагменты ДНК (cell-free DNA). Количество внеклеточной ДНК — динамичный и весьма отзывчивый показатель, который может служить индикатором степени повреждений ДНК, роста опухолей, регуляторных изменений РНК, а также иммунного ответа при инфекциях [41].

Следует отметить, что cfDNA содержит следы нуклеосом, особенности которых позволяют отслеживать ткань происхождения cfDNA в норме и при заболеваниях посредством анализа ядерной архитектуры, структуры генов и экспрессии. В частности, позиционирование нуклеосом может указывать на следы связывания факторов транскрипции, промоторной активности и сплайсинга, в конечном счете информируя о процессах регуляции генов в ткани/клетке происхождения [42].

Было проведено исследование на монозиготных близнецах мужского пола, один из которых совершил полет на МКС длительностью 340 суток. Анализ cfDNA не показал достоверной разницы в концентрации и распределении длины ДНК между полетными и наземными образцами близнецов, а также контролем [41]. Однако в ходе исследования было обнаружено, что в крови астронавта на протяжении всего полета рос уровень внеклеточной митохондриальной ДНК. В ходе анализа экзосом, циркулирующих в плазме крови, также было обнаружено высокое содержание убиквитин-независимых протеасомных белков в образцах, полученных от совершившего полет близнеца. Помимо этого, маркер провоспалительных моноцитов CD14 был обнаружен в экзосомах полетных образцов, также содержащих белки бацигин и интегрин  $\beta 1$ , которые коррелируют с развитием раковых опухолей и воспалением и не были обнаружены в экзосомах контрольных образцов [43, 44]. Более того, внутри экзосом, полученных из плазмы крови близнеца, совершившего полет в космос, были выделены такие белки, как специфичный для мозга, ассоциированный с ингибитором ангиогенеза 1 белок 2 (BAIAP2) и специфичный для мозга, ассоциированный с ингибитором ангиогенеза 1 белок 2-подобный белок 1 (BAIAP2L1). Они не были обнаружены в контрольных образцах, содержавших большее количество белков, связанных с регуляцией апоптоза и биосинтезом АТФ. Через три года после полета субъекта исследования была обнаружена корреляция между содержанием 20S протеасом и концентрацией экзосом в плазме крови астронавта. Данный белок служит важным компонентом механизма деградации в условиях окисления, и при наличии окислительного стресса его количество может увеличиваться [45, 46]. Кроме того, увеличение количества 20S протеасом в экзосомах плазмы коррелирует с патологическими процессами, такими как канцерогенез, повреждение сосудов, вирусные инфекции и аутоиммунные заболевания. Анализ экзосом плазмы, выделенных после возвращения на Землю, выявил уникальные изменения у совершившего полет близнеца по сравнению с нелетавшим братом и здоровым контролем: резкое увеличение количества циркулирующих частиц, а также изменения типов содержащихся в них белков [41]. Поскольку большинство циркулирующих в плазме экзосом происходят из иммунных клеток, вполне вероятно, что эти изменения отражают иммунную дисфункцию, связанную с космическим полетом и



возвращением к гравитации. Авторы исследования предполагают, что попадание в периферическую кровь экзосом со специфичными для мозга белками может свидетельствовать о влиянии космического полета на плотные контакты в гематоэнцефалическом барьере, как это было ранее обнаружено для эпителиальных клеток кишечника [47].

#### Исследования клонального гемопоэза

Клональный гемопоэз — это процесс, при котором клетки, содержащие определенные мутации, размножаются быстрее остальных, вследствие чего повышается риск развития онкогематологии и сердечно-сосудистых заболеваний. В результате исследования астронавтов-близнецов в их крови были обнаружены гемопоэтические клоны, несущие мутации в генах *TET2* (катализирует превращение метилцитозина в 5-гидроксиметилцитозин) и *DNMT3A* (фермент, катализирующий перенос метильных групп к сайтам метилирования CpG в ДНК) [48]. Оба белка участвуют в эпигенетической регуляции, а мутации в их генах часто нарушают аминокислотную последовательность и наблюдаются при гематологических раковых заболеваниях [49]. Стоит отметить, что подобные мутации обычно возникают в пожилом возрасте, в то время как у исследуемых астронавтов они были обнаружены на два десятилетия раньше ожидаемого срока. Факторы, вызывающие раннее возникновение мутаций, доподлинно не известны, но, вероятно, они включают известные условия работы на МКС и космического полета. Отдельно стоит обратить внимание на тот факт, что у одного из близнецов на протяжении полета наблюдали признаки сосудистого ремоделирования сонной артерии. У данного астронавта была обнаружена мутация в *TET2*, гене, который (при мутации) также создает значительный риск развития сердечно-сосудистых заболеваний. Таким образом, мониторинг клонов клонального гемопоэза, наряду со всеми остальными параметрами здоровья, также может быть включен как часть общей оценки состояния здоровья космонавтов.

#### Исследования влияния космического полета на критически важные физиологические системы космонавтов

Для более полного молекулярного обследования космонавтов, разумеется, необходимо рассматривать как можно большее число информативных маркеров, которые позволили бы оценить состояние всех систем организма. Так, при поиске молекул-индикаторов состояния сердечно-сосудистой системы было обнаружено, что концентрация миелоидного белка нейтрофилов S100A9, играющего важную роль в регуляции провоспалительных реакций и иммунного ответа, повышена у космонавтов, причем данный белок рассматривают как новый предиктор инфаркта миокарда у пациентов с острым коронарным синдромом. Повышенный уровень гетеродимера S100A8/9 в плазме указывает на увеличенный риск развития сердечно-сосудистых заболеваний, также было показано, что уровни экспрессии S100A8/9 увеличиваются в атеросклеротических артериях человека. Предполагают, что белок S100A9 может сигнализировать о повреждении эндотелиальных клеток сосудистого монослоя и индуцировании провоспалительных реакций в эндотелиальных клетках, о которых также свидетельствует обнаружение в плазме крови белков, ассоциированных с

повреждениями сосудов и оказывающих протективный эффект по отношению к клеткам эндотелия [50, 51].

При изучении влияния космического полета на иммунную систему обнаруживают высокую вариабельность показателей, что указывает на индивидуальную предрасположенность к развитию иммунных сдвигов при воздействии на организм факторов космического полета. Несмотря на это, было отмечено снижение соотношения ИФН- $\gamma$ /ИЛ-10, влияющих на Th1 и Th2-клетки, нарушение соотношений которых может приводить к подавлению иммунного ответа. Отмечали также увеличение концентрации в крови космонавтов после полета белка HSP70, который массово экспрессируется при воздействии различных стрессовых факторов на организм и оказывает протективное действие на клетки моноцитарно-гранулоцитарного ряда [52, 53].

В процессе исследования ремоделирования костной ткани у космонавтов было выявлено, что наиболее чувствительные к микрогравитации испытуемые имеют повышенное содержание КФарт в крови и пониженное содержание остеопротегерина (OPG). По данным маркерам можно судить о степени костной резорбции: КФарт отражает активность остеокластов, а OPG — ингибитор остеокластогенеза [54].

Не меньший интерес представляют молекулярные маркеры, связанные с повреждением центральной нервной системы (ЦНС). Было показано влияние радиационного облучения на секрецию нейротрофинов, состав спинномозговой жидкости, а также метаболизм микроРНК, которые играют большую регуляторную роль в нервной системе. МикроРНК также содержатся в экзосомах, секретиремых астроцитами, что имеет важное значение в межклеточных взаимодействиях ЦНС [55].

#### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Резюмируя вышесказанное, считаем необходимым отметить, что приведенный перечень молекулярно-генетических маркеров не является, в силу постоянно проводимых исследований, полным. Однако он затрагивает наиболее важные и глубоко изученные участки генома, которые коррелируют с предрасположенностями человека к тем или иным заболеваниям, сопряженным с факторами космического полета, а также иные биологические маркеры, мониторинг которых позволил бы более детально оценивать состояние здоровья космонавтов. В дальнейшем, разумеется, появятся новые данные и перечень будет необходимо расширить. Возможно, когда-нибудь удастся сформулировать целые гаплотипы, наиболее подходящие для космических экспедиций, а с опорой на них можно будет обсуждать усовершенствование и самого процесса отбора кандидатов. Перечисленные рекомендации в первую очередь преследуют цель увеличить профессиональное долголетие космонавтов, и в будущем этот перечень будет увеличиваться. Стоит обратить внимание на то, что изучение данных вопросов — это важная задача в контексте стратегии и концепции развития космической отрасли России, которые включают создание технологического задела для осуществления межпланетных перелетов к Марсу и астероидам, что также подразумевает разработку системы оценки медицинских рисков для экипажа, методов и средств для их купирования. Значимость подобных исследований резко увеличивается, когда речь заходит о пилотируемых экспедициях в дальний космос, где сила и продолжительность воздействий

факторов космического полета увеличены относительно пребывания на низкой околоземной орбите. Таким образом, изучение поднятых вопросов представляет

собой перспективное направление, которое в дальнейшем станет намного более важным, поэтому основы для его формирования необходимо создавать уже сейчас.

## Литература

1. Germain A, Kupfer DJ. Circadian rhythm disturbances in depression. *Human Psychopharmacology: Clinical and Experimental*. 2008; 23 (7): 571–85.
2. Johansson C, et al. Circadian clock-related polymorphisms in seasonal affective disorder and their relevance to diurnal preference. *Neuropsychopharmacology*. 2003; 28 (4): 734–9.
3. Gotlib IH, et al. HPA axis reactivity: a mechanism underlying the associations among 5-HTTLPR, stress, and depression. *Biological psychiatry*. 2008; 63 (9): 847–51.
4. Laje G, et al. Genetic markers of suicidal ideation emerging during citalopram treatment of major depression. *American Journal of Psychiatry*. 2007; 164 (10): 1530–8.
5. Hejjas K, et al. Association between depression and the Gln460Arg polymorphism of P2RX7 gene: a dimensional approach. *American Journal of Medical Genetics Part B: Neuropsychiatric Genetics*. 2009; 150 (2): 295–9.
6. Teper E, O'Brien JT. Vascular factors and depression. *International Journal of Geriatric Psychiatry: A journal of the psychiatry of late life and allied sciences*. 2008; 23 (10): 993–1000.
7. Germain A, Kupfer DJ. Circadian rhythm disturbances in depression. *Human Psychopharmacology: Clinical and Experimental*. 2008; 23 (7): 571–85.
8. Johansson C, et al. Circadian clock-related polymorphisms in seasonal affective disorder and their relevance to diurnal preference. *Neuropsychopharmacology*. 2003; 28 (4): 734–9.
9. Goel N, Dinges DF. Predicting risk in space: genetic markers for differential vulnerability to sleep restriction. *Acta astronautica*. 2012; 77: 207–13.
10. Goel N, et al. Circadian rhythms, sleep deprivation, and human performance. *Progress in molecular biology and translational science*. 2013; 119: 155–90.
11. Dickinson D, Elvevåg B. Genes, cognition and brain through a COMT lens. *Neuroscience*. 2009; 164 (1): 72–87.
12. Gaedigk A. Complexities of CYP2D6 gene analysis and interpretation. *International review of psychiatry*. 2013; 25 (5): 534–53.
13. Rudberg I, et al. Impact of the ultrarapid CYP2C19\* 17 allele on serum concentration of escitalopram in psychiatric patients. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*. 2008; 83 (2): 322–7.
14. Werk AN, Cascorbi I. Functional gene variants of CYP3A. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*. 2014; 96 (3): 340–8.
15. Lee KC, Ma JD, Kuo GM. Pharmacogenomics: bridging the gap between science and practice. *Journal of the American Pharmacists Association*. 2010; 50 (1): e1–e17.
16. Lee SH, et al. Association between the 5-HT6 receptor C267T polymorphism and response to antidepressant treatment in major depressive disorder. *Psychiatry and clinical neurosciences*. 2005; 59 (2): 140–5.
17. Helton SG, Lohoff FW. Serotonin pathway polymorphisms and the treatment of major depressive disorder and anxiety disorders. *Pharmacogenomics*. 2015; 16 (5): 541–53.
18. Vijaya Lakshmi SV, et al. Oxidative stress is associated with genetic polymorphisms in one-carbon metabolism in coronary artery disease. *Cell biochemistry and biophysics*. 2013; 67: 353–61.
19. Lin H, et al. Gene-gene interaction analyses for atrial fibrillation. *Scientific reports*. 2016; 6 (1): 35371.
20. Eisenberg DTA, Kuzawa CW, Hayes MG. Worldwide allele frequencies of the human apolipoprotein E gene: climate, local adaptations, and evolutionary history. *American journal of physical anthropology*. 2010; 143 (1): 100–11.
21. Zwart SR, et al. Genotype, B-vitamin status, and androgens affect spaceflight-induced ophthalmic changes. *The FASEB Journal*. 2016; 30 (1): 141.
22. Glueck CJ, et al. Idiopathic intracranial hypertension, polycystic-ovary syndrome, and thrombophilia. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*. 2005; 145 (2): 72–82.
23. Thompson D, et al. Cancer risks and mortality in heterozygous ATM mutation carriers. *Journal of the National Cancer Institute*. 2005; 97 (11): 813–22.
24. Yang M, et al. Association of hsp70 polymorphisms with risk of noise-induced hearing loss in Chinese automobile workers. *Cell stress & chaperones*. 2006; 11 (3): 233.
25. Konings A, et al. Variations in HSP70 genes associated with noise-induced hearing loss in two independent populations. *European Journal of Human Genetics*. 2009; 17 (3): 329–35.
26. Villasana L, et al. Passive avoidance learning and memory of 56Fe sham-irradiated and irradiated human apoE transgenic mice. *Radiation Environment and Biophysics*. 2008; 48 (2): 167–70.
27. Liu CC, et al. Apolipoprotein E and Alzheimer disease: risk, mechanisms and therapy. *Nature Reviews Neurology*. 2013; 9 (2): 106–18.
28. Уткин К. В. и др. Установление генетических маркеров устойчивости и чувствительности человека к радиационному воздействию. *Иммунология*. 2013; 34 (2): 80–4.
29. Yuan J, et al. Advanced genetic approaches in discovery and characterization of genes involved with osteoporosis in mouse and human. *Frontiers in Genetics*. 2019; 10: 288.
30. Tan LJ, et al. Molecular genetic studies of gene identification for sarcopenia. *Human genetics*. 2012; 131: 1–31.
31. Ralston SH, Uitterlinden AG. Genetics of osteoporosis. *Endocrine reviews*. 2010; 31 (5): 629–62.
32. Judex S, et al. Genetic loci that control the loss and regain of trabecular bone during unloading and reambulation. *Journal of Bone and Mineral Research*. 2013; 28 (7): 1537–49.
33. Shammass MA. Telomeres, lifestyle, cancer, and aging. *Current opinion in clinical nutrition and metabolic care*. 2011; 14 (1): 28.
34. Cawthon RM, et al. Association between telomere length in blood and mortality in people aged 60 years or older. *The Lancet*. 2003; 361 (9355): 393–5.
35. Wu X, et al. Telomere dysfunction: a potential cancer predisposition factor. *Journal of the national cancer institute*. 2003; 95 (16): 1211–8.
36. Epel ES, et al. Accelerated telomere shortening in response to life stress. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2004; 101 (49): 17312–5.
37. Ayoub A, et al. Telomeres: hallmarks of radiosensitivity. *Biochimie*. 2008; 90 (1): 60–72.
38. Grigorev K, et al. Haplotype diversity and sequence heterogeneity of human telomeres. *Genome research*. 2021; 31 (7): 1269–79.
39. Luxton JJ, et al. Telomere length dynamics and DNA damage responses associated with long-duration spaceflight. *Cell Reports*. 2020; 33 (10).
40. Nishi H, et al. Hypoxia-inducible factor 1 mediates upregulation of telomerase (hTERT). *Molecular and cellular biology*. 2004; 24 (13): 6076–83.
41. Bezdán D, et al. Cell-free DNA (cfDNA) and exosome profiling from a year-long human spaceflight reveals circulating biomarkers. *Iscience*. 2020; 23 (12).
42. Snyder MW, et al. Cell-free DNA comprises an in vivo nucleosome footprint that informs its tissues-of-origin. *Cell*. 2016; 164 (1): 57–68.
43. Yoshioka Y, et al. Ultra-sensitive liquid biopsy of circulating extracellular vesicles using ExoScreen. *Nature communications*. 2014; 5 (1): 3591.
44. Hoshino A, et al. Tumour exosome integrins determine organotropic metastasis. *Nature*. 2015; 527 (7578): 329–35.
45. Kumar Deshmukh F, et al. The contribution of the 20S proteasome

- to proteostasis. *Biomolecules*. 2019; 9 (5): 190.
46. Кудряева А. А., Белогуров А. А. Протеасома: наномашинерия созидательного разрушения. *Биохимия*. 2019; 84: 159–92.
  47. Alvarez R, et al. A simulated microgravity environment causes a sustained defect in epithelial barrier function. *Scientific reports*. 2019; 9 (1): 17531.
  48. Mencia-Trinchant N, et al. Clonal hematopoiesis before, during, and after human spaceflight. *Cell reports*. 2020; 33 (10).
  49. Genovese G, et al. Clonal hematopoiesis and blood-cancer risk inferred from blood DNA sequence. *New England Journal of Medicine*. 2014; 371 (26): 2477–87.
  50. Пастушкова Л. Х. и др. Изменения протеома крови космонавтов с микро- и макрососудистыми травмами при перегрузках на заключительном этапе длительных космических полетов. *Авиакосмическая и экологическая медицина*. 2020; 54 (5): 5–14.
  51. Каширина Д. Н. и др. Изменение белкового состава плазмы космонавтов после космического полета и его значение для функций эндотелия. *Физиология человека*. 2019; 45 (1): 88–96.
  52. Морукон Б. В. и др. Показатели врожденного и адаптивного иммунитета у космонавтов после длительных космических полетов на Международной космической станции. *Физиология человека*. 2010; 36 (3): 19–30.
  53. Рыкова М. П. Иммунная система у российских космонавтов после орбитальных полетов. *Физиология человека*. 2013; 39 (5): 126–126.
  54. Новиков В. Е. и др. Минеральная плотность костной ткани и молекулярно-генетические маркеры ее ремоделирования в крови у космонавтов после длительных полетов на международной космической станции. *Физиология человека*. 2017; 43 (6): 88–94.
  55. Сапецкий А. О. и др. Радиационная нейробиология дальних космических полетов. *Успехи современной биологии*. 2017; 137 (2): 165–94.

## References

1. Germain A, Kupfer DJ. Circadian rhythm disturbances in depression. *Human Psychopharmacology: Clinical and Experimental*. 2008; 23 (7): 571–85.
2. Johansson C, et al. Circadian clock-related polymorphisms in seasonal affective disorder and their relevance to diurnal preference. *Neuropsychopharmacology*. 2003; 28 (4): 734–9.
3. Gotlib IH, et al. HPA axis reactivity: a mechanism underlying the associations among 5-HTTLPR, stress, and depression. *Biological psychiatry*. 2008; 63 (9): 847–51.
4. Laje G, et al. Genetic markers of suicidal ideation emerging during citalopram treatment of major depression. *American Journal of Psychiatry*. 2007; 164 (10): 1530–8.
5. Hejjas K, et al. Association between depression and the Gln460Arg polymorphism of P2RX7 gene: a dimensional approach. *American Journal of Medical Genetics Part B: Neuropsychiatric Genetics*. 2009; 150 (2): 295–9.
6. Teper E, O'Brien JT. Vascular factors and depression. *International Journal of Geriatric Psychiatry*: A journal of the psychiatry of late life and allied sciences. 2008; 23 (10): 993–1000.
7. Germain A, Kupfer DJ. Circadian rhythm disturbances in depression. *Human Psychopharmacology: Clinical and Experimental*. 2008; 23 (7): 571–85.
8. Johansson C, et al. Circadian clock-related polymorphisms in seasonal affective disorder and their relevance to diurnal preference. *Neuropsychopharmacology*. 2003; 28 (4): 734–9.
9. Goel N, Dinges DF. Predicting risk in space: genetic markers for differential vulnerability to sleep restriction. *Acta astronautica*. 2012; 77: 207–13.
10. Goel N, et al. Circadian rhythms, sleep deprivation, and human performance. *Progress in molecular biology and translational science*. 2013; 119: 155–90.
11. Dickinson D, Elvevåg B. Genes, cognition and brain through a COMT lens. *Neuroscience*. 2009; 164 (1): 72–87.
12. Gaedigk A. Complexities of CYP2D6 gene analysis and interpretation. *International review of psychiatry*. 2013; 25 (5): 534–53.
13. Rudberg I, et al. Impact of the ultrarapid CYP2C19\* 17 allele on serum concentration of escitalopram in psychiatric patients. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*. 2008; 83 (2): 322–7.
14. Werk AN, Cascorbi I. Functional gene variants of CYP3A. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*. 2014; 96 (3): 340–8.
15. Lee KC, Ma JD, Kuo GM. Pharmacogenomics: bridging the gap between science and practice. *Journal of the American Pharmacists Association*. 2010; 50 (1): e1–e17.
16. Lee SH, et al. Association between the 5-HT6 receptor C267T polymorphism and response to antidepressant treatment in major depressive disorder. *Psychiatry and clinical neurosciences*. 2005; 59 (2): 140–5.
17. Helton SG, Lohoff FW. Serotonin pathway polymorphisms and the treatment of major depressive disorder and anxiety disorders. *Pharmacogenomics*. 2015; 16 (5): 541–53.
18. Vijaya Lakshmi SV, et al. Oxidative stress is associated with genetic polymorphisms in one-carbon metabolism in coronary artery disease. *Cell biochemistry and biophysics*. 2013; 67: 353–61.
19. Lin H, et al. Gene-gene interaction analyses for atrial fibrillation. *Scientific reports*. 2016; 6 (1): 35371.
20. Eisenberg DTA, Kuzawa CW, Hayes MG. Worldwide allele frequencies of the human apolipoprotein E gene: climate, local adaptations, and evolutionary history. *American journal of physical anthropology*. 2010; 143 (1): 100–11.
21. Zwart SR, et al. Genotype, B-vitamin status, and androgens affect spaceflight-induced ophthalmic changes. *The FASEB Journal*. 2016; 30 (1): 141.
22. Glueck CJ, et al. Idiopathic intracranial hypertension, polycystic-ovary syndrome, and thrombophilia. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*. 2005; 145 (2): 72–82.
23. Thompson D, et al. Cancer risks and mortality in heterozygous ATM mutation carriers. *Journal of the National Cancer Institute*. 2005; 97 (11): 813–22.
24. Yang M, et al. Association of hsp70 polymorphisms with risk of noise-induced hearing loss in Chinese automobile workers. *Cell stress & chaperones*. 2006; 11 (3): 233.
25. Konings A, et al. Variations in HSP70 genes associated with noise-induced hearing loss in two independent populations. *European Journal of Human Genetics*. 2009; 17 (3): 329–35.
26. Villasana L, et al. Passive avoidance learning and memory of 56Fe sham-irradiated and irradiated human apoE transgenic mice. *Radiationnaia Biologiya, Radioecologia*. 2008; 48 (2): 167–70.
27. Liu CC, et al. Apolipoprotein E and Alzheimer disease: risk, mechanisms and therapy. *Nature Reviews Neurology*. 2013; 9 (2): 106–18.
28. Utkin KV, et al. Ustanovlenie geneticheskikh markerov ustoychivosti i chuvstvitel'nosti cheloveka k radiatsionnomu vozdeystviyu. *Immunologiya*. 2013; 34 (2): 80–4. Russian.
29. Yuan J, et al. Advanced genetic approaches in discovery and characterization of genes involved with osteoporosis in mouse and human. *Frontiers in Genetics*. 2019; 10: 288.
30. Tan LJ, et al. Molecular genetic studies of gene identification for sarcopenia. *Human genetics*. 2012; 131: 1–31.
31. Ralston SH, Uitterlinden AG. Genetics of osteoporosis. *Endocrine reviews*. 2010; 31 (5): 629–62.
32. Judex S, et al. Genetic loci that control the loss and regain of trabecular bone during unloading and reambulation. *Journal of Bone and Mineral Research*. 2013; 28 (7): 1537–49.
33. Shammass MA. Telomeres, lifestyle, cancer, and aging. *Current opinion in clinical nutrition and metabolic care*. 2011; 14 (1): 28.
34. Cawthon RM, et al. Association between telomere length in blood and mortality in people aged 60 years or older. *The Lancet*. 2003; 361 (9355): 393–5.
35. Wu X, et al. Telomere dysfunction: a potential cancer predisposition factor. *Journal of the national cancer institute*. 2003; 95 (16): 1211–8.

36. Epel ES, et al. Accelerated telomere shortening in response to life stress. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2004; 101 (49): 17312–5.
37. Ayoubz A, et al. Telomeres: hallmarks of radiosensitivity. *Biochimie*. 2008; 90 (1): 60–72.
38. Grigorev K, et al. Haplotype diversity and sequence heterogeneity of human telomeres. *Genome research*. 2021; 31 (7): 1269–79.
39. Luxton JJ, et al. Telomere length dynamics and DNA damage responses associated with long-duration spaceflight. *Cell Reports*. 2020; 33 (10).
40. Nishi H, et al. Hypoxia-inducible factor 1 mediates upregulation of telomerase (hTERT). *Molecular and cellular biology*. 2004; 24 (13): 6076–83.
41. Bezdán D, et al. Cell-free DNA (cfDNA) and exosome profiling from a year-long human spaceflight reveals circulating biomarkers. *Iscience*. 2020; 23 (12).
42. Snyder MW, et al. Cell-free DNA comprises an in vivo nucleosome footprint that informs its tissues-of-origin. *Cell*. 2016; 164 (1): 57–68.
43. Yoshioka Y, et al. Ultra-sensitive liquid biopsy of circulating extracellular vesicles using ExoScreen. *Nature communications*. 2014; 5 (1): 3591.
44. Hoshino A, et al. Tumour exosome integrins determine organotropic metastasis. *Nature*. 2015; 527 (7578): 329–35.
45. Kumar Deshmukh F, et al. The contribution of the 20S proteasome to proteostasis. *Biomolecules*. 2019; 9 (5): 190.
46. Kudriaeva AA, Belogurov AA. Proteasome: a Nanomachinery of Creative Destruction. *Biochemistry*. 2019; 84: 159–92. Russian.
47. Alvarez R, et al. A simulated microgravity environment causes a sustained defect in epithelial barrier function. *Scientific reports*. 2019; 9 (1): 17531.
48. Mencia-Trinchant N, et al. Clonal hematopoiesis before, during, and after human spaceflight. *Cell reports*. 2020; 33 (10).
49. Genovese G, et al. Clonal hematopoiesis and blood-cancer risk inferred from blood DNA sequence. *New England Journal of Medicine*. 2014; 371 (26): 2477–87.
50. Pastushkova LKh, et al. Changes in blood proteome of cosmonauts with microand macrovascular injuries due to g-loads at the final stage of long-duration space missions. *Aviakosmicheskaya i Ekologicheskaya Meditsina*. 2020; 54 (5): 5–14. Russian.
51. Kashirina DN, et al. Changes in the Plasma Protein Composition in Astronauts after Space Flight and its Significance for Endothelial Functions. *Human Physiology*. 2019; 45 (1): 88–96. Russian.
52. Morukov VB, et al. Indicators of innate and adaptive immunity of cosmonauts after long-term space flight to international space station. *Human Physiology*. 2010; 36 (3): 19–30. Russian.
53. Rykova MP. Immune system in Russian cosmonauts after orbital space flights. *Human Physiology*. 2013; 39 (5): 126–126. Russian.
54. Novikov VE, et al. Mineral'naya plotnost' kostnoy tkani i molekulyarno-geneticheskie markery ee remodelirovaniya v krovi u kosmonavtov posle dlitel'nykh poletov na mezhdunarodnoy kosmicheskoy stantsii. *Human Physiology*. 2017; 43 (6): 88–94. Russian.
55. Sapetsky AO, et al. Radiation neurobiology of long-term space flights. *Biology Bulletin Reviews*. 2017; 137 (2): 165–94. Russian.



## ГЛОБАЛЬНЫЕ И НАЦИОНАЛЬНЫЕ РЕГИСТРЫ ДОНОРОВ КОСТНОГО МОЗГА: ОПЫТ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ, ОСНОВНЫЕ ТРУДНОСТИ И ПЕРСПЕКТИВЫ

О. В. Эйхлер<sup>1</sup>, А. А. Миролюбов<sup>2</sup> ✉, Д. Н. Нечаев<sup>2</sup>, А. Г. Титова<sup>2</sup>, Г. А. Трусов<sup>2</sup>, В. В. Гарбуз<sup>2</sup>, А. Н. Ломов<sup>2</sup>, В. С. Юдин<sup>2</sup>, А. А. Кескинов<sup>2</sup>, С. А. Краевой<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Федеральное медико-биологическое агентство, Москва, Россия

<sup>2</sup> Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью Федерального медико-биологического агентства, Москва, Россия

В статье обобщен ряд представленных в зарубежной литературе сведений, касающихся общих организационно-методических аспектов функционирования регистров доноров костного мозга и гемопоэтических стволовых клеток, проблематики HLA-типирования, технических алгоритмов ранжирования степени совместимости. Описаны изменения мотивационной сферы граждан в ответ на программы популяризации донорства костного мозга, особенности организации рекрутинга, подходы к определению требований к численности регистра с учетом многонациональности и неоднородности этнического состава и алгоритмы их статистической аппроксимации. Кроме того, уделено внимание так называемым специальным организационно-методическим аспектам функционирования регистров и биобанков костного мозга и гемопоэтических стволовых клеток. Последнее важно с точки зрения обеспечения национальной безопасности, адаптации населения к последствиям катастроф, чрезвычайных происшествий и террористических акций, сопровождающихся развитием у большого числа пострадавших костномозговой формы лучевой болезни.

**Ключевые слова:** регистр, костный мозг, HLA, доноры, типирование, рекрутинг доноров, трансплантации, лучевая болезнь, NMDP, WMDA

**Вклад авторов:** О. В. Эйхлер — разработка концепции, написание статьи; А. А. Миролюбов — анализ литературы, написание разделов по специальным регламентам функционирования регистров в условиях возникновения ядерной угрозы, методам поиска начальных источников финансирования национального регистра США; Д. Н. Нечаев — анализ и обобщение количественных показателей работы регистров, оценка мнений зарубежных авторов по проблемам биобанкирования костного мозга и стволовых гемопоэтических клеток; А. Г. Титова — сбор и оценка количественной информации о работе зарубежных регистров; Г. А. Трусов — оценка полноты предоставляемых сведений, помощь в разработке методологии написания статьи; В. В. Гарбуз — анализ принципов построения и работы специальных регламентов функционирования зарубежных регистров доноров костного мозга; А. Н. Ломов — анализ методов и технологий информатизации зарубежных регистров доноров костного мозга; В. С. Юдин — редактирование статьи; А. А. Кескинов — разработка материалов по биоинформатическим методам, применяемым для генотипирования донорского состава зарубежных регистров, редактирование статьи; С. А. Краевой — разработка материалов по организационно-юридическим аспектам функционирования зарубежных регистров доноров костного мозга и гемопоэтических стволовых клеток.

✉ **Для корреспонденции:** Александр Александрович Миролюбов  
ул. Погодинская, д. 10, стр. 1, г. Москва, 119121, Россия; AMiroliubov@cspfmba.ru

**Статья получена:** 18.12.2023 **Статья принята к печати:** 05.03.2024 **Опубликована онлайн:** 28.03.2024

DOI: 10.47183/mes.2024.011

## GLOBAL AND NATIONAL BONE MARROW REGISTRIES: EXPERIENCE OF USING, MAIN ISSUES, AND PERSPECTIVES

Eichler OV<sup>1</sup>, Mirolubov AA<sup>2</sup> ✉, Nechaev DN<sup>2</sup>, Titova AG<sup>2</sup>, Trusov GA<sup>2</sup>, Garbuz VV<sup>2</sup>, Lomov AN<sup>2</sup>, Yudin VS<sup>2</sup>, Keskinov AA<sup>2</sup>, Kraevoy SA<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Federal Medical Biological Agency, Moscow, Russia

<sup>2</sup> Centre for Strategic Planning and Management of Biomedical Health Risks of the Federal Medical Biological Agency, Moscow, Russia

The paper provides the summary of foreign literature data on the organizational and methodological aspects of functioning of the bone marrow and hematopoietic stem cell donor registries, the issues of HLA typing, the technical algorithms for compatibility degree ranking. The changes in the citizens' motivations in response to the bone marrow donating program popularization are described, along with the features of arranging recruitment, approaches to determining the requirements for the registry population considering the multinationality and heterogeneity of ethnic composition, and the statistical approximation algorithms. Furthermore, attention is paid to the so-called specific aspects of the functioning of bone marrow and hematopoietic stem cell registries and biobanks. The latter is important in terms of ensuring national security, adaptation of the population to the effects of the disasters, emergencies, and terrorist attacks associated with the development of bone marrow syndrome in a large number of victims.

**Keywords:** registry, bone marrow, HLA, donors, typing, donor recruitment, transplants, acute radiation syndrome, NMDP, WMDA

**Author contribution:** Eichler OV — developing the concept, manuscript writing; Mirolubov AA — analysis of foreign information field on the subject of the article, writing sections about specific procedures of the register functioning under conditions of nuclear threat, methods to search for initial financing resources for the US national registry; Nechaev DN — analysis and synthesis of the quantitative registry performance indicators, estimating the opinions of foreign authors about the issues related to the bone marrow and hematopoietic stem cell biobanking; Titova AG — acquisition and assessment of quantitative data about the foreign registry performance; Trusov GA — estimation of the provided data integrity, assistance in developing the manuscript writing method; Garbuz VV — analysis of the building principles and performance of specific procedures of foreign bone marrow donor registry functioning; Lomov AN — analysis of methods and technologies for informatization of the foreign registries of bone marrow donors; Yudin VS — manuscript editing; Keskinov AA — developing materials on the bioinformatics methods used for genotyping of donors from foreign registries, manuscript editing; Kraevoy SA — developing materials on the organizational and legal aspects of functioning of the foreign registries of bone marrow and stem cell donors.

✉ **Correspondence should be addressed:** Alexander A. Mirolubov  
Pogodinskaya, 10, st. 1, Moscow, 119121, Russia; AMiroliubov@cspfmba.ru

**Received:** 18.12.2023 **Accepted:** 05.03.2024 **Published online:** 28.03.2024

DOI: 10.47183/mes.2024.011



На сегодняшний день в мировой практике здравоохранения накоплен обширный опыт применения систем сбора и обработки информации, позволяющих облегчить процесс нахождения HLA-совместимого биоматериала для трансплантаций. К данной технологической категории относятся в том числе и регистры доноров костного мозга (КМ) и гемопоэтических стволовых клеток (ГСК), призванные радикальным образом увеличить доступность соответствующих трансплантатов для пациентов с широким спектром нозологических форм, связанных с нарушениями системы кроветворения.

В условиях постоянного увеличения разнообразия зарегистрированных HLA-ассоциированных аллелей потенциальных доноров достигается увеличение вероятности подбора совместимого донора, что может существенным образом улучшить клинические результаты трансплантаций.

Хотя регистры доноров костного мозга появлялись в разных странах не одновременно, можно с достаточной степенью уверенности заявлять о том, что в текущий момент накоплен 40-летний опыт их практического использования в масштабах всей планеты. Багаж знаний, наработок и различных методических подходов, накопленный за столь внушительный период времени, может оказаться востребованным отечественной медициной с учетом того факта, что в 2022 г. в РФ начат проект по созданию Федерального регистра доноров КМ и ГСК. Цель работы — обобщение ряда представленных в мировой литературе сведений, касающихся организационно-методических аспектов функционирования регистров, проблемы HLA-типирования, а также их связи со сферой национальной безопасности. Отдельная техническая информация по арсеналу программных и аппаратных средств мировых регистров имеет ценность с точки зрения определения текущей конкурентной позиции нашего государства в области информационно-технологической поддержки трансплантаций костного мозга и очерчивания ориентиров инновационного развития.

### **Организационно-методическая составляющая работы зарубежных регистров**

Регистр доноров костного мозга представляет собой многоуровневую сложно организованную иерархичную систему взаимодействия электронно-вычислительных алгоритмов, баз данных и потоков информации от пользовательских автоматизированных рабочих мест. Применение данных систем обеспечивает координированную работу разнопрофильных медицинских организаций, существенная доля которых оказывает высокоспециализированные виды медицинской помощи и осуществляет высокотехнологичную диагностику. Значительная доля вопросов, связанных с работой такого рода регистров, напрямую касается медико-биологических проблем в области гематологии, трансфузиологии, трансплантологии, иммунологии, биотехнологических особенностей определения полинуклеотидных последовательностей и пр. Однако, сколь совершенно ни были бы решены все вопросы специализированного медицинского содержания, ключевой проблемой всегда является доступность достаточного количества качественного донорского материала, обладающего целевыми свойствами и наличие возможности его незамедлительного использования для трансплантации. Решение такого рода проблемы упирается в необходимость

формулировки и последующей проработки задач организационно-методического характера, подразумевающих накопление достаточного количества разнообразных по HLA-фенотипу доноров и обеспечение максимально эффективной подготовки биоматериала для своевременной трансплантации.

### *Проблемы формирования и пополнения пула доноров. Роль мотивации*

Действительно, одной из наиболее значимых и фундаментальных проблем любого регистра выступает проблема мотивации и пополнения донорского состава. Причина заключается в том, что донорство костного мозга сопряжено с несколькими факторами, которые, на первый взгляд, служат труднопреодолимым препятствием для вовлечения значительного числа людей в данный вид добровольной медицинской активности. Во-первых, донацию осуществляют безвозмездно. Здесь следует оговориться, что, хотя проблему коммерциализации медицинских трансплантаций в глобальном масштабе не следует полностью обходить вниманием, важнейшие национальные регистры, формирующие основу мировой медицинской кооперации в данной сфере, работают исключительно на безвозмездной основе. Во-вторых, донация сопряжена с дискомфортом и болевыми ощущениями, даже при том или ином виде анестезии. В-третьих, отсутствуют близкие родственные, дружеские либо даже просто социальные контакты донора с потенциальным реципиентом. Согласно данным американских авторов, первоначальные попытки создателей National Marrow Donor Program (NMDP) заручиться надежными источниками финансирования широкой пропаганды донорства костного мозга натолкнулись на серьезное сопротивление, которое во многом основывалось на приведенной выше аргументации. Однако в 1991 г., после выделения NMDP существенных федеральных средств, первоначальный скепсис быстро развеялся: всего за 2 года донорский состав регистра возрос с 250 000 до 1 млн, а к 2006 г. стал насчитывать более 6 млн граждан. Факт успешной консолидации общественного мнения вокруг ценного «альтруистического» ресурса привел к необходимости повышения отдачи, так как, по приблизительным оценкам, лишь менее 5% привлеченных в регистр потенциальных доноров будут реально активированы [1]. В связи с этим предлагали активно привлекать зарегистрировавшихся граждан к набору доноров (по аналогии с сетевым маркетингом MLM), участию в иных медицинских и общественно-оздоровительных инициативах и даже к прямой их материальной поддержке. Критика подобного рода инициатив нивелировалась тем фактом, что участники регистра, первоначально привлеченные в рамках запроса на единичную донацию костного мозга, впоследствии соглашались осуществить ее повторно и, кроме того, поучаствовать в другом перспективном направлении пополнения пула донорского трансплантационного материала — аферезе ГСК, связанном с совершенно иными медицинскими манипуляциями (инъекции фармакологических препаратов с последующей длительной катетеризацией периферической вены для забора и реинфузии крови) [1].

Несмотря на быстрый количественный рост регистра NMDP и отсутствие единого мнения относительно методики определения необходимой численности

доноров в нем, важность разнообразных шагов и инициатив по ежегодному привлечению новых участников подчеркивают американские специалисты, в том числе и по причине наличия проблемы «естественной убыли» количественного состава доноров NMDP, происходящей по достижении 61-летнего порога, а также по причине обратной корреляции между сроком пребывания донора в регистре и вероятностью его успешной активации. Исходя из накопленного опыта, критическим с точки зрения резкого возрастания вероятности отказа от активации донора был определен четырехлетний порог пребывания в регистре [2], а из относительно ранних отчетов NMDP следует, что примерно 30% зарегистрированных доноров из числа совпадающих с реципиентами по параметрам HLA оказываются недоступными на момент активации [3]. При этом по состоянию на 2006 г. доля состоящих в регистре NMDP европеоидных реципиентов, для которых HLA-совместимый донор вообще отсутствует, составляла 25% [1].

Среди основных препятствий для увеличения количества участников регистра отмечают высокую потребность в финансировании: добавление каждых 100 000 доноров в регистр сопряжено с дополнительным расходованием денежных средств в эквиваленте до 10 млн долларов [4]. Для более наглядной иллюстрации масштабных изменений, сопряженных с кратным ростом числа доноров в регистре, уместно упомянуть о том, что на заре своего создания NMDP насчитывал всего 200 000 доноров и одного постоянно занятого сотрудника, а по состоянию на 2008 г., когда количество доноров достигло семимиллионной отметки, — более 600, при этом размер занимаемых офисных площадей вырос до 160 000 м<sup>2</sup> [5].

В связи с проблемой высокой ресурсоемкости работ по созданию подобных регистров указывают на необходимость частичного перераспределения материального бремени с государства на частные организации, занимающиеся благотворительной деятельностью, и предлагают проработку мер по снижению себестоимости наполнения базы данных донорского состава регистра. В числе потенциально полезных мер отмечают переход на взятие биообразцов буккального эпителия (метод введен в практику NMDP в 2006 г. [6]), снижение затрат на HLA-типирование и повышение интенсивности и эффективности работы рекрутинговых центров [1].

Последняя из перечисленных мер прорабатывается зарубежными авторами как с фундаментальной точки зрения, предусматривающей анализ мотивационно-психологических особенностей воздействия на будущего донора, так и с чисто организационно-методической, сводящейся к описанию особенностей отбора и последующей профессиональной подготовки рекрутирующего персонала. В рамках первого подхода целесообразно отметить работы по исследованию мотиваций к вступлению в регистр. Было установлено, что целевые установки и поведенческие модулы потенциальных доноров представляют собой сложный комплексный феномен, причем среди факторов, способствующих принятию положительного решения, отмечают наличие альтруистических личностных черт и социальной ответственности, а среди противоположных характеристик — опасливого отношения к медицинской системе и приверженности религиозным ценностям ориентирам [7–9].

При этом проведение информационно-образовательных мероприятий и внедрение программ популяризации

расценивают в качестве действенного способа преодоления препятствующих донорам психосоциальных особенностей [10–12].

В данном контексте большое значение имеют работы по установлению оптимальной методологии социальной коммуникации. Так, результаты экспериментального сравнения эффективности рациональной аргументации и эмоционально-ориентированного вовлечения в социорекламные рассказы о трансплантациях показали, что акцент на сентиментальную составляющую способен в большей степени увеличить как вероятность регистрации в NMDP, так и вероятность распространения новым потенциальным донором соответствующей информации среди членов своей семьи и близких знакомых [13].

Практика ускоренного набора донорского состава чилийского отделения регистра международного регистра DKMS состоит в одновременном использовании всего спектра онлайн- и оффлайн-каналов социальной коммуникации, включая официальный интернет-сайт, информационные каналы социальных сетей, телевидение, радио, прессу, а также новостные интернет-ресурсы. При этом основной акцент делался на серии разовых акций, ориентированных на помощь конкретному пациенту, нуждающемуся в неродственной трансплантации. Такого рода акции обычно длились один-два дня, в ходе которых при участии родителей и друзей пациента в местных школах, спортивных секциях или общественных центрах происходила регистрация лиц, готовых осуществить донацию костного мозга. По состоянию на 2022 г. всего было организовано 695 подобного рода акций (из них 303 в 2022 г.). Наиболее успешным оффлайн-мероприятием была трехдневная акция, организованная в городах Сантьяго и Темуко, в ходе которой удалось набрать более 6300 потенциальных доноров в интересах девятилетней страдающей лейкемией пациентки. С момента своего официального образования в феврале 2018 г. регистру удалось рекрутировать порядка 170 000 лиц, готовых осуществить донацию [14].

Методический арсенал рекрутинга в индийском регистре доноров костного мозга Genebandhu, осуществляющем набор в основном из северных штатов, отличался существенно меньшим разнообразием и полнотой: применяли практику мотивирующих выступлений перед аудиториями, прямых индивидуальнориентированных убеждений и вывешивание баннеров и постеров. При этом в период с 2012 по 2018 г. удалось рекрутировать 7682 потенциальных донора [15].

Опыт организации рекрутинга одного из российских локальных регистров доноров костного мозга РМНПЦ «Росплазма» говорит об опоре на существующую сеть плазмоцентров и о проведении массовых акций в учебных заведениях [16].

Исследования наиболее частых причин выбывания из регистра NMDP и неподтверждения ранее задекларированного согласия при запросе на трансплантацию выявили превалирование таких обстоятельств, как изменение состояния здоровья, обнаружение факта неадекватного клинического обследования при первичном рекрутировании, неправильную регистрацию контактных данных, неполное информирование о предстоящих процедурах и возможных осложнениях и пр. [17]. По мнению некоторых авторов, также к разряду негативно влияющих относятся такие факторы, как вступление в регистр совместно с лицом, осуществляющим донацию для какого-либо одного

определенного пациента (как правило, родственника), и принятие решения в силу соображений этнического характера [3]. К типовым причинам невозможности активации потенциальных доноров канадского регистра относятся безуспешность попыток выйти на связь по зарегистрированным контактными данным, невозможность осуществить донацию по причинам личного характера, включая помехи работе и образованию, потерю мотивированности, при этом в 1,8% случаев опрашиваемые регистранты затруднились назвать причину отказа [18].

Что касается особенностей отбора и последующей профессиональной подготовки рекрутирующего персонала, то, согласно рекомендациям World Marrow Donor Association (WMDA), такого рода специалистами целесообразно разбить на три категории по возрастанию уровня компетенции: руководители групп, профессиональные и добровольческие рекрутеры. Среди навыков и характерологических особенностей, необходимых для всех без исключения категорий, отмечают способность выстраивать эффективную коммуникацию, направленную на мотивацию вступления в ряды доноров костного мозга, возможность поддерживать и развивать контакты с различными категориями специалистов и лиц добровольческого состава регистра, личностную эмпатию и высокую мотивированность. Примечателен также тот факт, что, согласно указанному документу WMDA, важной чертой профессионального рекрутера регистра служит такое редкое качество, как эффективность функционирования в мультидисциплинарной среде.

Среди рутинных функциональных обязанностей рассматриваемых специалистов особо выделяют оценку доступности донора для активации, а среди наиболее критичных знаний — аргументы в пользу важности донорской миссии для спасения жизни, критерии валидности доноров и правила работы с конфиденциальной информацией [19].

#### *Алгоритмы поиска и вероятность нахождения совместимого донора*

Другим важным аспектом организационно-методической составляющей работы регистра выступает своевременность доведения донорского материала до трансплантации, так как временной ресурс, отпущенный на поисковые, транспортировочные, диагностические, юридические, финансовые и прочие мероприятия, предшествующие завершающему этапу лечения несостоятельности системы кроветворения, как правило, бывает крайне ограничен. Практика работы NMDP указывает на неполную унификацию алгоритмов поиска и сильную зависимость последних от мнения специалистов врачебного и координационного состава регистра. Согласно проведенным статистическим исследованиям, наибольшей популярностью пользуется подход, при котором первоначальный этап поиска направляется аппаратным алгоритмом (применение электронно-вычислительной системы для формирования наиболее перспективных пар донор-реципиент), но финальный выбор осуществляют лечащие врачи пациента. Вторым по значимости подходом выступает заседание комиссий и круглых столов (собрания специалистов предположительно с различными вариантами регламента принятия решения), а преимущественная опора на аппаратный алгоритм — лишь третьим. Наиболее часто используемые поисковые информационные ресурсы (в порядке убывания популярности) — это Traxis,

NMDP search strategy advice/HLA consultation, HapLogic donor and CBU match prediction. Среди основных мер, направленных на повышение эффективности поисковых мероприятий в интересах конкретного пациента в условиях сжатых временных рамок, упоминают (в порядке убывания популярности): параллельную активацию и ведение нескольких доноров, расстановку приоритетов при обследовании доноров координатором центра трансплантации, ведение донора к трансплантации параллельно с процессом подтверждающего типирования и ограничение поискового пула теми донорами, последний контакт с которыми был произведен недавно.

В случае невозможности нахождения 8/8 HLA-совместимых (совпадение по четырем наиболее значимым HLA-ассоциированным нуклеотидным последовательностям обеих шестых хромосом) доноров применяют (в порядке убывания популярности) стратегии, связанные с поиском гаплоидентичных доноров, подбором пуповинной крови либо даже активацию частично несовместимого 7/8 HLA-донора.

Применение всей совокупности перечисленных выше мер приводит к тому, что в настоящее время невозможность найти подходящего донора не представляет собой наиболее значимое препятствие к своевременному осуществлению трансплантации. Гораздо более существенными факторами служат неспособность стороннего регистра уложиться в сроки забора биоматериала, проблемы с получением результатов типирования и проблемы страхового характера [20].

Несмотря на совершенство и разнообразие алгоритмов поиска совместимых доноров и устойчивую тенденцию к росту численности мировых регистров, проблема их наполненности стоит особенно остро в условиях многонациональных и этнически разнообразных государств, где редкие вариации HLA-фенотипов составляют значительную часть общего пула и оказываются ассоциированы с замкнутыми популяциями.

Ярким обратным примером здесь может служить такая страна с низким HLA-разнообразием, как Япония, где после достижения трехсоттысячной отметки наполненности пула потенциальных доноров Japan Marrow Donor Program (JMDP) вероятность совпадения по антигенам A, B, C и DR приблизительно равна 95% [21].

В Саудовской Аравии вероятность нахождения 10/10 совместимого (совпадение по 5 наиболее значимым HLA-ассоциированным нуклеотидным последовательностям обеих шестых хромосом) донора ГСК при условии наличия миллионного пула доноров в регистре будет составлять примерно 50% [22].

Несколько отличную ситуацию наблюдают в случае Израиля, где степень этнического и субэтнического разнообразия оказывает существенное влияние на вероятность нахождения доноров с высокой степенью совместимости. По состоянию на 2017 г. данный показатель, согласно результатам применения биоинформатического моделирования, находился на уровне 40–55% в зависимости от принадлежности к той или иной этнической или субэтнической подгруппе, и его рост с учетом темпов наполняемости регистра прогнозировали на уровне 1% в год [23].

Однако более поздние результаты свидетельствуют о том, что в выборке 223 960 потенциальных доноров, добавленных в израильский регистр в период 2018–2021 гг., было зафиксировано наличие уникальных аллелей. Данный факт может свидетельствовать о том, что степень

HLA-разнообразие израильского контингента все еще установлена недостаточно точно и, по-видимому, подлежит корректировке в сторону увеличения, что может оказать влияние на аппроксимацию вероятности нахождения совместимых доноров [24].

Один из наиболее показательных примеров проблем наполняемости регистров, вызванных этнической разнородностью популяции, представляет собой Индия. В этом государстве проживают более 300 этнических групп, разговаривающих на 438 языках, и пять основных регистров доноров костного мозга насчитывают соответственно: DKMS Registry (21 695 доноров), Be The Cure Registry-Jeevan Foundation (6449 доноров), Datri Blood Stem Cells Registry (367 561 доноров), GeneBandhu (7991 доноров) и Marrow Donor Registry India (MDRI) (35 768 доноров). В данном случае вероятность наличия подходящих вариантов для трансплантации, даже без учета требований высокого разрешения HLA-типирования, не достигает и отметки в 20%, так как более трети HLA-типов несут уникальный характер (так называемые синглтоны) [22]. При этом необходимо подчеркнуть, что приведенные значения вероятности для Индии несут эмпирический, а в случае KSA (Королевство Саудовская Аравия) — расчетный (прогностический) характер. Ключевым параметром, открывающим возможность подобного рода аппроксимаций и, как следствие, возможность оценки целевых значений наполненности регистра, служит мера генетического HLA-разнообразия популяции, которая, с учетом практической неосуществимости 100% типирования всех принадлежащих к ней индивидам, также нуждается в статистическом предсказании. Такой тип вероятностного приближения становится доступным благодаря наличию экстраполяции на всю популяцию данных HLA-типирования донорского пула регистра. Основной трудностью, препятствующей проведению этой процедуры в зарубежных странах, выступает отсутствие унификации методик типирования, результатом чего является рассогласованность HLA-данных различного разрешения, накопленных за десятилетия, а также высокая распространенность уникальных аллелей (большая относительная доля синглтонов). Так как самое очевидное и простое решение задачи совместимости информации об HLA-генотипах — редукция всех данных к наиболее низкому из предельных в системе разрешений — влечет за собой значительное снижение результативности регистрации аллельного разнообразия, было предложено применить статистические алгоритмы, которые могут работать в рамках разнородных по указанному критерию выборок [25]. Что касается преодоления второй трудности, то необходимо отметить статистические разработки по адаптации алгоритмов максимизации ожиданий к распределениям, отличающимся наличием так называемых тяжелых хвостов. Применение указанного алгоритма к данным доноров национального регистра США, в частности, выявило, что 44,65% гаплотипов европеоидных американцев принадлежат к разряду синглтонов, то есть являются уникальными. При этом доля представленности типов разновидностей гаплотипов в регистре относительно общего их количества у европеоидных граждан США составила лишь 23,45%. Однако в силу того, что 90% европеоидных американцев обладают одним из часто встречающихся (4,5% случаев) гаплотипов, 6,59-миллионного донорского пула оказывается достаточно для обеспечения 99,4% покрытия популяции [26].

Таким образом, расчет целевых показателей количества доноров осуществляют на основе математического моделирования, результат которого сильно зависит от характеристик исходных данных, и, в частности, данных HLA-типирования. Данные характеристики могут меняться в зависимости от методик редукции к тому или иному стандарту и тем самым влиять на работу математических моделей. Следовательно, можно заключить, что вопросы наполняемости регистра и расчета целевых ориентиров этого показателя достаточно тесно увязаны с проблематикой стандартизации применяемых методов HLA-типирования.

### HLA-типирование в деятельности мировых регистров

В настоящий момент в научно-рецензируемой литературе отсутствуют данные о применении четких стандартизированных подходов к HLA-типированию в международном масштабе. Многовариантность регламентов определения HLA-генотипов сохраняется сразу по нескольким направлениям, на которых следует остановиться отдельно.

Наибольшей многовариантностью характеризуется уровень полноты информации о нуклеотидных последовательностях генов, кодирующих белки главного комплекса гистосовместимости (ГКГ), получаемой в процессе HLA-типирования. В настоящее время технологии типирования позволяют получать информацию о:

- нуклеотидных последовательностях, кодирующих наиболее значимые участки антиген-распознающих доменов белков ГКГ;
- полных нуклеотидных последовательностях, кодирующих антиген-распознающие домены;
- полных, без учета синонимичных вариантов, нуклеотидных последовательностях экзонов, кодирующих всю структуру белков ГКГ;
- полных, с учетом синонимичных вариантов, нуклеотидных последовательностях экзонов, кодирующих всю структуру белков ГКГ;
- полных, с учетом синонимичных вариантов, нуклеотидных последовательностях экзонов, кодирующих всю структуру белков ГКГ, и полных нуклеотидных последовательностях интронов генов ГКГ;
- полных, с учетом синонимичных вариантов, нуклеотидных последовательностях экзонов, кодирующих всю структуру белков ГКГ, и полных нуклеотидных последовательностях интронов генов ГКГ совместно с информацией об уровне экспрессии.

Имеющиеся данные по ведущимся научным разработкам, направленным на совмещение информации о нуклеотидных последовательностях генов HLA, отличающейся по уровню полноты (уровню разрешения), а также структура международной HLA-номенклатуры косвенно свидетельствуют о том, что в настоящее время в базах данных мировых регистров присутствуют данные типирования практически всех вышеперечисленных видов полноты [27, 28]. Иногда различные по степени полноты данные типирования находятся даже в рамках одного и того же регистра. Примером здесь может служить интернациональный регистр DKMS (Германия, Великобритания, Чили, Польша, Южная Африка, США), где, несмотря на шестилетний опыт использования стандарта типирования по шести классическим HLA-генам, германский массив данных по состоянию на 2019 г. все



еще характеризовался наличием более 100 000 доноров, типированных только по двум HLA-генам [29].

В итальянском регистре доноров костного мозга (по состоянию на 2017 г.) существует практика так называемых «первичных запросов» на поиск донора, в ходе которой факт совпадения устанавливается по данным HLA-типирования низкого разрешения. Указанную процедуру признавали полезной с точки зрения ускорения поиска совместимых доноров [30].

Регламентами NMDP предусматривается возможность ограничиться первыми двумя из представленных в списке выше уровней полноты информации о генах ГКГ при вступлении в регистр, однако при активации необходимо произвести типирование, ориентированное на полные нуклеотидные последовательности экзонов (3–4 пункт), что соответствует используемому в иностранных регламентах термину «высокое разрешение» [31]. Многовариантным является и перечень типлируемых белковых молекул главного комплекса гистосовместимости. К примеру, начиная с момента создания NMDP, первоначальные требования определяли в качестве обязательных лишь рецепторы HLA-A, HLA-B и DR. К 2005 г. добавилось требование дополнительно осуществлять типирование по HLA-C, в связи с тем в практический оборот вошел термин 8/8 MUD (Matched Unrelated Donor — Совместимый неродственный донор), указывающий на соответствующий стандарт совпадения. Спустя еще некоторое время стали появляться убедительные данные о значимости таких рецепторов, как DP, DQ, и в практический оборот стали постепенно вводить стандарт 10/10 MUD [32].

Обозначенные области регламентов и требований относятся к категории конечных результатов типирования, при этом сам технологический процесс их получения тоже характеризуется многовариантностью. В настоящее время выделяют несколько основных разновидностей технологий, которые могут быть использованы для HLA-типирования: PCR-SSP (полимеразная цепная реакция с праймерами, специфичными для последовательности), PCR-SSOP (полимеразная цепная реакция с олигонуклеотидными зондами, специфичными для последовательности), SBT (типирование на основе секвенирования), Next-generation SBT (SBT следующего поколения) [33–37]. При этом две последние технологии из данного перечня позволяют получить наиболее полные результаты генотипирования, а технологии PCR-SSP и PCR-SSOP сводят итоговый набор данных к информации о последовательностях антигенсвязывающих участков и зачастую их увязывают с каталогами часто встречающихся и хорошо документированных аллелей CWD. Последние призваны частично компенсировать ограниченность информации о нуклеотидном строении HLA-макромолекул (недостаточность разрешения) и используются в качестве шаблонов для направленного поиска в реакциях PCR [38].

В настоящее время благодаря усилиям таких организаций, как American Society for Histocompatibility and Immunogenetics (ASHI), European Federation for Immunogenetics (EFI CWD) и China Marrow Donor Program, каталоги CWD ведут в США, Евросоюзе и Китае [37–39].

### **Специальные аспекты функционирования западных регистров КМ и ГСК. Обеспечение национальной безопасности**

Все рассмотренные нами ранее организационно-методические аспекты работы мировых регистров доноров костного

мозга и ГСК можно условно отнести к категории общих. Причина этого заключается в том, что они реализуются в процессе повседневного функционирования и не обладают исключительным характером. Однако, исходя из данных литературы, можно заключить, что методической проработке подвергают и так называемые специальные аспекты функционирования регистра — регламенты и программы функционирования в чрезвычайных условиях, к примеру, в условиях катастроф самого различного характера. В 2012 г. под эгидой WMDA были выпущены указания международным членам данной организации касательно осуществления плана противодействия природным, техногенным либо вызванным иным человеческим фактором чрезвычайным ситуациям [40].

В документе обрисован круг основных направлений организации противодействия негативным последствиям уже произошедшей либо разворачивающейся чрезвычайной ситуации. Обращает на себя внимание тот факт, что первый пункт носит предельно общий характер и подразумевает реакцию системы регистра на деструктивные процессы и явления, напрямую не связанные с нарушением его функционирования. В силу того, что подобного рода формулировка открывает возможность для предельно широких трактовок, достаточно логичным выглядит предположение о стремлении авторов документа заложить возможность разработки регламентов оказания масштабной помощи населению с привлечением ресурсов регистра. Одним из примеров повышенной востребованности донорского потенциала регистров костного мозга в условиях воздействия неблагоприятных факторов и катастроф служит ситуация массового радиационного облучения в диапазоне 5–10 Грей, при которой трансплантация костного мозга будет обладать жизнеспасающим характером. Потенциальным дополнительным свидетельством, указывающим на возможность проработки сценариев противодействия радиационному поражению, служит расписанный в документе стратегический план, первый же пункт которого указывает на важность формирования системы приоритетности отработки рейтинга потенциальных заявок на трансплантацию в кризисных условиях. Теоретически, в условиях массового облучения такого рода приоритизация может иметь очень важное значение по причине невозможности одновременного удовлетворения большого количества потенциальных реципиентов и необходимости принимать непростые решения о задействовании донорских ресурсов в том либо ином направлении.

Кроме этого, необходимо отметить, что такую имеющую прямое отношение к регистрам тематику, как возможность создания банков КМ и ГСК, предназначенных в том числе для аутотрансплантации, обсуждали в прессе в связи с ядерной катастрофой на Фукусиме. Согласно сообщению издания *Scienceinsider*, группа японских медицинских экспертов 15 апреля 2011 г. направила письмо в журнал *The Lancet*, в котором выразила потребность в организации банка ГСК для коллектива работников станции [41]. По мнению авторов, такого рода мера призвана снизить негативные последствия возможного получения высоких доз облучения. В качестве подтверждения позиции авторов письма *Scienceinsider* приводит слова эксперта по трансплантациям Nelson Chao (Duke University in Durham, North Carolina), заявившего о несомненной пользе такого рода мер для преодоления последствий радиационного облучения, сопряженного с терапией онкологических заболеваний.



Косвенным свидетельством адаптированности глобальных регистров под сценарии ядерных катастроф выступают некоторые любопытные факты, связанные с самим моментом исторического основания национального регистра доноров костного мозга США. Действительно, в 1984 г., несмотря на огромный личный энтузиазм и обширные политические возможности, одному из главных идейных вдохновителей создания национального регистра США, конгрессмену Альберту Гору (впоследствии занявшему пост вице-президента США), не удалось преодолеть сопротивления администрации Белого Дома, посчитавшего данную инициативу преждевременной. Поддержки не удалось добиться даже в ходе проведения специальной координационной встречи, организованной под эгидой NIH, и идею создания регистра реализовали лишь в 1986 г. благодаря выделению ВМФ США бюджета в 1,2 млн долларов. Интересен тот факт, что обо всех нюансах финансовых договоренностей был информирован глава регистра трансплантации американского военно-морского флота [42]. С учетом стратегической значимости использования атомных энергетических установок на кораблях, составляющих основу ударной силы американского флота, данный факт может указывать на наличие специальных мотивов создания самого обширного мирового регистра КМ и ГСК, связанных в том числе с преодолением последствий облучения личного состава.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в настоящем обзоре рассмотрены литературные данные о многолетнем мировом опыте использования регистров костного мозга и ГСК, касающиеся общих и специальных организационно-методических аспектов их функционирования. Указанные данные были подвергнуты критическому рассмотрению, и их достоверность и практическая ценность не вызывает каких-либо принципиальных вопросов.

В частности, большой интерес с точки зрения имплементации подобного рода информационных систем (регистров доноров костного мозга, ГСК и т. п.) в РФ представляет информация о высокой отзывчивости граждан в ответ на программы популяризации донорства костного мозга, особенностях организации

рекрутинга, требованиях к численности регистра с учетом многонациональности и неоднородности этнического состава и алгоритмов их статистической аппроксимации. В контексте технологического обеспечения обращают на себя внимание сведения относительно разнообразия алгоритмов поиска совместимых доноров, в том числе и при применении альтернативных источников трансплантационного материала, таких как Cord Blood Unit (единицы пуповинной крови) и Peripheral Blood Stem Cells (периферические стволовые гемопоэтические клетки), а также на факт адаптированности глобальных регистров к разнородному составу методологий HLA-типирования. Особую важность представляют сведения о потенциальной связи регистров КМ и ГСК с проблемой обеспечения национальной безопасности, в том числе и в контексте предохранения населения от последствий катастроф, ЧП и террористических акций, сопровождающихся развитием у пострадавших костномозговой формы лучевой болезни. Отдельного упоминания в этом отношении заслуживает факт вынесения в публичное медийное пространство научной аргументации в пользу создания биобанков КМ и ГСК для контингентов повышенного риска в части наличия фактора радиационного облучения.

Актуальность представленных в обзоре сведений и их практическая значимость подтверждается фактом слабой представленности тематики деятельности отечественных регистров доноров костного мозга и, в частности, Федерального регистра доноров костного мозга и ГСК в российской научной литературе. В настоящее время такие публикации касаются в основном правовых аспектов деятельности регистров [43, 44], констатации необходимости их создания [45] и практических результатов функционирования лишь одного регистра РМНПЦ «Росплазма» ФМБА России [16].

На основании вышеизложенного уместно выдвинуть гипотезу, что последующее накопление пула отечественных публикаций, касающихся российского опыта в данной сфере, позволит полноценно использовать представленные в данном обзоре зарубежные научные данные в качестве основы для сравнения и организации продуктивной дискуссии относительно оптимальных путей развития Федерального регистра доноров костного мозга и ГСК.

## Литература

1. Atlas LD. The National Marrow Donor Program in 2006: constants and challenges. *Transfusion*. 2006; 46 (7): 1080–4. DOI: 10.1111/j.1537-2995.2006.00889.x. PMID: 16836552.
2. Grewal SS, Barker JN, Davies SM, Wagner JE. Unrelated donor hematopoietic cell transplantation: marrow or umbilical cord blood? *Blood*. 2003; 101: 4233–44.
3. Switzer GE, Dew MA, Stukas AA, Goycoolea JM, Hegland J, Simmons RG. Factors associated with attrition from a national bone marrow registry. *Bone Marrow Transplant*. 1999; 24 (3): 313–9. DOI: 10.1038/sj.bmt.1701884. PMID: 10455372.
4. Larson EB, Chestnut TM, Beatty PG, Slichter S. The first-year costs of establishing an unrelated bone marrow donor registry. *Transfusion*. 1990; 30 (2): 138–41. DOI: 10.1046/j.1537-2995.1990.30290162899.x.
5. Ballen KK, King RJ, Chitphakdithai P, Bolan CD Jr, Agura E, Hartzman RJ, et al. The national marrow donor program 20 years of unrelated donor hematopoietic cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2008; 14 (9): 2–7. DOI: 10.1016/j.bbmt.2008.05.017. PMID: 18721774.
6. Flickinger GH, Hsu S, Yu N, Lebedeva TV, Dong W, Barone J, et al. 1-OR: HLA-typing of DNA from buccal swab and dried blood samples following prolonged storage at room temperature. *Human Immunology*. 2013; 74: 1. ISSN 0198-8859. DOI: 10.1016/j.humimm.2013.08.012.
7. Cacioppo JT, Gardner WL. What underlies medical donor attitudes and behavior? *Health Psychol*. 1993; 12: 269–71.
8. Glasgow ME, Bello G. Bone marrow donation: factors influencing intentions in African Americans. *Oncol Nurs Forum*. 2007; 34: 369–77.
9. Sanner MA. Registered bone marrow donors' views on bodily donations. *Bone Marrow Transplant*. 1997; 19: 67–76.
10. Laver JH, Hulseley TC, Jones JP, Gautreaux M, Barredo JC, Abboud MR. Assessment of barriers to bone marrow donation by unrelated African-American potential donors. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2001; 7: 45–8.
11. Klinge RS, Aune KS. Effects of a daytime serial and a public service announcement in promoting cognitions, attitudes, and behaviors related to bone-marrow testing. *Health Commun*. 1994; 6: 225–45.

12. Sarason IG, Sarason BR, Slichter SJ, Beatty PG, Meyer DM, Bolgiano DC. Increasing participation of blood donors in a bone-marrow registry. *Health Psychol.* 1993; 12: 272–6.
13. Studts J, Ruberg J, McGuffin S, et al. Decisions to register for the National Marrow Donor Program: rational vs emotional appeals. *Bone Marrow Transplant.* 2010; 45: 422–8. DOI: 10.1038/bmt.2009.174.
14. Barriga F, Solloch UV, Giani A, Palma J, Wietstruck A, Sarmiento M, et al. 5 years DKMS Chile: approach, results and impact of the first unrelated stem cell donor center in Chile. *Front Med (Lausanne).* 2023; 10: 1236506. DOI: 10.3389/fmed.2023.1236506. PMID: 37901400. PMID: PMC10601464.
15. Tiwari AK, Mishra VC, Tiwari A, Dorwal P, Gupta K, Chandra D, et al. Matched unrelated donor hematopoietic progenitor cell transplantation: A report based on a single registry in India. *Leuk Res Rep.* 2019; 11: 17–20. DOI: 10.1016/j.lrr.2019.03.003. PMID: 30963025. PMID: PMC6434059.
16. Логинова М. А., Парамонов И. В. Опыт работы регистра потенциальных доноров гемопоэтических стволовых клеток. *Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии.* 2014; 13 (1): 9–12. EDN SCMRXC.
17. Confer DL. The National Marrow Donor Program. Meeting the needs of the medically underserved. *Cancer.* 2001; 91 (1): 274–8. DOI: 10.1002/1097-0142(20010101)91:1<+274::aid-cnrcr18>3.0.co;2-e. PMID: 11148593.
18. Monaghan M, Yi QL, Green M, Campbell T, Weiss JT, Dibdin N, et al. Factors associated with registrant availability for unrelated adult donor hematopoietic stem cell donation: Analysis of the stem cell registry at Canadian Blood Services. *Transfusion.* 2021; 61 (1): 24–8. DOI: 10.1111/trf.16129. PMID: 33084098.
19. Schmidt A, Amer B, Halet M, et al. Qualifications and training of adult stem cell donor recruiters: recommendations by the World Marrow Donor Association. *Bone Marrow Transplant.* 2013; 48: 148–50. DOI: 10.1038/bmt.2012.98.
20. Pidala J, Mupfudze TG, Payton T, Barker J, Perales MA, Shaw BE, et al. Urgent time to allogeneic hematopoietic cell transplantation: a national survey of transplant physicians and unrelated donor search coordinators facilitated by the histocompatibility advisory group to the National Marrow Donor Program. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2019; 25 (12): 2501–6. DOI: 10.1016/j.bbmt.2019.08.002. PMID: 31419569. PMID: PMC7307219.
21. Hashimoto S, Nakajima F, Imanishi T, Kawai Y, Kato K, Kimura T, et al. Implications of HLA diversity among regions for bone marrow donor searches in Japan. *HLA.* 2020; 96 (1): 24–42. DOI: 10.1111/tan.13881. PMID: 32222025.
22. Aljurf M, Weisdorf D, Alfraih F, Szer J, Müller C, Confer D, et al. Worldwide Network for Blood & Marrow Transplantation (WBMT) special article, challenges facing emerging alternate donor registries. *Bone Marrow Transplant.* 2019; 54 (8): 1179–88. DOI: 10.1038/s41409-019-0476-6. PMID: 30778127. PMID: PMC6760540.
23. Halagan M, Manor S, Shriki N, Yaniv I, Zisser B, Madbouly A, et al. East Meets West-Impact of Ethnicity on Donor Match Rates in the Ezer Mizion Bone Marrow Donor Registry. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2017; 23 (8): 1381–6. DOI: 10.1016/j.bbmt.2017.04.005. PMID: 28396163.
24. Bishara A, Manor S, Tanous M, Eitiel Y, Cereb N, Zisser B. Identification and characterization of 122 novel HLA alleles in bone marrow donors recruited to the Ezer Mizion Bone Marrow Donor Registry. *HLA.* 2023; 101 (5): 507–12. DOI: 10.1111/tan.14933. PMID: 36480313.
25. Kollman C, Maiers M, Gragert L, Müller C, Setterholm M, Oudshoorn M, et al. Estimation of HLA-A, -B, -DRB1 haplotype frequencies using mixed resolution data from a National Registry with selective retyping of volunteers. *Hum Immunol.* 2007; 68 (12): 950–8. DOI: 10.1016/j.humimm.2007.10.009. PMID: 18191722.
26. Slater N, Louzoun Y, Gragert L, Maiers M, Chatterjee A, Albrecht M. Power laws for heavy-tailed distributions: modeling allele and haplotype diversity for the national marrow donor program. *PLoS Comput Biol.* 2015; 11 (4): e1004204. DOI: 10.1371/journal.pcbi.1004204. PMID: 25901749. PMID: PMC4406525.
27. Spellman S, Setterholm M, Maiers M, et al. Advances in the selection of HLA-compatible donors: refinements in HLA typing and matching over the first 20 years of the National Marrow Donor Program Registry. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2008; 14 (9): 37–44.
28. Paunic V, Gragert L, Schneider J, Muller C, Maiers M. Charting improvements in US registry HLA typing ambiguity using a typing resolution score. *Hum Immunol.* 2016; 77 (7): 542–9.
29. Schmidt AH, Sauter J, Baier DM, Daiss J, Keller A, Klussmeier A, et al. Immunogenetics in stem cell donor registry work: The DKMS example (Part 1). *Int J Immunogenet.* 2020; 47 (1): 13–23. DOI: 10.1111/iji.12471. PMID: 31903698. PMID: PMC7003907.
30. Picardi A, Arcese W, Pollichieni S, Di Piazza F, Mangione I, Gallina AM, et al. The Rome Transplant Network model compared to the Italian Bone Marrow Donor Registry activity for unrelated donor search process and transplant efficiency for hematologic malignancy. *Transfusion.* 2017; 57 (7): 1734–43. DOI: 10.1111/trf.14131. PMID: 28608367.
31. Bray RA, Hurley CK, Kamani NR, Woolfrey A, Müller C, Spellman S, et al. National Marrow Donor Program HLA Matching Guidelines for Unrelated Adult Donor Hematopoietic Cell Transplants. *Biology of Blood and Marrow Transplantation.* 2008; 14 (9): 45–53. ISSN 1083-8791. DOI: 10.1016/j.bbmt.2008.06.014.
32. Petersdorf EW. Immunogenetics of unrelated hematopoietic stem cell transplantation. *Curr Opin Immunol.* 2006; 18: 559–64.
33. Fasano R, et al. Genotyping applications for transplantation and transfusion management: the Emory experience. *Arch Pathol Lab Med.* 2017; 141 (3): 329–40. DOI: 10.5858/arpa.2016-0277-SA.
34. Nikolaou K, Kalatzis FG, Giannakeas N, Markoula S, Chatzikyriakidou A, Georgiou I, Fotiadis DI. Polymerase chain reaction (PCR) and sequence specific oligonucleotide probes (SSOP) genotyping assay for detection of genes associated with rheumatoid arthritis and multiple sclerosis. *Annu Int Conf IEEE Eng Med Biol Soc.* 2010; 2010: 6202–5. DOI: 10.1109/IEMBS.2010.5627739. PMID: 21097159.
35. Wittig M, Anmarkrud J, Kässens J, Koch S, Forster M, Ellinghaus E, et al. Development of a high-resolution NGS-based HLA-typing and analysis pipeline. *Nucleic Acids Res.* 2015; 43: e70. DOI: 10.1093/nar/gkv184.
36. Robinson J, Halliwell J, Hayhurst J, Flicek P, Parham P, Marsh S. The IPD and IMGT/HLA database: allele variant databases. *Nucleic Acids Res.* 2015; 43: D423–D431. DOI: 10.1093/nar/gku1161.
37. Sanchez-Mazas A, Nunes JM, Middleton T, et al. Common and well-documented HLA alleles over all of Europe and within European sub-regions: a catalogue from the European Federation for Immunogenetics. *HLA.* 2017; 89 (2): 104–13.
38. Mack SJ, Cano P, Hollenbach JA, et al. Common and well-documented HLA alleles: 2012 update to the CWD catalogue. *Tissue Antigens.* 2013; 81 (4): 194–203.
39. He Y, Li J, Mao W, et al. HLA common and well-documented alleles in China. *HLA.* 2018; 92 (4): 199–205.
40. Pingel J, Case C Jr, Amer B, Hornung RA 3rd, Schmidt AH. Quality Assurance Working Group of the World Marrow Donor Association. World marrow donor association crisis response, business continuity, and disaster recovery guidelines. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2012; 18 (12): 1785–9. DOI: 10.1016/j.bbmt.2012.08.006. PMID: 22967871.
41. Kaiser J. Should Japan Bank Stem Cells From Fukushima Nuclear Workers? [cited 2023 November 2]. Available from: <https://www.science.org/content/article/should-japan-bank-stem-cells-fukushima-nuclear-workers>.
42. McCullough J, Perkins HA, Hansen J. The National Marrow Donor Program with emphasis on the early years. *Transfusion.* 2006; 46 (7): 1248–55. DOI: 10.1111/j.1537-2995.2006.00842.x. PMID: 16836575.
43. Постникова Н. С. Планируемые изменения законодательства о трансплантации тканей и органов. Какие сложности вызовет вступление в силу нового федерального закона в области трансплантации? Процедура получения согласия пациентов, не включенных в регистры доноров. Правовые вопросы в здравоохранении. 2015; 8: 22–35. EDN UEKKNH.
44. Галева Г. Р. Некоторые аспекты предлагаемых изменений законодательства в области трансплантации органов в России. Проект федерального закона «О донорстве органов человека и их трансплантации». *Вестник Волжского университета имени В. Н. Татищева.* 2014; 4 (81): 119–24. EDN TFYLHX.
45. Иванова Г. Ю., Туснолобова С. Д. Необходимость создания Федерального регистра доноров костного мозга в Российской Федерации. *Студенческий вестник.* 2022; 47–5 (239): 31–2. EDN QXXTKK.

## References

- Atlas LD. The National Marrow Donor Program in 2006: constants and challenges. *Transfusion*. 2006; 46 (7): 1080–4. DOI: 10.1111/j.1537-2995.2006.00889.x. PMID: 16836552.
- Grewal SS, Barker JN, Davies SM, Wagner JE. Unrelated donor hematopoietic cell transplantation: marrow or umbilical cord blood? *Blood*. 2003; 101: 4233–44.
- Switzer GE, Dew MA, Stukas AA, Goycoolea JM, Hegland J, Simmons RG. Factors associated with attrition from a national bone marrow registry. *Bone Marrow Transplant*. 1999; 24 (3): 313–9. DOI: 10.1038/sj.bmt.1701884. PMID: 10455372.
- Larson EB, Chestnut TM, Beatty PG, Slichter S. The first-year costs of establishing an unrelated bone marrow donor registry. *Transfusion*. 1990; 30 (2): 138–41. DOI: 10.1046/j.1537-2995.1990.30290162899.x.
- Ballen KK, King RJ, Chitphakdithai P, Bolan CD Jr, Agura E, Hartzman RJ, et al. The national marrow donor program 20 years of unrelated donor hematopoietic cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2008; 14 (9): 2–7. DOI: 10.1016/j.bbmt.2008.05.017. PMID: 18721774.
- Flickinger GH, Hsu S, Yu N, Lebedeva TV, Dong W, Barone J, et al. 1-OR: HLA-typing of DNA from buccal swab and dried blood samples following prolonged storage at room temperature. *Human Immunology*. 2013; 74: 1. ISSN 0198-8859. DOI: 10.1016/j.humimm.2013.08.012.
- Cacioppo JT, Gardner WL. What underlies medical donor attitudes and behavior? *Health Psychol*. 1993; 12: 269–71.
- Glasgow ME, Bello G. Bone marrow donation: factors influencing intentions in African Americans. *Oncol Nurs Forum*. 2007; 34: 369–77.
- Sanner MA. Registered bone marrow donors' views on bodily donations. *Bone Marrow Transplant*. 1997; 19: 67–76.
- Laver JH, Hulseley TC, Jones JP, Gautreaux M, Barredo JC, Abboud MR. Assessment of barriers to bone marrow donation by unrelated African-American potential donors. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2001; 7: 45–8.
- Klinge RS, Aune KS. Effects of a daytime serial and a public service announcement in promoting cognitions, attitudes, and behaviors related to bone-marrow testing. *Health Commun*. 1994; 6: 225–45.
- Sarason IG, Sarason BR, Slichter SJ, Beatty PG, Meyer DM, Bolgiano DC. Increasing participation of blood donors in a bone-marrow registry. *Health Psychol*. 1993; 12: 272–6.
- Studts J, Ruberg J, McGuffin S, et al. Decisions to register for the National Marrow Donor Program: rational vs emotional appeals. *Bone Marrow Transplant*. 2010; 45: 422–8. DOI: 10.1038/bmt.2009.174.
- Barriga F, Solloch UV, Giani A, Palma J, Wietstruck A, Sarmiento M, et al. 5 years DKMS Chile: approach, results and impact of the first unrelated stem cell donor center in Chile. *Front Med (Lausanne)*. 2023; 10: 1236506. DOI: 10.3389/fmed.2023.1236506. PMID: 37901400. PMCID: PMC10601464.
- Tiwari AK, Mishra VC, Tiwari A, Dorwal P, Gupta K, Chandra D, et al. Matched unrelated donor hematopoietic progenitor cell transplantation: A report based on a single registry in India. *Leuk Res Rep*. 2019; 11: 17–20. DOI: 10.1016/j.lrr.2019.03.003. PMID: 30963025. PMCID: PMC6434059.
- Loginova MA, Paramonov IV. Experience gained in the activity of the Potential Hematopoietic Stem Cells Donor Registry. *Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology*. 2014; 13 (1): 9–12. EDN SCMRXC. Russian.
- Confer DL. The National Marrow Donor Program. Meeting the needs of the medically underserved. *Cancer*. 2001; 91 (1): 274–8. DOI: 10.1002/1097-0142(20010101)91:1+<274::aid-cnrc18>3.0.co;2-e. PMID: 11148593.
- Monaghan M, Yi QL, Green M, Campbell T, Weiss JT, Dibdin N, et al. Factors associated with registrant availability for unrelated adult donor hematopoietic stem cell donation: Analysis of the stem cell registry at Canadian Blood Services. *Transfusion*. 2021; 61 (1): 24–8. DOI: 10.1111/trf.16129. PMID: 33084098.
- Schmidt A, Amer B, Halet M, et al. Qualifications and training of adult stem cell donor recruiters: recommendations by the World Marrow Donor Association. *Bone Marrow Transplant*. 2013; 48: 148–50. DOI: 10.1038/bmt.2012.98.
- Pidal J, Mupfudze TG, Payton T, Barker J, Perales MA, Shaw BE, et al. Urgent time to allogeneic hematopoietic cell transplantation: a national survey of transplant physicians and unrelated donor search coordinators facilitated by the histocompatibility advisory group to the National Marrow Donor Program. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2019; 25 (12): 2501–6. DOI: 10.1016/j.bbmt.2019.08.002. PMID: 31419569. PMCID: PMC7307219.
- Hashimoto S, Nakajima F, Imanishi T, Kawai Y, Kato K, Kimura T, et al. Implications of HLA diversity among regions for bone marrow donor searches in Japan. *HLA*. 2020; 96 (1): 24–42. DOI: 10.1111/tan.13881. PMID: 32222025.
- Aljurf M, Weisdorf D, Alfraih F, Szer J, Müller C, Confer D, et al. Worldwide Network for Blood & Marrow Transplantation (WBMT) special article, challenges facing emerging alternate donor registries. *Bone Marrow Transplant*. 2019; 54 (8): 1179–88. DOI: 10.1038/s41409-019-0476-6. PMID: 30778127. PMCID: PMC6760540.
- Halagan M, Manor S, Shriki N, Yaniv I, Zisser B, Madbouly A, et al. East Meets West-Impact of Ethnicity on Donor Match Rates in the Ezer Mizion Bone Marrow Donor Registry. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2017; 23 (8): 1381–6. DOI: 10.1016/j.bbmt.2017.04.005. PMID: 28396163.
- Bishara A, Manor S, Tanous M, Etiele Y, Cereb N, Zisser B. Identification and characterization of 122 novel HLA alleles in bone marrow donors recruited to the Ezer Mizion Bone Marrow Donor Registry. *HLA*. 2023; 101 (5): 507–12. DOI: 10.1111/tan.14933. PMID: 36480313.
- Kollman C, Maiers M, Gragert L, Müller C, Setterholm M, Oudshoorn M, et al. Estimation of HLA-A, -B, -DRB1 haplotype frequencies using mixed resolution data from a National Registry with selective retyping of volunteers. *Hum Immunol*. 2007; 68 (12): 950–8. DOI: 10.1016/j.humimm.2007.10.009. PMID: 18191722.
- Slater N, Louzoun Y, Gragert L, Maiers M, Chatterjee A, Albrecht M. Power laws for heavy-tailed distributions: modeling allele and haplotype diversity for the national marrow donor program. *PLoS Comput Biol*. 2015; 11 (4): e1004204. DOI: 10.1371/journal.pcbi.1004204. PMID: 25901749. PMCID: PMC4406525.
- Spellman S, Setterholm M, Maiers M, et al. Advances in the selection of HLA-compatible donors: refinements in HLA typing and matching over the first 20 years of the National Marrow Donor Program Registry. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2008; 14 (9): 37–44.
- Paunic V, Gragert L, Schneider J, Muller C, Maiers M. Charting improvements in US registry HLA typing ambiguity using a typing resolution score. *Hum Immunol*. 2016; 77 (7): 542–9.
- Schmidt AH, Sauter J, Baier DM, Daiss J, Keller A, Klussmeier A, et al. Immunogenetics in stem cell donor registry work: The DKMS example (Part 1). *Int J Immunogenet*. 2020; 47 (1): 13–23. DOI: 10.1111/iji.12471. PMID: 31903698. PMCID: PMC7003907.
- Picardi A, Arcese W, Pollichieni S, Di Piazza F, Mangione I, Gallina AM, et al. The Rome Transplant Network model compared to the Italian Bone Marrow Donor Registry activity for unrelated donor search process and transplant efficiency for hematologic malignancy. *Transfusion*. 2017; 57 (7): 1734–43. DOI: 10.1111/trf.14131. PMID: 28608367.
- Bray RA, Hurley CK, Kamani NR, Woolfrey A, Müller C, Spellman S, et al. National Marrow Donor Program HLA Matching Guidelines for Unrelated Adult Donor Hematopoietic Cell Transplants. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*. 2008; 14 (9): 45–53. ISSN 1083-8791. DOI: 10.1016/j.bbmt.2008.06.014.
- Petersdorf EW. Immunogenetics of unrelated hematopoietic stem cell transplantation. *Curr Opin Immunol*. 2006; 18: 559–64.
- Fasano R, et al. Genotyping applications for transplantation and transfusion management: the Emory experience. *Arch Pathol Lab Med*. 2017; 141 (3): 329–40. DOI: 10.5858/arpa.2016-0277-SA.
- Nikolaou K, Kalatzis FG, Giannakeas N, Markoula S, Chatzikiyriakidou A, Georgiou I, Fotiadis DI. Polymerase chain reaction (PCR) and sequence specific oligonucleotide probes (SSOP) genotyping assay for detection of genes associated with rheumatoid arthritis and multiple sclerosis. *Annu Int Conf IEEE Eng Med Biol Soc*. 2010; 2010: 6202–5. DOI: 10.1109/IEMBS.2010.5627739. PMID: 21097159.
- Wittig M, Anmarkrud J, Kässens J, Koch S, Forster M, Ellinghaus E, et al. Development of a high-resolution NGS-based HLA-typing

- and analysis pipeline. *Nucleic Acids Res.* 2015; 43: e70. DOI: 10.1093/nar/gkv184.
36. Robinson J, Halliwell J, Hayhurst J, Flicek P, Parham P, Marsh S. The IPD and IMGT/HLA database: allele variant databases. *Nucleic Acids Res.* 2015; 43: D423–D431. DOI: 10.1093/nar/gku1161.
  37. Sanchez-Mazas A, Nunes JM, Middleton D, et al. Common and well-documented HLA alleles over all of Europe and within European sub-regions: a catalogue from the European Federation for Immunogenetics. *HLA.* 2017; 89 (2): 104–13.
  38. Mack SJ, Cano P, Hollenbach JA, et al. Common and well-documented HLA alleles: 2012 update to the CWD catalogue. *Tissue Antigens.* 2013; 81 (4): 194–203.
  39. He Y, Li J, Mao W, et al. HLA common and well-documented alleles in China. *HLA.* 2018; 92 (4): 199–205.
  40. Pingel J, Case C Jr, Amer B, Hornung RA 3rd, Schmidt AH. Quality Assurance Working Group of the World Marrow Donor Association. World marrow donor association crisis response, business continuity, and disaster recovery guidelines. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2012; 18 (12): 1785–9. DOI: 10.1016/j.bbmt.2012.08.006. PMID: 22967871.
  41. Kaiser J. Should Japan Bank Stem Cells From Fukushima Nuclear Workers? [cited 2023 November 2]. Available from: <https://www.science.org/content/article/should-japan-bank-stem-cells-fukushima-nuclear-workers>.
  42. McCullough J, Perkins HA, Hansen J. The National Marrow Donor Program with emphasis on the early years. *Transfusion.* 2006; 46 (7): 1248–55. DOI: 10.1111/j.1537-2995.2006.00842.x. PMID: 16836575.
  43. Postnikova NS. Planiruemye izmeneniya zakonodatel'stva o transplantatsii tkaney i organov. Kakie slozhnosti vyzovet vstuplenie v silu novogo federal'nogo zakona v oblasti transplantatsii? Protседura polucheniya soglasiya patsientov, ne vklyuchennykh v registry donorov. *Pravovye voprosy v zdravookhraneni.* 2015; 8: 22–35. EDN UEKKHD. Russian.
  44. Galeeva GR. Some aspects of the proposed legislative changes in organ transplantation in Russia. The draft federal law «On the donation of human organs and transplantation». *Vestnik of Volga Region University named after VN Tatishchev.* 2014; 4 (81): 119–24. EDN TFYLHX. Russian.
  45. Ivanova GYu, Tusnolobova SD. Neobkhodimost' sozdaniya Federal'nogo registra donorov kostnogo mozga v Rossiyskoy Federatsii. *Studencheskiy vestnik.* 2022; 47–5 (239): 31–2. EDN QXXTKK. Russian.



## ЭССЕНЦИАЛЬНЫЙ ТРЕМОР: СОВРЕМЕННЫЙ ВЗГЛЯД НА ПРОБЛЕМУ И НОВЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ НЕЙРОХИРУРГИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ЛЕЧЕНИЯ

Е. А. Катунина<sup>1,2</sup> ✉, Р. А. Грязнев<sup>1</sup>, Н. Н. Шипилова<sup>1,2</sup>, Д. А. Катунин<sup>1</sup>, Е. А. Мальхина<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Федеральный центр мозга и нейротехнологий Федерального медико-биологического агентства, Москва, Россия

<sup>2</sup> Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова, Москва, Россия

Обзор посвящен наиболее часто встречающемуся заболеванию экстрапирамидной системы — эссенциальному тремору (ЭТ). Приведены современные представления о патогенезе заболевания, затронуты вопросы классификации и дифференциального диагноза. Современные методы лечения ЭТ включают терапевтические подходы и хирургические вмешательства. Описаны преимущества нового перспективного метода лечения ЭТ — терапия фокусированным ультразвуком под контролем МРТ (ФУЗ-МРТ), обобщен имеющийся на сегодняшний день мировой опыт его применения, показания и противопоказания.

**Ключевые слова:** эссенциальный тремор, лечение, диагностика, таламотомия, ФУЗ-МРТ

**Вклад авторов:** Е. А. Катунина — написание текста; Р. А. Грязнев — анализ литературы, сбор и обработка материала, редактирование текста; Н. Н. Шипилова, Д. А. Катунин, Е. А. Мальхина — редактирование, оформление, утверждение окончательного варианта статьи.

✉ **Для корреспонденции:** Елена Анатольевна Катунина  
Серпуховской вал, д. 17, г. Москва, 115191, Россия; elkatinina@mail.ru

**Статья получена:** 28.02.2024 **Статья принята к печати:** 23.03.2024 **Опубликована онлайн:** 31.03.2024

**DOI:** 10.47183/mes.2024.015

## ESSENTIAL TREMOR: MODERN VIEW OF THE PROBLEM AND NEW NEUROSURGICAL TREATMENT OPTIONS

Katunina EA<sup>1,2</sup> ✉, Gryaznev RA<sup>1</sup>, Shipilova NN<sup>1,2</sup>, Katunin DA<sup>1</sup>, Malykhina EA<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Federal Center of Brain Research and Neurotechnologies of the Federal Medical Biological Agency, Moscow, Russia

<sup>2</sup> Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

The review is focused on essential tremor (ET), the most common extrapyramidal system disorder. Current understanding of the disease pathogenesis is provided; issues of classification and differential diagnosis are discussed. Modern ET treatment methods include therapeutic approaches and surgical interventions. The benefits of the new ET treatment method, the magnetic resonance-guided focused ultrasound treatment (MRgFUS), are described; the world's experience of using the method, indications and contraindications are summarized.

**Keywords:** essential tremor, treatment, diagnosis, thalamotomy, MRgFUS

**Author contributions:** Katunina EA — manuscript writing; Gryaznev RA — literature review, data acquisition and processing, manuscript editing; Shipilova NN, Katunin DA, Malykhina EA — editing, formatting, approval of the final version of the article.

✉ **Correspondence should be addressed:** Elena A. Katunina  
Serpukhovskiy Val, 17, Moscow, 115191, Russia; elkatinina@mail.ru

**Received:** 28.02.2024 **Accepted:** 23.03.2024 **Published online:** 31.03.2024

**DOI:** 10.47183/mes.2024.015

Эссенциальный тремор (ЭТ) — самое распространенное заболевание экстрапирамидной системы. Согласно данным метаанализа, средний показатель встречаемости составляет 0,9%, увеличиваясь с возрастом и достигая 21,7% в группе пациентов старше 95 лет [1]. За последние годы представления об ЭТ значительно изменились. Это касается как вопросов этиологии и патогенеза, так и клинических аспектов. Долгое время ЭТ рассматривали как наследственное моносимптомное заболевание с локальным поражением подкорковых структур. На данный момент спектр симптомов ЭТ значительно расширился, включая как моторные, так и немоторные проявления. Цель обзора — обобщить данные литературы о современных представлениях о патогенезе заболевания как прогрессирующего нейродегенеративного процесса, его клинических аспектах и методах коррекции.

### Этиология и патогенез

Термин «эссенциальный тремор» впервые был введен в клиническую практику в 1874 г. Пьетро Бурреси, который описал 18-летнего пациента с тяжелым тремором действия. Долгое время ЭТ ассоциировался с термином «доброкачественный тремор». Однако на сегодняшний

день понятно, что это заболевание может приводить к серьезным функциональным и психологическим последствиям: у 15% больных развивается тяжелая инвалидизация; у 80% пациентов тремор значительно ограничивает повседневную активность, нарушая процесс приема пищи, письмо, выполнение целенаправленных движений [2].

Согласно определению Международного общества болезни Паркинсона и двигательных расстройств от 2018 г. ЭТ определяется как акционный тремор рук, длительностью заболевания не менее 3 лет, который может сочетаться с тремором иной локализации (например, головы, голоса или нижних конечностей) при отсутствии других неврологических признаков, таких как дистония, атаксия или паркинсонизм [3].

По этиологическому принципу разделения всех видов тремора, ЭТ может иметь спорадический и семейный характер (рисунок).

У 40–70% пациентов прослеживается аутосомно-доминантный тип наследования с неполной пенетрантностью и вариабельной экспрессивностью гена [4]. В ряде семей наблюдается феномен антиципации с более ранним началом и более выраженными клиническими проявлениями в последующих поколениях [5]. Семейные





Рис. Консенсусная классификация тремора Международного общества расстройств движений от 2018 г. по этиологическому принципу

варианты ЭТ могут развиваться в любом возрасте, в том числе и после 60 лет, но более характерно раннее начало. По данным ряда исследований, семейные формы имеют два пика дебюта — ранний (в том числе детский) возраст и более пожилой. При спорадических формах четких пиков заболеваемости не наблюдается [6]. Вариабельность возраста начала при семейных вариантах ЭТ может быть связана как с разнообразием генетических факторов риска, так и с влиянием факторов окружающей среды на экспрессию тех или иных генов [6].

Несмотря на четкую генетическую предрасположенность, ген, ответственный за развитие ЭТ, до настоящего времени не идентифицирован. Полногеномное секвенирование выявило связь ЭТ с полиморфизмом гена LINGO1, играющего важную роль в механизмах нейропластичности. Ассоциированный с данным геном белок принимает участие в процессах регенерации аксонов и дифференцировки клеток [7]. Было показано, что экспрессия LINGO-1 увеличивается после повреждения нейронов и сопровождается демиелинизацией аксонов. Снижение активности LINGO-1 может способствовать восстановлению неврологического дефицита на фоне повышения выживаемости нейронов и роста дендритов [8].

В последние годы накапливается все больше сведений о том, что ЭТ имеет нейродегенеративную природу. Наибольшие изменения выявляются в мозжечке и нижних отделах ствола головного мозга. В мозжечке отмечается прогрессирующая гибель клеток Пуркинье, дегенеративные изменения зубчатых ядер, атрофия белого вещества. Частым, но не специфичным, патоморфологическим маркером ЭТ являются аксонные «торпеды», представляющие собой расширение проксимального отдела аксона клеток Пуркинье и содержащие измененные нейрофиламенты [9]. Кроме того, при ЭТ выявляют тельца Леви в стволе мозга, прежде всего, в голубоватом пятне, аксоны которого образуют синапсы с клетками Пуркинье мозжечка [9]. Возможно, что повреждение клеток голубоватого пятна снижает стимулирующее норадренергическое влияние на клетки Пуркинье и приводит к их вторичной дисфункции. Таким

образом, результаты морфологических исследований, а также данные функциональной нейровизуализации свидетельствуют о значимой роли мозжечка в патогенезе ЭТ [10]. Вместе с тем, первичность «треморогенной» роли мозжечка остается дискуссионной. Есть мнение, что патологическая активность мозжечковых структур может быть вторичной на фоне пейсмейкерной активности ядер нижних олив или таламуса, которые могут генерировать спонтанные залповые осцилляции [11]. Патологическая активность от ядер нижних олив и/или ядер мозжечка передается через денмато-рубро-таламические пути к двигательным зонам коры и реализуется в виде альтернирующих или синхронных сокращений мышц-агонистов и антагонистов, проявляющихся дрожанием [12]. Ядра таламуса, прежде всего, VIM-ядро, играют роль своеобразной релейной станции между подкоркой и двигательной корой. Поэтому VIM-ядро является наиболее частой мишенью при нейрохирургических вариантах коррекции тремора (глубокая стимуляция мозга, терапия фокусированным ультразвуком под контролем МРТ (ФУЗ-МРТ), радиочастотная абляция).

Клетки Пуркинье, интернейроны Гольджи, зубчатые ядра, корзинчатые клетки мозжечка относятся к ГАМК-ергическим нейронам и выполняют ингибиторную функцию. Роль ГАМК-ергических систем в развитии ЭТ подтверждена эффективностью применения таких препаратов, как примидон, габапентин, прегабалин, топирамат, бензодиазепины, мишенью которых являются ГАМК-рецепторы. Хорошо известный положительный эффект алкоголя при ЭТ также может быть объяснен непрямым агонистическим эффектом в отношении ГАМК-рецепторов. Его влияние на тремор, вероятно, реализуется путем уменьшения aberrантной синхронизации нижних олив. Другим механизмом действия этилового спирта при ЭТ может быть антагонистическое действие на низкопороговые кальциевые каналы, приводящее к увеличению токов Т-типа в нижней оливе [13].

В механизмах тремора, по-видимому, играют роль и периферические механизмы. Эффект неселективных бета-блокаторов, являющихся препаратами первой

**Таблица.** Критерии диагностики ЭТ, ЭТ-плюс и критерии исключения ЭТ и ЭТ-плюс Международного общества болезни Паркинсона и расстройств движения (2018)

Критерии ЭТ	Критерии ЭТ-плюс	Критерии исключения для ЭТ и ЭТ-плюс
1. Изолированный двусторонний кинетический тремор рук 2. Продолжительностью не менее 3 лет 3. Возможно сочетание тремора с тремором иной локализации (например, головы, голосовых связок, нижних конечностей) 4. Отсутствие других неврологических симптомов, таких как дистония, атаксия, паркинсонизм	1. Тремор, соответствующий характеристикам ЭТ при наличии дополнительных неврологических симптомов неопределенной клинической значимости: нарушения тандемной ходьбы, неясная дистоническая установка, нарушения памяти или другие легкие неврологические симптомы, недостаточные для диагностики дополнительного синдрома или заболевания 2. Эссенциальный тремор с дополнительным тремором покоя	1. Изолированный фокальный тремор (голова, голос) 2. Ортостатический тремор с частотой более 12 Гц 3. Тремор при выполнении определенных задач или проявляющийся в определенном положении 4. Внезапное начало, ступенеобразное прогрессирование

линии в лечении ЭТ, реализуется за счет воздействия на бета-2-рецепторы скелетных мышц, расположенных в мышечных веретенах [14].

### Клиническая картина и диагностические критерии

Клиническая картина заболевания складывается из сочетания постурального (тремор вытянутых рук) и кинетического тремора. Тремор, как правило, развивается симметрично и преобладает в дистальных отделах конечностей. В ряде случаев возможен асимметричный дебют, с присоединением второй руки в течение нескольких месяцев. Частота тремора стабильна и находится в диапазоне 4–12 Гц. Амплитуда очень вариабельна, имеет суточные флуктуации, зависит от эмоционального состояния пациента и степени утомления. Особенностью постурального тремора при ЭТ, в отличие от болезни Паркинсона (БП), является его появление сразу же после вытягивания рук, без временной задержки, характерной для БП. Кинетический тремор имеет тенденцию к усилению в конечной точке целенаправленного движения (терминальный тремор). Тремор рук может вовлекать проксимальные отделы, сочетаться с тремором головы («да-да» или «нет-нет»), подбородка, голосовых связок, туловища, нижних конечностей. Изолированный тремор головы/голоса, который ранее рассматривали в рамках варианта ЭТ, в настоящее время является признаком исключения диагноза и считается проявлением фокальной дистонии. Согласно международным критериям, при ЭТ должна отсутствовать другая неврологическая симптоматика (паркинсонизм, атаксия, дистония). При сочетании постурального тремора с брадикинезией следует прежде всего думать о БП.

Заболевание имеет тенденцию к прогрессированию, что подтверждает его нейродегенеративную природу. Однако скорость прогрессирования ЭТ очень индивидуальна. У одних пациентов тремор, существующий долгие годы, не вызывает нарушения повседневной активности. У других приводит к снижению трудоспособности, возможности письма, работы на компьютере, нарушает прием пищи, самообслуживание в быту. У части пациентов отмечается не только усугубление тяжести тремора и его перехода на другие отделы туловища, но и присоединение иных симптомов — паркинсонизма (повышение тонуса по экстрапирамидному типу, тремора покоя, легкой гипокинезии), мозжечковых нарушений (легкой интенции, дисметрии, нарушение тандемной ходьбы), дистонии различной локализации. Обычно это незначительные «мягкие» симптомы. Согласно международным критериям, в этих случаях, принято диагностировать «ЭТ-плюс» [3] (таблица), причем у ряда пациентов подобные симптомы можно выявить уже в первые годы заболевания.

Проведенные эпидемиологические исследования показывают, что ЭТ-плюс встречается чаще «чистого» ЭТ, особенно при дебюте заболевания в более старшем возрасте [15]. В связи с этим, среди группы экспертов продолжается дискуссия о том, является ЭТ-плюс самостоятельной нозологической формой, отдельным синдромом или представляет собой более позднюю стадию ЭТ [16, 17]. Наиболее значимым аргументом в пользу отсутствия нозологической самостоятельности ЭТ-плюс служит отсутствие патоморфологических различий с ЭТ [18]. Более веской представляется позиция трактовки ЭТ-плюс как отдельного синдрома, возможно, являющегося переходной формой ЭТ и такими нозологическими формами, как БП, спино-церебеллярные атаксии, различные варианты дистоний [3, 16, 17, 19]. Наибольшую сложность для дифференциального диагноза ЭТ-плюс с БП представляют случаи сочетания постурального тремора и тремора покоя. В отличие от БП, при ЭТ-плюс тремор покоя имеет ту же частоту, что и постурально-кинетический, и, что еще более важно, при ЭТ отсутствуют брадикинезия и ригидность.

Из Международных критериев ЭТ 2018 г. был исключен положительный ответ на прием небольших доз алкоголя в качестве диагностического признака как неспецифичный и непостоянный симптом, однако оставлен трехлетний период его наблюдения [3]. Такой временной промежуток необходим, чтобы снизить вероятность ошибочного диагноза других неврологических синдромов (например, дистонии, паркинсонизма или атаксии). В литературе можно встретить термин «неопределенный тремор», для тех случаев, когда имеет место меньшая продолжительность заболевания [20].

Долгое время считалось, что ЭТ — моносимптомное заболевание, при котором отсутствуют немоторные симптомы. Вместе с тем, появилось большое количество исследований, свидетельствующих о развитии когнитивных нарушений, тревожных, депрессивных расстройств при ЭТ, что еще больше усиливает гетерогенность заболевания. Профиль когнитивных нарушений связывают с развитием дисфункции фронтостриарных или мозжечково-таламокортикальных систем. Риск развития когнитивных расстройств увеличивается с возрастом. В одном из исследований, направленном на изучение взаимосвязи возраста развития ЭТ и когнитивных расстройств, было выявлено, что 70% больных с диагнозом ЭТ в возрасте 65 лет имели когнитивный дефицит [21]. Учитывая нейродегенеративную природу ЭТ и выявляемую дисфункцию аксонов, можно предположить возможность перехода процесса со стволо-мозжечковых структур на корковые отделы.

Имеются данные о более высокой распространенности тревоги и депрессии у пациентов с ЭТ по сравнению с

группой здоровых людей [22]. Отсутствие корреляции между выраженностью тремора и выраженностью тревожных расстройств, вероятно, свидетельствует о том, что тревожный личностный профиль может быть первичным проявлением заболевания, а не следствием психологических нарушений, вызванных тяжелым инвалидизирующим тремором.

### Направления лекарственной терапии

Используемые на сегодняшний день препараты для лечения ЭТ являются симптоматическими и были разработаны и одобрены для других показаний. Несмотря на многочисленные попытки создания новых лекарственных средств, примидон и пропранолол остаются препаратами первой линии в лечении ЭТ [23]. Эффективность препаратов примерно равна. По данным комитета экспертов Американской академии неврологии (American Academy of Neurology, AAN), уровень доказательности их эффекта определяется как А [24]. Согласно проведенным исследованиям, примерно у 50% пациентов применение этих препаратов не приводит к значимому снижению тремора [25]. Более того, при длительном течении заболевания, полного исчезновения тремора практически никогда не удается добиться. Стремясь к коррекции тремора, приходится использовать высокие дозы препаратов, их комбинации, что повышает риск побочных эффектов, таких как сонливость, слабость, снижение концентрации внимания, брадикардия, гипотония, и снижает приверженность к лечению. В результате многие пациенты принимают субтерапевтические дозы или предпочитают полностью прекратить прием лекарств. Эффективная доза пропранолола находится в диапазоне 60–120 мг/сут. Однако у ряда пациентов приходится повышать дозу до 240–360 мг/сут. [26]. При всех диапазонах доз необходим мониторинг брадикардии и артериальной гипотензии для предотвращения ятрогенного обморока. Также пропранолол следует с осторожностью назначать при обструктивных заболеваниях легких, бронхиальной астме. Эффективные дозы примидона составляют 150–750 мг/сут., средняя эффективная доза составляет 300 мг/сут. Потенциальные побочные эффекты включают головокружение, неустойчивость, сонливость, усталость. Комбинация пропранолола и примидона оказывает более выраженный терапевтический эффект [27].

К препаратам второй линии относят топирамат, алпразолам, габапентин, клоназепам (уровень доказательности В). Топирамат — единственный препарат, который прошел рандомизированное плацебо-контролируемое клиническое исследование [26]. Средняя эффективная доза топирамата варьирует от 215 до 333 мг/сут. Возможные побочные эффекты включают парестезию, трудности с концентрацией внимания, потерю веса, тошноту, бессонницу, депрессию. С осторожностью нужно назначать топирамат пациентам с нарушением функции почек и печени.

Рекомендуемая доза алпразолама составляет 0,75–1,5 мг/сут. В обзорах AAN и Международного общества расстройств движений (MDS) алпразолам рассматривали как «вероятно эффективный и, возможно, полезный» при лечении тремора. Побочные эффекты алпразолама могут проявляться сонливостью, головокружением, атаксией, развитием потенциальной зависимости. Чаще алпразолам рекомендуют для периодического приема в качестве дополнительного препарата.

Риск развития синдрома зависимости характерен также для клоназепама. Клоназепам обычно рекомендуют при выраженном треморе головы или дистоническом треморе. Несмотря на то что AAN признает габапентин как «вероятно, эффективный препарат» [28] и было проведено плацебо-контролируемое исследование, показавшее эффективность габапентина в дозе 1200 мг/сут. в отношении тремора, препарат используют редко и, как правило, в комбинации с другими средствами, при неэффективности лекарственных средств первой/второй линии.

Следует отметить, что целью лечения ЭТ является не полная коррекция тремора, а минимизация функциональных ограничений, связанных с тремором, уменьшение социальной дезадаптации.

### Хирургическое лечение

В случаях рефрактерного к медикаментозной терапии тремора пациент может быть направлен на хирургическое лечение [23, 25]. На сегодняшний день хирургическое направление включает в себя глубокую стимуляцию мозга (Deep brain stimulation, DBS), радиочастотную абляцию, гамма-нож, ФУЗ-МРТ. К преимуществам DBS относят возможность одномоментного двустороннего воздействия, коррекцию параметров стимуляции в зависимости от реакции пациента или побочных эффектов. Высокочастотная хроническая электростимуляция, воздействуя на ключевую «релейную» структуру (Vim-ядро таламуса), работает как «искусственный пейсмейкер» (водитель ритма) мозга, навязывая стимулируемому ядру искусственный паттерн нейронных разрядов и обеспечивая тем самым десинхронизацию патологического ритма в сенсомоторных кругах. Эффективность DBS при ЭТ достигает 80% [29]. Однако инвазивность процедуры создает риски кровотечения и инфекционных осложнений, что наблюдается, примерно, у 5–7% пациентов [30]. Побочные эффекты могут быть также связаны с самой электростимуляцией и проявляться дизартрией, неустойчивостью при ходьбе, парестезиями. Риски развития дизартрии и атаксических расстройств повышаются при двусторонней стимуляции. Кроме того, через несколько лет эффективность контроля тремора снижается, что может быть связано с миграцией отведений, развитием толерантности к электростимуляции, а также прогрессированием заболевания [31]. Дискутируется вопрос о неблагоприятном влиянии DBS на когнитивные функции, а также повышенные риски в отношении тревожно-депрессивных расстройств [29–31]. Для процедуры DBS имеется большое количество противопоказаний, касающихся очаговых, атрофических изменений в мозге, приема антикоагулянтов, а также ограничений по возрасту, что требует тщательного отбора пациентов. Периодически большим, перенесшим подобную операцию, необходимо обращаться в медицинские учреждения для поднастройки режимов стимуляции, а также замены самого электростимулятора через 4–5 лет.

Радиочастотная абляция является инвазивным методом (введение электрода в точку цели) и несмотря на значимый и немедленный эффект в отношении тремора (уменьшение на 56,4–90%), сопряжена с риском внутримозгового кровоизлияния, развитием гемипареза, дизартрии, атаксии, ухудшением когнитивных функций [32].

Таламотомия, выполненная с помощью гамма-ножа, включает в себя использование ионизирующего излучения,

хотя носит неинвазивный характер и проводится без наркоза. Основной минус методики заключается в отсутствии интраоперационной клинической оценки, неустойчивости размера поражения и времени наступления как терапевтического эффекта (в среднем, 4–8 месяцев), так и осложнений [33].

В 2016 г. Управлением по контролю за продуктами питания и лекарствами США (FDA) был одобрен новый хирургический метод лечения ЭТ — деструкция подкорковых структур с использованием ФУЗ-МРТ. В 2017 г. данный метод лечения был одобрен Росздравнадзором в Российской Федерации. В 2019 г. метод ФУЗ-МРТ был включен в доказательный обзор методов лечения ЭТ, опубликованный MDS [26]. Преимущество ФУЗ-МРТ перед другими хирургическими методиками в его неинвазивности, немедленном развитии эффекта, точности воздействия на выбранную мишень и возможности мониторинга температурного воздействия, благодаря выполнению операции под постоянным контролем МРТ. Важной особенностью ФУЗ-МРТ является отсутствие имплантированных устройств у пациента, ионизирующего излучения, необходимости повторных обращений в медучреждения для настройки приборов [34].

Основной мишенью для лечения ЭТ с помощью ФУЗ-МРТ служит Vim-ядро таламуса. Воздействие на стереотаксически выверенную точку-мишень осуществляют с помощью первичного нагревания до 40–45 °С выбранной области (диаметром 2 мм) сфокусированным ультразвуковым воздействием через кости черепа (многократные последовательные короткие соникации из 1024 источников (650 кГц), расположенных вокруг головы). Последующее повышение температуры в целевой зоне вызывает ее абляционное повреждение. Во время процедуры происходит постоянный визуальный и вербальный контакт с пациентом для оценки изменения тремора в процессе воздействия и фиксирования факта появления каких-либо нежелательных эффектов (например, парестезий, дизартрии) после каждой соникации. Параметры каждой последующей соникации могут быть адаптированы к клиническому ответу во время операции. Повышение температуры и продолжительность воздействия ультразвуком проводят до достижения подавления тремора. Появление парестезий или других нежелательных явлений служит основанием для коррекции локализации мишени [35].

Основным препятствием при прохождении УЗ-волны к точке-мишени является кость черепа, поскольку она может как отражать, так и поглощать УЗ-волны, мешая передаче акустической энергии и ослабляя терапевтический эффект ФУЗ-МРТ. Кость черепа состоит из двух компактных пластинок (наружная и внутренняя), разделенных слоем губчатого вещества (также называемой трабекулярным веществом или диплоэ). Коэффициент, оценивающий разрешающую способность прохождения УЗ-волн через кость черепа, принято называть коэффициентом плотности черепа (Skull Density Ratio, SDR). Данный показатель рассчитывают на основании изображений компьютерной томографии головы и он представляет собой медианное соотношение между губчатым и компактным слоями кости черепа интересующей зоны.

Первое открытое исследование с применением ФУЗ-МРТ при ЭТ было проведено в 2013 г., авторы которого сообщили о значительном уменьшении тремора и улучшении качества жизни при небольшом количестве побочных явлений (парестезии, дизартрия,

атаксия), имевших обратимый характер [36]. В 2016 г. были опубликованы результаты многоцентрового рандомизированного слепого исследования с параллельными группами с использованием имитации операции в качестве контроля с исключением 76 пациентов с рефрактерным тремором умеренной и тяжелой степени выраженности. В течение 3 месяцев после проведения односторонней таламотомии выраженность тремора уменьшилась на 47% со статистически достоверной разницей с группой симуляционной процедуры ( $p < 0,001$ ). Уменьшение тремора сопровождалось улучшением повседневного функционирования и качества жизни через 3 месяца после проведения лечения. Через 12 месяцев после операции исследователи отмечали уменьшение выраженности тремора по сравнению с исходным уровнем на 40% и дезадаптации на 62% [37]. Высокая результативность проведенных исследований послужила FDA основанием для одобрения ФУЗ-МРТ для лечения ЭТ. Диапазон уменьшения тремора по результатам проведенных на сегодняшний день исследований составляет 40–90% [34, 38]. Сохранение положительного эффекта в отношении тремора было продемонстрировано в открытом четырехлетнем исследовании и ретроспективном пятилетнем наблюдении [39, 40]. Наиболее частыми нежелательными явлениями после МР-ФУЗ-таламотомии в течение первых недель после операции в этих исследованиях были парестезии и онемение, нарушение устойчивости при ходьбе и легкая контралатеральная мышечная слабость, которые имели тенденцию к регрессу к 3 месяцу после операции. Исчезновение постоперационных неврологических симптомов связывают с уменьшением и постепенным исчезновением перифокального отека.

В 2018 г. был проведен метаанализ результатов и осложнений МР-ФУЗ-таламотомии при лечении ЭТ. В него включено девять исследований, опубликованных с 2013 по 2018 г. с участием 160 пациентов. Головокружение отмечено в качестве наиболее частого интраоперационного осложнения, возникающего в 43,4% случаев, за ним следовали тошнота и рвота (26,85%). Через 3 месяца после проведенной таламотомии наиболее часто выявлялись атаксия (32,8%) и парестезии (25,1%). Через 12 месяцев после операции атаксия регрессировала у большей части больных, и парестезии стали самым частым осложнением (15,3%) [41]. По результатам других исследований, на конец четырехлетнего наблюдения не отмечено никаких остаточных побочных эффектов [42], нарушения ходьбы или онемение сохранялись у 11% пациентов к пятому году наблюдения [39].

Следует отметить, что ФУЗ-МРТ не оказывает негативного воздействия на когнитивные функции [43]. В недавно опубликованном метаанализе дана оценка эффекту таламотомии, выполненной с помощью радиочастотной абляции, гамма-ножа и ФУЗ-МРТ на когнитивные функции. В целом, в обзоре подчеркнута безопасность односторонней таламотомии. Негативный эффект отмечен только в отношении беглости речи, преимущественно снижалось количество фонематических ассоциаций. Отдельно проведенный субанализ в группе МР-ФУЗ не выявил изменения когнитивных функций ни в одной области [44].

Предпринимаются первые попытки по проведению двусторонней таламотомии для лечения ЭТ с помощью ФУЗ-МРТ. Так, в 2014 г. были опубликованы результаты поэтапной таламотомии. Интервал между операциями



составил 12 месяцев и более. Выраженность тремора после второй операции снизилась на 60%, побочные явления возникли у 2,6% пациентов [45]. Безопасность поэтапной двусторонней таламотомии, сопоставимая с односторонней операцией, была продемонстрирована в исследовании BEST-FUS [46]. Среди возможных нежелательных явлений при двусторонних операциях отмечают преходящее нарушение походки, дизартрию, дисфагию, периоральную гипестезию, гемигипестезию, нарушение вкуса. Нежелательные явления носят легкий и умеренный характер и регрессируют в течение 3–6 месяцев [47, 48].

В качестве мишени при двусторонних операциях методом ФУЗ-МРТ служит VIM-ядро таламуса. Вместе с тем появились работы с использованием в качестве целевой точки при ЭТ мозжечково-таламического тракта [34], что снижает риск побочных явлений. В 12-месячном проспективном исследовании было продемонстрировано уменьшение тремора рук на 93% и дезадаптации — на 51% [49].

Метод ФУЗ-МРТ следует рекомендовать пациентам с выраженным инвалидизирующим тремором, нарушающим повседневную активность и резистентному к лекарственной терапии. Противопоказанием к операции являются множественные очаговые изменения в головном мозге, предшествующее вмешательство на головном мозге (DBS, стереотаксические разрушающие операции, электросудорожная терапия), высокий риск кровотечений, противопоказания к проведению высокопольной МРТ, клаустрофобия, психические нарушения, выраженные когнитивные нарушения, декомпенсированное соматическое заболевание, коэффициент плотности черепа (SDR)

$\geq 0,4 \pm 0,05$  (по данным КТ). Надо отметить, что плотность кости черепа имеет относительное противопоказание. За последние два года появились работы, свидетельствующие о технической возможности, безопасности и эффективности ФУЗ-МРТ у пациентов с низкими показателями плотности кости  $\leq 0,4$ . Ограничение числа соникаций, корректировка максимальной энергии воздействия и максимальной температуры обеспечивает стойкий терапевтический эффект [50].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

ЭТ относится к числу наиболее частых неврологических заболеваний, с которым могут встретиться врачи разных специальностей. Несмотря на длительную историю изучения заболевания, многие вопросы этиопатогенеза остаются малоизученными и требуют проведения более масштабных эпидемиологических исследований с патоморфологическим подтверждением. Имеющиеся на сегодняшний день диагностические критерии ЭТ являются клиническими, требуют определенного периода наблюдения за пациентом, что в ряде случаев сопровождается проблемами в повседневной клинической практике. В последние годы наряду с применением симптоматических средств для коррекции тремора, стали расширяться возможности нейрохирургического лечения. Наибольший оптимизм внушают результаты применения такого малоинвазивного метода, как ФУЗ-МРТ, отличающегося высокой эффективностью и безопасностью. Однако мировой и отечественный опыт применения такой методики только накапливается.

## Литература

- Louis ED, Ferreira JJ. How common is the most common adult movement disorder? Update on the worldwide prevalence of essential tremor. *Mov Disord.* 2010; 25 (5): 534–41. DOI: 10.1002/mds.22838. PMID: 20175185.
- Bain PG, Findley LJ, Thompson PD, Gresty MA, Rothwell JC, Harding AE, et al. A study of hereditary essential tremor. *Brain.* 1994; 117 (Pt 4): 805–24. DOI: 10.1093/brain/117.4.805. PMID: 7922467.
- Bhatia KP, Bain P, Bajaj N, Elble RJ, Hallett M, Louis ED, et al. Tremor Task Force of the International Parkinson and Movement Disorder Society. Consensus Statement on the classification of tremors. from the task force on tremor of the International Parkinson and Movement Disorder Society. *Mov Disord.* 2018; 33 (1): 75–87. DOI: 10.1002/mds.27121. Epub 2017 Nov 30. PMID: 29193359; PMCID: PMC6530552.
- Иллариошкин С. Н., Иванова-Смоленская И. А. Дрожательные гиперкинезы: Руководство для врачей. Сер. руководство «Двигательные расстройства». М.: Атмосфера, 2011; 360 с.
- Wider C, Ross OA, Wszolek ZK. Genetics of Parkinson disease and essential tremor. *Curr Opin Neurol.* 2010; 23 (4): 388–93. DOI: 10.1097/WCO.0b013e32833b1f4c. PMID: 20489616; PMCID: PMC3930090.
- Louis ED, Clark LN, Ottman R. Familial versus Sporadic Essential Tremor: What Patterns Can One Decipher in Age of Onset? *Neuroepidemiology.* 2015; 44 (3): 166–72. DOI: 10.1159/000381807. Epub 2015 May 7. PMID: 25967236; PMCID: PMC4764084.
- Stefansson H, Steinberg S, Petursson H, Gustafsson O, Gudjonsson IH, Jonsdottir GA et al. Variant in the sequence of the LINGO1 gene confers risk of essential tremor. *Nat Genet.* 2009; 41 (3): 277–9. DOI: 10.1038/ng.299. Epub 2009 Feb 1. Erratum in: *Nat Genet.* 2009; 41 (4): 504. PMID: 19182806; PMCID: PMC3740956.
- Mi S, Hu B, Hahm K, Luo Y, Kam Hui ES, Yuan Q, et al. LINGO-1 antagonist promotes spinal cord remyelination and axonal integrity in MOG-induced experimental autoimmune encephalomyelitis. *Nat Med.* 2007; 13 (10): 1228–33. DOI: 10.1038/nm1664. Epub 2007 Sep 30. PMID: 17906634.
- Louis ED, Faust PL, Vonsattel JP, Honig LS, Rajput A, Robinson CA, et al. Neuropathological changes in essential tremor: 33 cases compared with 21 controls. *Brain.* 2007; 130 (Pt12): 3297–307. DOI: 10.1093/brain/awm266. Epub 2007 Nov 19. PMID: 18025031.
- Kuo SH, Wang J, Tate WJ, Pan MK, Kelly GC, Gutierrez J, et al. Cerebellar Pathology in Early Onset and Late Onset Essential Tremor. *Cerebellum.* 2017; 16 (2): 473–82. DOI: 10.1007/s12311-016-0826-5. PMID: 27726094; PMCID: PMC5336493.
- Long MA, Deans MR, Paul DL, Connors BW. Rhythmicity without synchrony in the electrically uncoupled inferior olive. *J Neurosci.* 2002; 22 (24): 10898–905. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.22-24-10898.2002. PMID: 12486184; PMCID: PMC2834587.
- Deuschl G, Petersen I, Lorenz D, Christensen K. Tremor in the elderly: Essential and aging-related tremor. *Mov Disord.* 2015; 30 (10): 1327–34. DOI: 10.1002/mds.26265. Epub 2015 Jun 22. PMID: 26095699; PMCID: PMC4779797.
- Mu J, Carden WB, Kurukulasuriya NC, Alexander GM, Godwin DW. Ethanol influences on native T-type calcium current in thalamic sleep circuitry. *J Pharmacol Exp Ther.* 2003; 307 (1): 197–204. DOI: 10.1124/jpet.103.053272. Epub 2003 Jul 31. PMID: 12893844.
- Hedera P. Emerging strategies in the management of essential tremor. *Ther Adv Neurol Disord.* 2017; 10 (2): 137–48. DOI: 10.1177/1756285616679123. Epub 2016 Nov 30. PMID: 28382111; PMCID: PMC5367648.
- Rajalingam R, Breen DP, Lang AE, Fasano A. Essential tremor plus is more common than essential tremor: Insights from

- the reclassification of a cohort of patients with lower limb tremor. *Parkinsonism Relat Disord*. 2018; 56: 109–10. DOI: 10.1016/j.parkreldis.2018.06.029. Epub 2018 Jun 21. PMID: 29958776.
16. Elble RJ. Do We Belittle Essential Tremor by Calling It a Syndrome Rather Than a Disease? No. *Front Neurol*. 2020; 11: 586606. DOI: 10.3389/fneur.2020.586606. PMID: 33101188; PMCID: PMC7554602.
  17. Louis ED, Huey ED, Cosentino S. Features of "ET plus" correlate with age and tremor duration: "ET plus" may be a disease stage rather than a subtype of essential tremor. *Parkinsonism Relat Disord*. 2021; 91: 42–47. DOI: 10.1016/j.parkreldis.2021.08.017. Epub 2021 Sep 1. PMID: 34482193.
  18. Gionco JT, Hartstone WG, Martuscello RT, Kuo SH, Faust PL, Louis ED. Essential Tremor versus "ET-plus": A Detailed Postmortem Study of Cerebellar Pathology. *Cerebellum*. 2021; 20 (6): 904–12. DOI: 10.1007/s12311-021-01263-6. Epub 2021 Mar 25. PMID: 33768479; PMCID: PMC8972074.
  19. Iglesias-Hernandez D, Delgado N, McGurn M, Huey ED, Cosentino S, Louis ED. "ET Plus": Instability of the Diagnosis During Prospective Longitudinal Follow-up of Essential Tremor Cases. *Front Neurol*. 2021; 12: 782694. DOI: 10.3389/fneur.2021.782694. PMID: 34975736; PMCID: PMC8716461.
  20. Erro R, Fasano A, Barone P, Bhatia KP. Milestones in Tremor Research: 10 Years Later. *Mov Disord Clin Pract*. 2022; 9 (4): 429–35. DOI: 10.1002/mdc3.13418. PMID: 35582314; PMCID: PMC9092753.
  21. Benito-León J, Louis ED, Bermejo-Pareja F. Neurological disorders in central Spain study group. Elderly-onset essential tremor is associated with dementia. *Neurology*. 2006; 66 (10): 1500–5. DOI: 10.1212/01.wnl.0000216134.88617.de. PMID: 16717208.
  22. Huang H, Yang X, Zhao Q, Chen Y, Ning P, Shen Q, et al. Prevalence and risk Factors of depression and anxiety in essential tremor patients: a cross-sectional study in Southwest China. *Front Neurol*. 2019; 10: 1194. DOI: 10.3389/fneur.2019.01194. PMID: 31803131; PMCID: PMC6873801.
  23. Hedera P, Cibulčík F, Davis TL. Pharmacotherapy of essential tremor. *J Cent Nerv Syst Dis*. 2013; 5: 43–55. DOI: 10.4137/JCNSD.S6561. PMID: 24385718; PMCID: PMC3873223.
  24. Deuschl G, Raethjen J, Hellriegel H, Elble R. Treatment of patients with essential tremor. *Lancet Neurol*. 2011; 10 (2): 148–61. DOI: 10.1016/S1474-4422(10)70322-7. PMID: 21256454.
  25. Zesiewicz TA, Elble R, Louis ED, Hauser RA, Sullivan KL, Dewey RB Jr, et al. Quality standards subcommittee of the American academy of neurology. Practice parameter: therapies for essential tremor: report of the Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology*. 2005; 64 (12): 2008–20. DOI: 10.1212/01.WNL.0000163769.28552.CD. Epub 2005 Jun 22. PMID: 15972843.
  26. Ferreira JJ, Mestre TA, Lyons KE, Benito-León J, Tan EK, Abbruzzese G, et al. MDS task force on tremor and the MDS evidence based medicine committee. MDS evidence-based review of treatments for essential tremor. *Mov Disord*. 2019; 34 (7): 950–8. DOI: 10.1002/mds.27700. Epub 2019 May 2. PMID: 31046186.
  27. Koller W, Biary N, Cone S. Disability in essential tremor: effect of treatment. *Neurology*. 1986; 36 (7): 1001–4. DOI: 10.1212/wnl.36.7.1001. PMID: 2940473.
  28. Zesiewicz TA, Elble RJ, Louis ED, Gronseth GS, Ondo WG, Dewey RB Jr, et al. Evidence-based guideline update: treatment of essential tremor: report of the Quality Standards subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology*. 2011; 77 (19): 1752–5. DOI: 10.1212/WNL.0b013e318236f0fd. Epub 2011 Oct 19. PMID: 22013182; PMCID: PMC3208950.
  29. Flora ED, Perera CL, Cameron AL, Maddern GJ. Deep brain stimulation for essential tremor: a systematic review. *Mov Disord*. 2010; 25 (11): 1550–9. DOI: 10.1002/mds.23195. PMID: 20623768.
  30. Verla T, Marky A, Farber H, Petraglia FW 3rd, Gallis J, Lohknygina Y, et al. Impact of advancing age on post-operative complications of deep brain stimulation surgery for essential tremor. *J Clin Neurosci*. 2015; 22 (5): 872–6. DOI: 10.1016/j.jocn.2014.11.005. Epub 2015 Feb 7. PMID: 25669119; PMCID: PMC4512238.
  31. Favilla CG, Ullman D, Wagle Shukla A, Foote KD, Jacobson CE 4th, Okun MS. Worsening essential tremor following deep brain stimulation: disease progression versus tolerance. *Brain*. 2012; 135 (Pt 5): 1455–62. DOI: 10.1093/brain/aws026. Epub 2012 Feb 17. PMID: 22344584.
  32. Frighetto L, Bizzi J, Oppitz P. Stereotactic radiosurgery for movement disorders. *Surg Neurol Int*. 2012; 3 (Suppl 1): S10–6. DOI: 10.1007/978-3-642-11151-8\_18.
  33. Agrawal M, Garg K, Samala R, Rajan R, Naik V, Singh M. Outcome and complications of MR guided focused ultrasound for essential tremor: a systematic review and meta-analysis. *Front Neurol*. 2021; 12: 654711. DOI: 10.3389/fneur.2021.654711. PMID: 34025558; PMCID: PMC8137896.
  34. Galloway MN, Moser D, Rossi F, Pourtehrani P, Magara AE, Kowalski M, et al. Incisionless transcranial MR-guided focused ultrasound in essential tremor: cerebellothalamic tractotomy. *J Ther Ultrasound*. 2016; 4: 5. DOI: 10.1186/s40349-016-0049-8. PMID: 26877873; PMCID: PMC4752806.
  35. Титова Н. В., Катунина Е. А., Таирова Р. Т., Сенько И. В., Джафаров В. М., Малыгина Е. А. Фармакорезистентный тремор при болезни Паркинсона и эссенциальном треморе. *Журнал неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова*. 2022; 122 (10): 24–30. DOI: 10.17116/jnevro202212210124. PMID: 36279225.
  36. Elias WJ, Huss D, Voss T, Loomba J, Khaled M, Zadicario E, et al. A pilot study of focused ultrasound thalamotomy for essential tremor. *N Engl J Med*. 2013; 369 (7): 640–8. DOI: 10.1056/NEJMoa1300962. PMID: 23944301.
  37. Elias WJ, Lipsman N, Ondo WG, Ghanouni P, Kim YG, Lee W, et al. A randomized trial of focused ultrasound thalamotomy for essential tremor. *N Engl J Med*. 2016; 375 (8): 730–9. DOI: 10.1056/NEJMoa1600159. PMID: 27557301.
  38. Halpern CH, Santini V, Lipsman N, Lozano AM, Schwartz ML, Shah BB, et al. Three-year follow-up of prospective trial of focused ultrasound thalamotomy for essential tremor. *Neurology*. 2019; 93 (24): e2284-e2293. DOI: 10.1212/WNL.0000000000008561. Epub 2019 Nov 20. PMID: 31748250.
  39. Sinai A, Nassar M, Eran A, Constantinescu M, Zaaroor M, Sprecher E, et al. Magnetic resonance-guided focused ultrasound thalamotomy for essential tremor: a 5-year single-center experience. *J Neurosurg*. 2019: 1–8. DOI: 10.3171/2019.3.JNS19466. Epub ahead of print. PMID: 31277064.
  40. Schreglmann SR, Bauer R, Hägele-Link S, Bhatia KP, Natchev P, Wegener N, et al. Unilateral cerebellothalamic tract ablation in essential tremor by MRI-guided focused ultrasound. *Neurology*. 2017; 88 (14): 1329–33. DOI: 10.1212/WNL.0000000000003795. Epub 2017 Mar 8. PMID: 28275083.
  41. Mohammed N, Patra D, Nanda A. A meta-analysis of outcomes and complications of magnetic resonance-guided focused ultrasound in the treatment of essential tremor. *Neurosurg Focus*. 2018; 44 (2): E4. DOI: 10.3171/2017.11.FOCUS17628. Erratum in: *Neurosurg Focus*. 2018; 45 (1): E16. PMID: 29385917.
  42. Park YS, Jung NY, Na YC, Chang JW. Four-year follow-up results of magnetic resonance-guided focused ultrasound thalamotomy for essential tremor. *Mov Disord*. 2019; 34 (5): 727–34. DOI: 10.1002/mds.27637. Epub 2019 Feb 13. PMID: 30759322.
  43. Gasca-Salas C, Guida P, Piredda R, Obeso I, Vela Desojo L, Martínez-Fernández R, et al. Cognitive safety after unilateral magnetic resonance-guided focused ultrasound thalamotomy for essential tremor. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2019; 90 (7): 830–1. DOI: 10.1136/jnnp-2018-320129. Epub 2019 Mar 8. PMID: 30850471.
  44. Rohringer CR, Sewell IJ, Gandhi S, Isen J, Davidson B, McSweeney M, et al. Cognitive effects of unilateral thalamotomy for tremor: a meta-analysis. *Brain Commun*. 2022; 4 (6): fcac287. DOI: 10.1093/braincomms/fcac287. PMID: 36440102; PMCID: PMC9683603.
  45. Young RF, Hesselgesser RD, Ahn E, Vermeulen S, Li F, Lee J. Bilateral Gamma Knife thalamotomy for treatment of axial tremor. *Transl Cancer Res*. 2014; 3 (6): 525–9. DOI: 10.3978/j.issn.2218-676X.2014.11.01.
  46. Iorio-Morin C, Yamamoto K, Sarica C, Zemmar A, Levesque M, Brisebois S, et al. Bilateral focused ultrasound thalamotomy for essential tremor (BEST-FUS Phase 2 Trial). *Mov Disord*. 2021; 36 (11): 2653–62. DOI: 10.1002/mds.28716. Epub 2021 Jul 20. PMID: 34288097.
  47. Fukutome K, Hirabayashi H, Osakada Y, Kuga Y, Ohnishi H. Bilateral

- magnetic resonance imaging-guided focused ultrasound thalamotomy for essential tremor. *stereotact funct neurosurg*. 2022; 100 (1): 44–52. DOI: 10.1159/000518662. Epub 2021 Sep 7. PMID: 34515233.
48. Scantlebury N, Rohringer CR, Rabin JS, Yunusova Y, Huang Y, Jones RM, et al. Safety of bilateral staged magnetic resonance-guided focused ultrasound thalamotomy for essential tremor. *Mov Disord Clin Pract*. 2023; 10 (10): 1559–61. DOI: 10.1002/mdc3.13882. PMID: 37868927; PMCID: PMC10585969.
49. Gallay MN, Moser D, Jeanmonod D. MR-guided focused ultrasound cerebellothalamic tractotomy for chronic therapy-resistant essential tremor: anatomical target reappraisal and clinical results. *J Neurosurg*. 2020; 134 (2): 376–85. DOI: 10.3171/2019.12.JNS192219. PMID: 32032945.
50. Vetkas A, Boutet A, Sarica C, Germann J, Gwun D, Yamamoto K, et al. Successful magnetic resonance-guided focused ultrasound treatment of tremor in patients with a skull density ratio of 0.4 or less. *J Neurosurg*. 2023; 1: 1–9. DOI: 10.3171/2023.6.JNS23171. Epub ahead of print. PMID: 37657095.

## References

- Louis ED, Ferreira JJ. How common is the most common adult movement disorder? Update on the worldwide prevalence of essential tremor. *Mov Disord*. 2010; 25 (5): 534–41. DOI: 10.1002/mds.22838. PMID: 20175185.
- Bain PG, Findley LJ, Thompson PD, Gresty MA, Rothwell JC, Harding AE, et al. A study of hereditary essential tremor. *Brain*. 1994; 117 (Pt 4): 805–24. DOI: 10.1093/brain/117.4.805. PMID: 7922467.
- Bhatia KP, Bain P, Bajaj N, Elble RJ, Hallett M, Louis ED, et al. Tremor Task Force of the International Parkinson and Movement Disorder Society. Consensus Statement on the classification of tremors. from the task force on tremor of the International Parkinson and Movement Disorder Society. *Mov Disord*. 2018; 33 (1): 75–87. DOI: 10.1002/mds.27121. Epub 2017 Nov 30. PMID: 29193359; PMCID: PMC6530552.
- Illarionovskiy SN, Ivanova-Smolenskaja IA. Drozhatel'nye giperkinezy: Rukovodstvo dlja vrachej. Ser. rukovodstv «Dvigatel'nye rasstrojstva». M.: Atmosfera, 2011; 360 s. Russian.
- Wider C, Ross OA, Wszolek ZK. Genetics of Parkinson disease and essential tremor. *Curr Opin Neurol*. 2010; 23 (4): 388–93. DOI: 10.1097/WCO.0b013e32833b1f4c. PMID: 20489616; PMCID: PMC3930090.
- Louis ED, Clark LN, Ottman R. Familial versus Sporadic Essential Tremor: What Patterns Can One Decipher in Age of Onset? *Neuroepidemiology*. 2015; 44 (3): 166–72. DOI: 10.1159/000381807. Epub 2015 May 7. PMID: 25967236; PMCID: PMC4764084.
- Stefansson H, Steinberg S, Petursson H, Gustafsson O, Gudjonsson IH, Jonsdottir GA et al. Variant in the sequence of the LINGO1 gene confers risk of essential tremor. *Nat Genet*. 2009; 41 (3): 277–9. DOI: 10.1038/ng.299. Epub 2009 Feb 1. Erratum in: *Nat Genet*. 2009; 41 (4): 504. PMID: 19182806; PMCID: PMC3740956.
- Mi S, Hu B, Hahn K, Luo Y, Kam Hui ES, Yuan Q, et al. LINGO-1 antagonist promotes spinal cord remyelination and axonal integrity in MOG-induced experimental autoimmune encephalomyelitis. *Nat Med*. 2007; 13 (10): 1228–33. DOI: 10.1038/nm1664. Epub 2007 Sep 30. PMID: 17906634.
- Louis ED, Faust PL, Vonsattel JP, Honig LS, Rajput A, Robinson CA, et al. Neuropathological changes in essential tremor: 33 cases compared with 21 controls. *Brain*. 2007; 130 (Pt12): 3297–307. DOI: 10.1093/brain/awm266. Epub 2007 Nov 19. PMID: 18025031.
- Kuo SH, Wang J, Tate WJ, Pan MK, Kelly GC, Gutierrez J, et al. Cerebellar Pathology in Early Onset and Late Onset Essential Tremor. *Cerebellum*. 2017; 16 (2): 473–82. DOI: 10.1007/s12311-016-0826-5. PMID: 27726094; PMCID: PMC5336493.
- Long MA, Deans MR, Paul DL, Connors BW. Rhythmicity without synchrony in the electrically uncoupled inferior olive. *J Neurosci*. 2002; 22 (24): 10898–905. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.22-24-10898.2002. PMID: 12486184; PMCID: PMC2834587.
- Deuschl G, Petersen I, Lorenz D, Christensen K. Tremor in the elderly: Essential and aging-related tremor. *Mov Disord*. 2015; 30 (10): 1327–34. DOI: 10.1002/mds.26265. Epub 2015 Jun 22. PMID: 26095699; PMCID: PMC4779797.
- Mu J, Carden WB, Kurukulasuriya NC, Alexander GM, Godwin DW. Ethanol influences on native T-type calcium current in thalamic sleep circuitry. *J Pharmacol Exp Ther*. 2003; 307 (1): 197–204. DOI: 10.1124/jpet.103.053272. Epub 2003 Jul 31. PMID: 12893844.
- Hedera P. Emerging strategies in the management of essential tremor. *Ther Adv Neurol Disord*. 2017; 10 (2): 137–48. DOI: 10.1177/1756285616679123. Epub 2016 Nov 30. PMID: 28382111; PMCID: PMC5367648.
- Rajalingam R, Breen DP, Lang AE, Fasano A. Essential tremor plus is more common than essential tremor: Insights from the reclassification of a cohort of patients with lower limb tremor. *Parkinsonism Relat Disord*. 2018; 56: 109–10. DOI: 10.1016/j.parkreldis.2018.06.029. Epub 2018 Jun 21. PMID: 29958776.
- Elble RJ. Do We Belittle Essential Tremor by Calling It a Syndrome Rather Than a Disease? No. *Front Neurol*. 2020; 11: 586606. DOI: 10.3389/fneur.2020.586606. PMID: 33101188; PMCID: PMC7554602.
- Louis ED, Huey ED, Cosentino S. Features of "ET plus" correlate with age and tremor duration: "ET plus" may be a disease stage rather than a subtype of essential tremor. *Parkinsonism Relat Disord*. 2021; 91: 42–47. DOI: 10.1016/j.parkreldis.2021.08.017. Epub 2021 Sep 1. PMID: 34482193.
- Gionco JT, Hartstone WG, Martuscello RT, Kuo SH, Faust PL, Louis ED. Essential Tremor versus "ET-plus": A Detailed Postmortem Study of Cerebellar Pathology. *Cerebellum*. 2021; 20 (6): 904–12. DOI: 10.1007/s12311-021-01263-6. Epub 2021 Mar 25. PMID: 33768479; PMCID: PMC8972074.
- Iglesias-Hernandez D, Delgado N, McGurn M, Huey ED, Cosentino S, Louis ED. "ET Plus": Instability of the Diagnosis During Prospective Longitudinal Follow-up of Essential Tremor Cases. *Front Neurol*. 2021; 12: 782694. DOI: 10.3389/fneur.2021.782694. PMID: 34975736; PMCID: PMC8716461.
- Erro R, Fasano A, Barone P, Bhatia KP. Milestones in Tremor Research: 10 Years Later. *Mov Disord Clin Pract*. 2022; 9 (4): 429–35. DOI: 10.1002/mdc3.13418. PMID: 35582314; PMCID: PMC9092753.
- Benito-León J, Louis ED, Bermejo-Pareja F. Neurological disorders in central Spain study group. Elderly-onset essential tremor is associated with dementia. *Neurology*. 2006; 66 (10): 1500–5. DOI: 10.1212/01.wnl.0000216134.88617.de. PMID: 16717208.
- Huang H, Yang X, Zhao Q, Chen Y, Ning P, Shen Q, et al. Prevalence and risk Factors of depression and anxiety in essential tremor patients: a cross-sectional study in Southwest China. *Front Neurol*. 2019; 10: 1194. DOI: 10.3389/fneur.2019.01194. PMID: 31803131; PMCID: PMC6873801.
- Hedera P, Cibulčík F, Davis TL. Pharmacotherapy of essential tremor. *J Cent Nerv Syst Dis*. 2013; 5: 43–55. DOI: 10.4137/JCNSD.S6561. PMID: 24385718; PMCID: PMC3873223.
- Deuschl G, Raethjen J, Hellriegel H, Elble R. Treatment of patients with essential tremor. *Lancet Neurol*. 2011; 10 (2): 148–61. DOI: 10.1016/S1474-4422(10)70322-7. PMID: 21256454.
- Zesiewicz TA, Elble R, Louis ED, Hauser RA, Sullivan KL, Dewey RB Jr, et al. Quality standards subcommittee of the American academy of neurology. Practice parameter: therapies for essential tremor: report of the Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology*. 2005; 64 (12): 2008–20. DOI: 10.1212/01.WNL.0000163769.28552.CD. Epub 2005 Jun 22. PMID: 15972843.
- Ferreira JJ, Mestre TA, Lyons KE, Benito-León J, Tan EK, Abbruzzese G, et al. MDS task force on tremor and the MDS evidence based medicine committee. MDS evidence-based review of treatments for essential tremor. *Mov Disord*. 2019; 34 (7): 950–8. DOI: 10.1002/mds.27700. Epub 2019 May 2. PMID: 31046186.



27. Koller W, Biary N, Cone S. Disability in essential tremor: effect of treatment. *Neurology*. 1986; 36 (7): 1001–4. DOI: 10.1212/wnl.36.7.1001. PMID: 2940473.
28. Zesiewicz TA, Elble RJ, Louis ED, Gronseth GS, Ondo WG, Dewey RB Jr, et al. Evidence-based guideline update: treatment of essential tremor: report of the Quality Standards subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology*. 2011; 77 (19): 1752–5. DOI: 10.1212/WNL.0b013e318236f0fd. Epub 2011 Oct 19. PMID: 22013182; PMCID: PMC3208950.
29. Flora ED, Perera CL, Cameron AL, Maddern GJ. Deep brain stimulation for essential tremor: a systematic review. *Mov Disord*. 2010; 25 (11): 1550–9. DOI: 10.1002/mds.23195. PMID: 20623768.
30. Verla T, Marky A, Farber H, Petraglia FW 3rd, Gallis J, Lohknygina Y, et al. Impact of advancing age on post-operative complications of deep brain stimulation surgery for essential tremor. *J Clin Neurosci*. 2015; 22 (5): 872–6. DOI: 10.1016/j.jocn.2014.11.005. Epub 2015 Feb 7. PMID: 25669119; PMCID: PMC4512238.
31. Favilla CG, Ullman D, Wagle Shukla A, Foote KD, Jacobson CE 4th, Okun MS. Worsening essential tremor following deep brain stimulation: disease progression versus tolerance. *Brain*. 2012; 135 (Pt 5): 1455–62. DOI: 10.1093/brain/awt026. Epub 2012 Feb 17. PMID: 22344584.
32. Frighetto L, Bizzi J, Oppitz P. Stereotactic radiosurgery for movement disorders. *Surg Neurol Int*. 2012; 3 (Suppl 1): S10–6. DOI: 10.1007/978-3-642-11151-8\_18.
33. Agrawal M, Garg K, Samala R, Rajan R, Naik V, Singh M. Outcome and complications of MR guided focused ultrasound for essential tremor: a systematic review and meta-analysis. *Front Neurol*. 2021; 12: 654711. DOI: 10.3389/fneur.2021.654711. PMID: 34025558; PMCID: PMC8137896.
34. Gallay MN, Moser D, Rossi F, Pourtehrani P, Magara AE, Kowalski M, et al. Incisionless transcranial MR-guided focused ultrasound in essential tremor: cerebellothalamic tractotomy. *J Ther Ultrasound*. 2016; 4: 5. DOI: 10.1186/s40349-016-0049-8. PMID: 26877873; PMCID: PMC4752806.
35. Titova NV, Katunina EA, Tairova RT, Senko IV, Dzhaifarov VM, Malyhina EA. Farmakorezistentnyj tremor pri bolezni Parkinsona i jessencial'nom tremore. *Zhurnal nevrologii i psichiatrii im. S. S. Korsakova*. 2022; 122 (10): 24–30. DOI: 10.17116/jnevro202212210124. PMID: 36279225. Russian.
36. Elias WJ, Huss D, Voss T, Loomba J, Khaled M, Zadicario E, et al. A pilot study of focused ultrasound thalamotomy for essential tremor. *N Engl J Med*. 2013; 369 (7): 640–8. DOI: 10.1056/NEJMoa1300962. PMID: 23944301.
37. Elias WJ, Lipsman N, Ondo WG, Ghanouni P, Kim YG, Lee W, et al. A randomized trial of focused ultrasound thalamotomy for essential tremor. *N Engl J Med*. 2016; 375 (8): 730–9. DOI: 10.1056/NEJMoa1600159. PMID: 27557301.
38. Halpern CH, Santini V, Lipsman N, Lozano AM, Schwartz ML, Shah BB, et al. Three-year follow-up of prospective trial of focused ultrasound thalamotomy for essential tremor. *Neurology*. 2019; 93 (24): e2284–e2293. DOI: 10.1212/WNL.0000000000008561. Epub 2019 Nov 20. PMID: 31748250.
39. Sinai A, Nassar M, Eran A, Constantinescu M, Zaaroor M, Sprecher E, et al. Magnetic resonance-guided focused ultrasound thalamotomy for essential tremor: a 5-year single-center experience. *J Neurosurg*. 2019; 1–8. DOI: 10.3171/2019.3.JNS19466. Epub ahead of print. PMID: 31277064.
40. Schreglmann SR, Bauer R, Hägele-Link S, Bhatia KP, Natchev P, Wegener N, et al. Unilateral cerebellothalamic tract ablation in essential tremor by MRI-guided focused ultrasound. *Neurology*. 2017; 88 (14): 1329–33. DOI: 10.1212/WNL.0000000000003795. Epub 2017 Mar 8. PMID: 28275083.
41. Mohammed N, Patra D, Nanda A. A meta-analysis of outcomes and complications of magnetic resonance-guided focused ultrasound in the treatment of essential tremor. *Neurosurg Focus*. 2018; 44 (2): E4. DOI: 10.3171/2017.11.FOCUS17628. Erratum in: *Neurosurg Focus*. 2018; 45 (1): E16. PMID: 29385917.
42. Park YS, Jung NY, Na YC, Chang JW. Four-year follow-up results of magnetic resonance-guided focused ultrasound thalamotomy for essential tremor. *Mov Disord*. 2019; 34 (5): 727–34. DOI: 10.1002/mds.27637. Epub 2019 Feb 13. PMID: 30759322.
43. Gasca-Salas C, Guida P, Piredda R, Obeso I, Vela Desojo L, Martínez-Fernández R, et al. Cognitive safety after unilateral magnetic resonance-guided focused ultrasound thalamotomy for essential tremor. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2019; 90 (7): 830–1. DOI: 10.1136/jnnp-2018-320129. Epub 2019 Mar 8. PMID: 30850471.
44. Rohringer CR, Sewell IJ, Gandhi S, Isen J, Davidson B, McSweeney M, et al. Cognitive effects of unilateral thalamotomy for tremor: a meta-analysis. *Brain Commun*. 2022; 4 (6): fcac287. DOI: 10.1093/braincomms/fcac287. PMID: 36440102; PMCID: PMC9683603.
45. Young RF, Hesselgesser RD, Ahn E, Vermeulen S, Li F, Lee J. Bilateral Gamma Knife thalamotomy for treatment of axial tremor. *Transl Cancer Res*. 2014; 3 (6): 525–9. DOI: 10.3978/j.issn.2218-676X.2014.11.01.
46. Iorio-Morin C, Yamamoto K, Sarica C, Zemmar A, Levesque M, Brisebois S, et al. Bilateral focused ultrasound thalamotomy for essential tremor (BEST-FUS Phase 2 Trial). *Mov Disord*. 2021; 36 (11): 2653–62. DOI: 10.1002/mds.28716. Epub 2021 Jul 20. PMID: 34288097.
47. Fukutome K, Hirabayashi H, Osakada Y, Kuga Y, Ohnishi H. Bilateral magnetic resonance imaging-guided focused ultrasound thalamotomy for essential tremor. *stereotact funct neurosurg*. 2022; 100 (1): 44–52. DOI: 10.1159/000518662. Epub 2021 Sep 7. PMID: 34515233.
48. Scantlebury N, Rohringer CR, Rabin JS, Yunusova Y, Huang Y, Jones RM, et al. Safety of bilateral staged magnetic resonance-guided focused ultrasound thalamotomy for essential tremor. *Mov Disord Clin Pract*. 2023; 10 (10): 1559–61. DOI: 10.1002/mdc3.13882. PMID: 37868927; PMCID: PMC10585969.
49. Gallay MN, Moser D, Jeanmonod D. MR-guided focused ultrasound cerebellothalamic tractotomy for chronic therapy-resistant essential tremor: anatomical target reappraisal and clinical results. *J Neurosurg*. 2020; 134 (2): 376–85. DOI: 10.3171/2019.12.JNS192219. PMID: 32032945.
50. Vetkas A, Boutet A, Sarica C, Germann J, Gwun D, Yamamoto K, et al. Successful magnetic resonance-guided focused ultrasound treatment of tremor in patients with a skull density ratio of 0.4 or less. *J Neurosurg*. 2023; 1: 1–9. DOI: 10.3171/2023.6.JNS23171. Epub ahead of print. PMID: 37657095.



**IN VITRO** ОЦЕНКА ИММУНОГЕННОСТИ ХОНДРОЦИТОВ, ПОЛУЧЕННЫХ ИЗ ИНДУЦИРОВАННЫХ ПЛЮРИПОТЕНТНЫХ СТЕЛОВЫХ КЛЕТОК С НОКАУТОМ В2МА. А. Баринава<sup>1</sup>✉, А. С. Пикина<sup>1</sup>, П. А. Голубинская<sup>1</sup>, Е. С. Ручко<sup>2</sup>, А. В. Еремеев<sup>1,2</sup><sup>1</sup> Федеральное научно-клиническое центр физико-химической медицины имени Ю. М. Лопухина Федерального медико-биологического агентства, Москва, Россия<sup>2</sup> Институт биологии развития имени Н. К. Кольцова, Москва, Россия

В настоящее время клеточные технологии являются одним из инструментов по восстановлению хрящевой ткани. Создание универсального гипоиimmunогенного трансплантата хрящевой ткани из дифференцированных производных индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (ИПСК) могло бы решить проблему нехватки хрящевого клеточного продукта. Однако на сегодняшний день мало данных об иммуногенности таких тканеинженерных препаратов. Целью работы было создать хрящевой имплант из дифференцированных производных ИПСК, дефицитных по В2М, и оценить его иммуногенность. С помощью ранее разработанного протокола дифференцировали ИПСК как дикого типа, так и с нокаутом В2М в хондроцитарные производные. После проверки качества полученных линий методом полимеразной цепной реакции и иммуноцитохимическим исследованием кокультивировали полученные линии с мононуклеарными клетками периферической крови здорового донора. По окончании кокультивации методом проточной цитометрии оценивали активацию и дегрануляцию CD8<sup>+</sup>-Т-лимфоцитов по экспрессии CD69 и CD107a на поверхности клеток соответственно. Хондроцитарные производные ИПСК экспрессировали маркеры хрящевой ткани. Цитометрический анализ не выявил существенных различий между иммуногенностью хондроцитарных производных ИПСК с нокаутом и без нокаута В2М, а также клетками хрящевой ткани здорового донора. Иммуногенность хондроцитарных производных была выше, чем у гипоиimmunогенных неотредактированных ИПСК. Нокаутированные по В2М ИПСК демонстрировали тенденцию к большей активации CD8<sup>+</sup>-Т-лимфоцитов. Таким образом, нокаут В2М в хондроцитарных производных ИПСК не оказал существенного влияния на иммуногенность ткани. Необходимо дополнительное редактирование генов, кодирующих МНС II и CD47, для получения менее иммуногенного продукта.

**Ключевые слова:** ИПСК, регенеративная медицина, хондрогенез, хондроциты, иммуногенность**Финансирование:** получение хондроцитарных производных из ИПСК выполнено в рамках государственного задания №122032300191-2 «Органоид-22». Иммуноцитохимический и ПЦР-анализы экспрессии хондрогенных маркеров в хондроцитарных производных ИПСК, а также оценка иммуногенности этих хондроцитарных производных проводились в рамках проекта РНФ #22-15-00250 «Сравнение хондрогенного потенциала хрящевой ткани, полученной с помощью первичных культур хондроцитов и дифференцированных производных индуцированных плюрипотентных стволовых клеток».**Благодарности:** М. Богомяковой, Л. Беликовой из лаборатории клеточной биологии ФНКЦ ФХМ имени Ю. М. Лопухина ФМБА России за помощь в планировании и проведении эксперимента.**Вклад авторов:** А. А. Баринава — проведение иммунологических тестов, подготовка и написание статьи, поиск литературы; А. С. Пикина — получение хондроцитов пациента и дифференцировка ИПСК в хондроцитарные производные, проведение ИЦХ; П. А. Голубинская — поиск литературы; Е. С. Ручко — проведение ПЦР; А. В. Еремеев — редактирование статьи.**Соблюдение этических стандартов:** исследование одобрено этическим комитетом ФНКЦ ФХМ (протокол № 2019/02 от 09 апреля 2019 г.).✉ **Для корреспонденции:** Анна Александровна Баринава  
ул. Малая Пироговская, д. 1а, 119435, г. Москва, Россия; barinova.anna.al@mail.ru**Статья получена:** 15.11.2023 **Статья принята к печати:** 15.01.2024 **Опубликована онлайн:** 05.02.2024**DOI:** 10.47183/mes.2024.001**IN VITRO** ASSESSMENT OF IMMUNOGENICITY IN CHONDROCYTES OBTAINED FROM THE B2M KNOCKOUT INDUCED PLURIPOTENT STEM CELLSBarinova AA<sup>1</sup>✉, Pikina AS<sup>1</sup>, Golubinskaya PA<sup>1</sup>, Ruchko ES<sup>2</sup>, Ereemeev AV<sup>1,2</sup><sup>1</sup> Lopukhin Federal Research and Clinical Center of Physical-Chemical Medicine of Federal Medical Biological Agency, Moscow, Russia<sup>2</sup> Koltzov Institute of Developmental Biology of Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

Today, the cell-based technologies are one of the instruments used for the cartilage tissue repair. Creation of a universal hypoiimmunogenic cartilage tissue graft from the differentiated derivatives of induced pluripotent stem cells (iPSCs) might solve the problem of the lack of the cartilage cell product. However, currently there is little data on immunogenicity of such tissue-engineered preparations. The study was aimed to create a cartilage implant from the differentiated derivatives of the B2M-deficient iPSCs and assess its immunogenicity. The previously developed protocol was used to ensure differentiation of both wild-type and B2M knockout iPSCs into chondrocyte-like cells. After quality control of the resulting cell lines by conducting polymerase chain reaction and immunocytochemical assessment, the resulting cell lines were co-cultured with the peripheral blood mononuclear cells of a healthy donor. When co-cultivation was over, activation and degranulation of CD8<sup>+</sup> T cells was assessed by flow cytometry analysis based on the CD69 and CD107a expression on the cell surface, respectively. The iPSC-derived chondrocytes expressed the cartilage tissue markers. Flow cytometry analysis revealed no substantial differences in immunogenicity between the derivatives of wild-type and B2M knockout iPSCs, as well as from the cartilage tissue cells of a healthy donor. Immunogenicity of chondrocyte-like cells was higher than that of hypoiimmunogenic non-edited iPSCs. The B2M knockout iPSCs demonstrated a trend towards greater activation of CD8<sup>+</sup> T cells. Thus, the B2M knockout in the iPSC-derived chondrocytes had no significant effect on the tissue immunogenicity. It is necessary to further edit the genes encoding MHC II and CD47 to obtain a less immunogenic product.

**Keywords:** iPSCs, regenerative medicine, chondrogenesis, chondrocytes, immunogenicity**Funding:** chondrocyte-like cells were obtained from iPSCs within the framework of the State Assignment #122032300191-2 "Organoid-22". Immunocytochemical and PCR-based assessment of chondrogenic markers in the iPSC-derived chondrocytes, as well as assessment of immunogenicity of these chondrocyte-like cells were conducted within the framework of the RSF project #22-15-00250 "Comparison of chondrogenic potential of the cartilage tissue obtained using primary chondrocyte culture and using differentiated derivatives of induced pluripotent stem cells".**Acknowledgements:** the authors express their gratitude to M. Bogomyakova, L. Belikova, Laboratory of Cell Biology, Lopukhin Federal Research and Clinical Center of Physical-Chemical Medicine of FMBA of Russia, for assistance in planning and conducting the experiment.**Author contribution:** Barinova AA — immunological tests, manuscript preparation and writing, search for literature; Pikina AS — collecting chondrocytes from the patient and iPSC differentiation into chondrocyte-like cells, immunohistochemistry; Golubinskaya PA — search for literature; Ruchko ES — conducting PCR; Ereemeev AV — manuscript editing.**Compliance with ethical standards:** the study was approved by the Ethics Committee of the Lopukhin Federal Research and Clinical Center of Physical-Chemical Medicine of FMBA of Russia (protocol № 2019/02 dated 09 April 2019).✉ **Correspondence should be addressed:** Anna A. Barinova  
Malaya Pirogovskaya, 1a, 119435, Moscow, Russia; barinova.anna.al@mail.ru**Received:** 15.11.2023 **Accepted:** 15.01.2024 **Published online:** 05.02.2024**DOI:** 10.47183/mes.2024.001

Восстановление хрящевой ткани с помощью клеточных или тканеинженерных продуктов является важной медицинской задачей вследствие распространенности воспалительно-дегенеративных процессов с вовлечением поверхностных слоев костной и хрящевой ткани. Наиболее часто в мире встречается патология хрящевой ткани — гонартроз. Это полиэтиологическое дегенеративно-дистрофическое заболевание характеризуется поражением суставного хряща, субхондрального и метафизарного слоя кости, а также синовиальной оболочки, связок, капсулы и мышц и сопровождается формированием костно-хрящевых разрастаний, что проявляется болью и ограничением движений в суставе. В России ежегодно выявляют около 80 000 случаев гонартроза. Согласно данным эпидемиологических исследований, этой патологией страдают 8–20% взрослого населения в зависимости от региона [1].

Гонартроз прогрессирует годами, и на разных стадиях заболевания применяют различные подходы в лечении. В соответствии с отечественными клиническими рекомендациями, на ранних этапах заболевания рекомендуют неинвазивную терапию, сочетающую фармакологические и физиотерапевтические методы [2]. Стоит отметить, что фармакологическая составляющая терапии, включающая в себя применение противовоспалительных нестероидных (НПВП) и стероидных препаратов (кратким курсом), носит симптоматический характер и практически не влияет на регенерацию и функциональную активность гиалинового хряща. На более поздних этапах заболевания, при неэффективности неинвазивной терапии и значительных повреждениях хрящевой ткани, появляется необходимость в хирургическом вмешательстве, включающем в себя абразивную хондропластику, корригирующую остеотомию и эндопротезирование сустава [3].

Использование клеточных продуктов для восстановления поврежденной хрящевой ткани стало новым направлением регенеративной медицины. Источником клеток в подобных случаях могут служить мезенхимные стволовые клетки (МСК), аутологичные и аллогенные хондроциты.

Несмотря на то что клеточные продукты на основе аутологичных хондроцитов для восстановления хрящевой ткани уже присутствуют на медицинском и биотехнологическом рынках, они имеют ряд ограничений. Во-первых, пока они больше направлены на коррекцию незначительных повреждений суставных хрящей [4, 5]. Во-вторых, часто в силу ряда причин невозможно получить в достаточном количестве аутологичные хондроциты для создания полноценного хрящевого импланта [2]. В-третьих, при некоторых патологиях хрящевой ткани аутологичный клеточный материал дает хондроциты со сниженной функциональностью, что требует длительного культивирования клеток для наработки необходимого количества материала [6, 7]. В этой связи индуцированные плюрипотентные стволовые клетки (ИПСК) — многообещающий и емкий источник для получения хондроцитарных производных, однако данные об их безопасности и способности формировать полноценную, функционально активную хрящевую ткань достаточно ограничены, а сведения об иммуногенности противоречивы [8, 9]. К тому же получение ИПСК и их последующая дифференцировка и создание трансплантата — это длительный и дорогостоящий процесс, который нуждается в оптимизации и стандартизации. В

литературе есть данные об успешном приживлении в суставном хряще обезьян ИПСК, дифференцированных в хондрогенном направлении. Однако размеры дефекта хрящевой ткани были небольшими, поэтому необходимы дальнейшие исследования на других моделях. Что касается исследования иммуногенности, трансплантат при посадке в хрящевые дефекты через четыре недели не вызывал иммунной реакции у макаков, в то время как в костно-хрящевых дефектах трансплантат, хотя и оставался интактным, был окружен большим скоплением CD3<sup>+</sup>-Т-лимфоцитов [10].

Перспективным подходом представляется создание и применение хрящевых трансплантатов на основе аллогенных дифференцированных в хондроциты ИПСК с пониженной иммуногенностью, универсальных для всех реципиентов. Ряд исследований показывает успешное создание гипоиммуногенных трансплантатов на основе ИПСК с нокаутом главного комплекса гистосовместимости [11, 12]. Показано, что аллогенный хрящевой трансплантат, полученный из нокаутированных по В2М ИПСК, *in vivo* способствует накоплению натуральных киллеров вокруг костно-хрящевого дефекта [13]. Тем не менее, для хондроцитарных производных человека такие данные еще предстоит получить.

Целью исследования было сравнить иммуногенность образцов тканеинженерных препаратов хрящевой ткани, полученных *in vitro* из различных клеточных источников.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### Культивирование линий ИПСК с нокаутом и без нокаута В2М

ИПСК (далее — iPS) культивировали, как описано ранее [14]. Линия iPS с нокаутом В2М (iPS\_dB2M) была получена ранее [15].

### Дифференцировка хондроцитарных производных из ИПСК

Размороженные iPS и iPS\_dB2M (для получения хондроцитарных производных без нокаута (iCh) и с нокаутом В2М (iCh\_dB2M) соответственно) были посеяны в шестиугольные планшеты, предварительно обработанные Matrigel (Corning; США), в среде mTeSR1 (STEMCELL Technologies; Канада). Культивировали в CO<sub>2</sub>-инкубаторах при +37 °C и 5% CO<sub>2</sub> до достижения монослоя. Все дальнейшие инкубации тоже проводили в CO<sub>2</sub>-инкубаторах при +37 °C и 5% CO<sub>2</sub>. Переводили в среду ДМЕМ/Ф12 (Gibco; США) с добавлением 10% FBS (HiMedia; Индия), 1% GlutaMAX (Gibco; США), 1% пенициллина/стрептомицина («ПанЭко»; Россия), Chir 10 мкМ (Miltenyi Biotec; США), ретиноевой кислоты 10 нМ (Miltenyi Biotec; США). Культивировали в течение 2 дней. Далее среду заменяли на ДМЕМ/Ф12 с 10% FBS, 1% GlutaMax, 1% пенициллина/стрептомицина, TGFβ 10 нг/мл (Miltenyi Biotec; США), BMP2 10 нг/мл (Miltenyi Biotec; США), B27 (Miltenyi Biotec; США), аскорбиновой кислоты 10 мкМ (Sigma; США), инсулин-трансферрин-селенита 1% («ПанЭко»; Россия). Культивировали в течение двух недель. Далее клетки пересаживали на две лунки шестиугольного планшета. После дифференцировки клетки культивировали в среде ДМЕМ/Ф12 с 10% FBS, 1% GlutaMax, 1% пенициллина/стрептомицин, TGFβ 10 нг/мл, BMP2 10 нг/мл.

### Контроль качества полученных из ИПСК хондроцитарных производных. Иммуноцитохимический анализ

Фиксированные 4%-м параформальдегидом (PFA) монослойные культуры обрабатывали 0,1% раствором Triton-X100: для окрашивания на ядерный маркер — в течение 20 мин, поверхностные и цитоплазматические — 10 мин. После пермеабилзации культуры обрабатывали блокирующим раствором на основе 0,01M PBS с 3% козьей сыворотки и 0,1% Tween в течение 30 мин.

Монослойные культуры окрашивали первичными антителами к ядерному маркеру хондрогенеза Sox 9 (Rabbit, 1 : 400; Invitrogen, США), к маркеру протеогликанового хрящевого внеклеточного матрикса агрекану (Mouse, 1 : 500; Invitrogen, США), маркеру фибриллярного внеклеточного матрикса гиалинового хряща коллагену II типа (Rabbit, 1 : 200; Abcam, Великобритания) и маркеру волокнистого хряща коллагену I типа (Rabbit, 1:800, Invitrogen, США). Окрашивали растворами первичных антител на основе блокирующего раствора в течение 1,5 ч при комнатной температуре. Затем культуры 3 раза отмывали 0,01 M раствором PBS.

Для окрашивания вторичными антителами использовали Alexa Fluor 555 (Goat, Anti-Rabbit, 1 : 500) и Alexa Fluor 546 (Goat, Anti-Human, 1:500) (Invitrogen; США). Окрашивание проводили в течение 1 ч в темноте. Затем культуры 3 раза отмывали 0,01 M раствором PBS. Для окрашивания ядер использовали 100 нг/мл DAPI (Sigma Aldrich; США). Окрашивание проводили в течение 15 мин, затем культуры 3 раза отмывали 0,01 M раствором PBS.

Анализ окрашенных препаратов проводили на флуоресцентном микроскопе Olympus IX53F с четырьмя фильтрами флуоресценции (Olympus; Япония), используя программное обеспечение для морфометрии Olympus cellSens Standard (Olympus; Япония).

### Полимеразная цепная реакция

Для ПЦР-анализа экспрессии лизировали 1 млн клеток в буфере RLT (QIAGEN; Германия). РНК выделяли с помощью набора RNeasy Plus Mini Kit (QIAGEN; Германия) в соответствии с протоколом производителя. Измерение концентрации тотальной РНК в образце проводили с использованием многорежимного ридера Infinite 200 Pro (Tecan; Швейцария) и программного обеспечения I-control. Для синтеза первой цепи кДНК с матрицы РНК использовали MMLV RT kit («Евроген»; Россия). Синтез проводили в соответствии с протоколом производителя. Для проведения ПЦР в реальном времени на одну лунку

**Таблица.** Используемые в работе праймеры

Название гена	Последовательность 5'→3'	Длина продукта, п.о.
SOX9	F: GAAGTCGGTGAAGAACGGGC R: CACGTCGCGGAAGTCGATAG	283
ACAN	F: AGGAGTCCCTGACCTGGTTT R: CCTGACAGATCTGCCTCTCC	167
COL1A2	F: AGGGTGAGACAGGCGAACA R: CCGTTGAGTCCATCTTTGC	184
COL2A1	F: TGGACGCCATGAAGGTTTTCT R: CCATTGATGGTTTCTCCAAACC	142
YWHAZ	F: ACTTTTGGTACATTGTGGCTTCAA R: CCGCCAGGACAACCAGTAT	94

96-луночного планшета (SIBio, Scientific Specialities; США) добавляли 5 мкл 5x qPCRmix-HS SYBR («Евроген»; Россия), 0,8 мкл 10 мкМ праймера (таблица), 18,2 мкл воды и 1 мкл кДНК матрицы. В контрольные лунки планшета вместо кДНК матрицы добавляли еще 1 мкл воды.

Реакцию проводили при использовании термоциклера для амплификации нуклеиновых кислот 1000 CFX Manager исполнения C10000 Touch (Bio-Rad; США) и программного обеспечения CFX Manager. Количество циклов — 39. Анализ результатов проводили в программе Microsoft Excel (Microsoft; США) по методу  $\Delta\Delta Ct$ .

### Получение первичной культуры хондроцитов из донорского материала

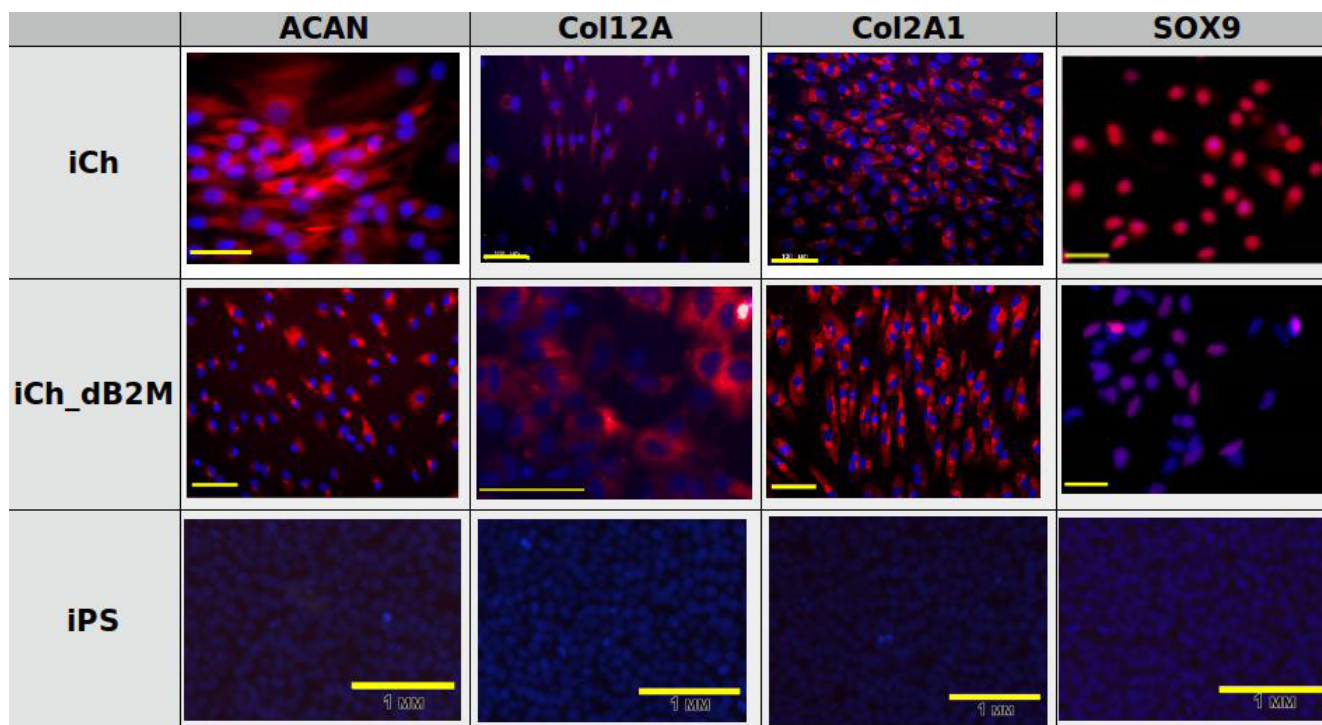
Выделение хондроцитов (далее — Chondro) проводили из биопсийного операционного материала пациента. Хрящ отмывали в 15 мл DMEM с 2% пенициллина/стрептомицина («ПанЭко»; Россия). Затем помещали хрящ в чистую чашку Петри и измельчали стерильными ножницами и скальпелем в присутствии 4 мл среды DMEM с 2% пенициллина/стрептомицина. Промывали в 15 мл пробирке 1 раз той же средой. Кусочки хряща инкубировали в течение 40 мин на качалке при +37 °C и 5% CO<sub>2</sub> в 10 мл среды DMEM с 2% пенициллина/стрептомицина и коллагеназы IV (Gibco; США) и ферментного препарата коллагеназы («БиоПрепарат»; Россия) в концентрации 3000 ед./мл.

После инкубации кусочки хряща центрифугировали 5 мин при 200 g, производили отмывку 1 раз, добавляли 10 мл среды для культивирования: DMEM/Ф12 с 20% FBS, 1% GlutaMax, 1% пенициллин/стрептомицин и переносили в культуральный флакон T-75, предварительно обработанном 0,1% раствором желатина. Кусочки хряща культивировали при +37 °C и 5% CO<sub>2</sub> до достижения монослоя хондроцитов. Среду меняли раз в три дня.

### Получение первичной культуры фибробластов из донорского материала

Пациенту проводили биопсию кожи предплечья. Биопсию помещали в каплю среды (DMEM («ПанЭко»; Россия) с добавлением 10% FBS и 1% пенициллина/стрептомицина) на чашку Петри и разрезали на мелкие кусочки (размером около 1 мм) острым стерильным скальпелем. Полученные кусочки помещали в отдельные чашки Петри диаметром 35 мм в 3 мл культуральной среды и прижимали стерильным покровным стеклом (Menzel Glasser; Германия). Среду меняли два раза в неделю. Через три недели фибробласты (далее — Fibro) отделяли и пассировали с использованием 0,25% раствора ЭДТА (Gibco; США).





**Рис. 1.** Иммуноцитохимический анализ монослойных культур. Синим окрашены ядра клеток, красным и зеленым — исследуемые маркеры. Размер масштабной линейки (показано желтым) составляет 100 мкм — для iCh и iCh\_dB2M, 1000 мкм — для iPS

#### Анализ активации и дегрануляции РВМС после кокультивации с хондроцитарными производными

Для получения мононуклеарных клеток периферической крови (peripheral blood mononuclear cells, PBMC) 9 мл крови здорового донора разводили в 2 раза PBS, аккуратно наслаивали кровь на Ficoll-Paque™ PLUS плотностью 1,077 г/см<sup>3</sup> (GE Healthcare; США) и центрифугировали 350 g в течение 30 мин. Интерфазу отбирали и дважды промывали PBS. Полученные PBMC считали с помощью автоматического счетчика Luna и разводили средой (X-VIVO™ 15 (Lonza; Швейцария) + 100 Ед/мл IL2 + 10% FBS, инактивированной нагреванием) в концентрации 1 млн клеток в миллилитре.

Для проведения анализа, каждая из линий-мишеней (iPS, iPS\_dB2M, Fibro, Chondro, iCh и iCh\_dB2M) была посеяна в три лунки 96-луночного планшета в своей среде для культивирования. По достижении монослоя, среду отбирали и в лунку добавляли 200 мкл суспензии РВМС. Планшет переносили в инкубатор при +37 °C и 5% CO<sub>2</sub>.

Для анализа активации CD8<sup>+</sup>-Т-лимфоцитов через сутки и через пять дней ресуспендировали клетки и отбирали их для последующего цитометрического анализа.

Для анализа дегрануляции CD8<sup>+</sup>-Т-лимфоцитов через 1 ч инкубации добавляли в лунки Brefeldin A в концентрации 100 нг/мл и инкубировали клетки на +37 °C и 5% CO<sub>2</sub> еще 4 ч. Затем клетки отбирали для цитометрического анализа.

#### Проточная цитометрия

Для оценки активации CD8<sup>+</sup>-Т-лимфоцитов использовали антитела CD3-PERCP-Cy5.5 (Sony; Япония), CD8-BrilliantViolet421 (BD Bioscience; США), CD69-FITC (Sony; Япония)

Для анализа дегрануляции CD8<sup>+</sup>-Т-лимфоцитов использовали антитела CD8-BrilliantViolet421 (BD Bioscience;

США), CD3-PE (Abcam; Великобритания), CD107a-APC (Sony; Япония). Цитометрический анализ производили с помощью проточного цитометра NovoCyte Flow Cytometer. Данные цитометрии обрабатывали с помощью программы FlowJo (Tree Star Inc.; США).

#### Статистический анализ

Для сравнения долей активированных и дегранулировавших CD8<sup>+</sup>-Т-лимфоцитов использовали непарный *t*-критерий Стьюдента и ANOVA. Статистически значимыми считали различия с *p*-значением меньше 0,05. Расчет выполняли на персональном компьютере с использованием приложения Microsoft Excel 2010 (Microsoft Corp; USA) и программы SPSS Statistics 17.0 (IBM; США).

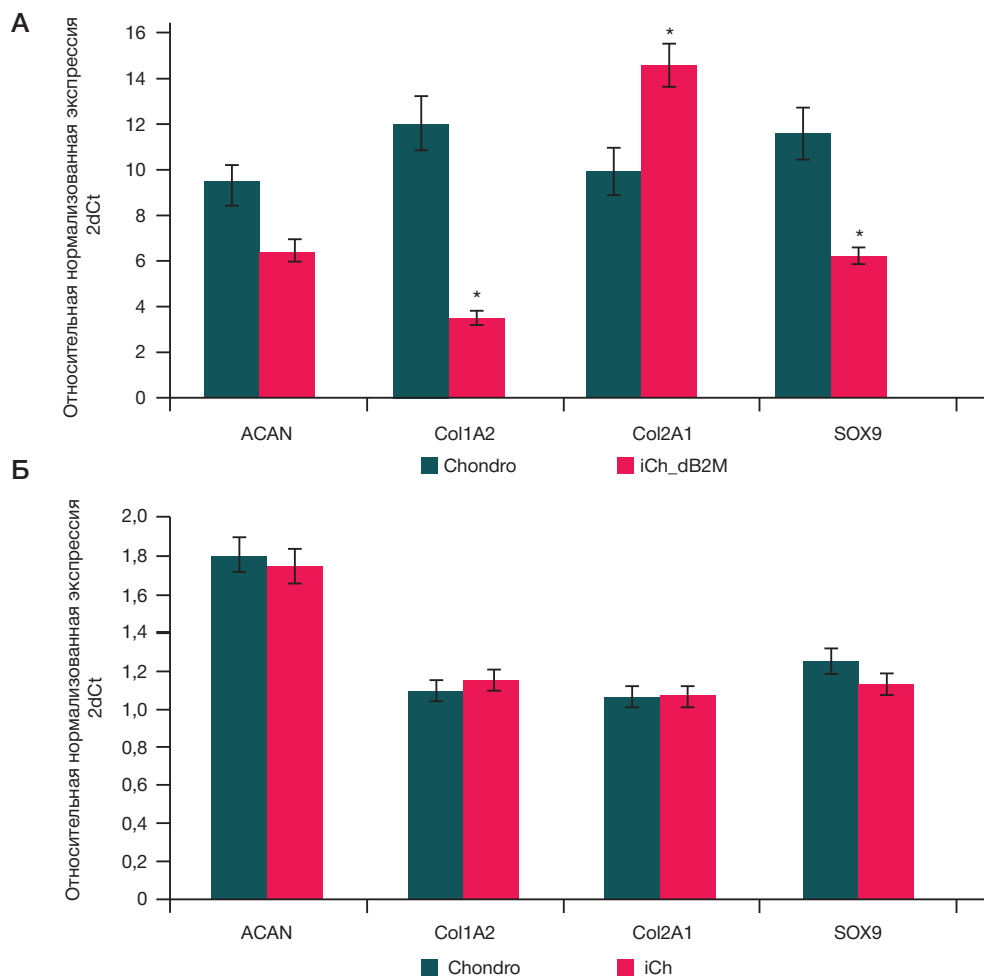
#### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

##### Контроль качества полученных из ИПСК хондроцитарных производных

Хондроцитарные производные, полученные путем направленной дифференцировки из ИПСК с нокаутом V2M и без него, исследовали на экспрессию основных хондрогенных маркеров. При анализе иммуноцитохимического маркирования наблюдали флуоресценцию белков хондроцитарного матрикса коллагенов I и II типа (COL1, COL2), агрекана (ACAN), а также ядерного белка SOX9 в обеих линиях (рис. 1). При этом ИПСК на данные маркеры не окрашивали.

ПЦР в реальном времени также демонстрировал экспрессию этих хондрогенных маркеров как в производных с нокаутом V2M, так и без, при этом экспрессия коллагена I типа в клетках линии iCh\_dB2M была ниже, чем в контрольной группе нативных хондроцитов человека, а экспрессия коллагена II типа, напротив, была выше (рис. 2). Кроме того, в производных ИПСК с





**Рис. 2.** Относительная экспрессия хондроцитарных маркеров в линиях хондроцитов человека (Chondro), хондроцитарных производных с нокаутом B2M (iCh\_dB2M) (А) и без нокаута B2M (iCh) (Б). \* — статистически значимые различия по экспрессии гена в сравнении с хондроцитами человека,  $p < 0,05$ , непарный тест Стьюдента

нокаутом B2M наблюдали более низкую экспрессию ACAN и SOX9 по сравнению с хондроцитами человека, а также более низкую интенсивность флуоресценции в сравнении с линией без нокаута. В клетках линии iCh не выявили значительных отличий от контрольной группы в экспрессии рассматриваемых хондрогенных маркеров.

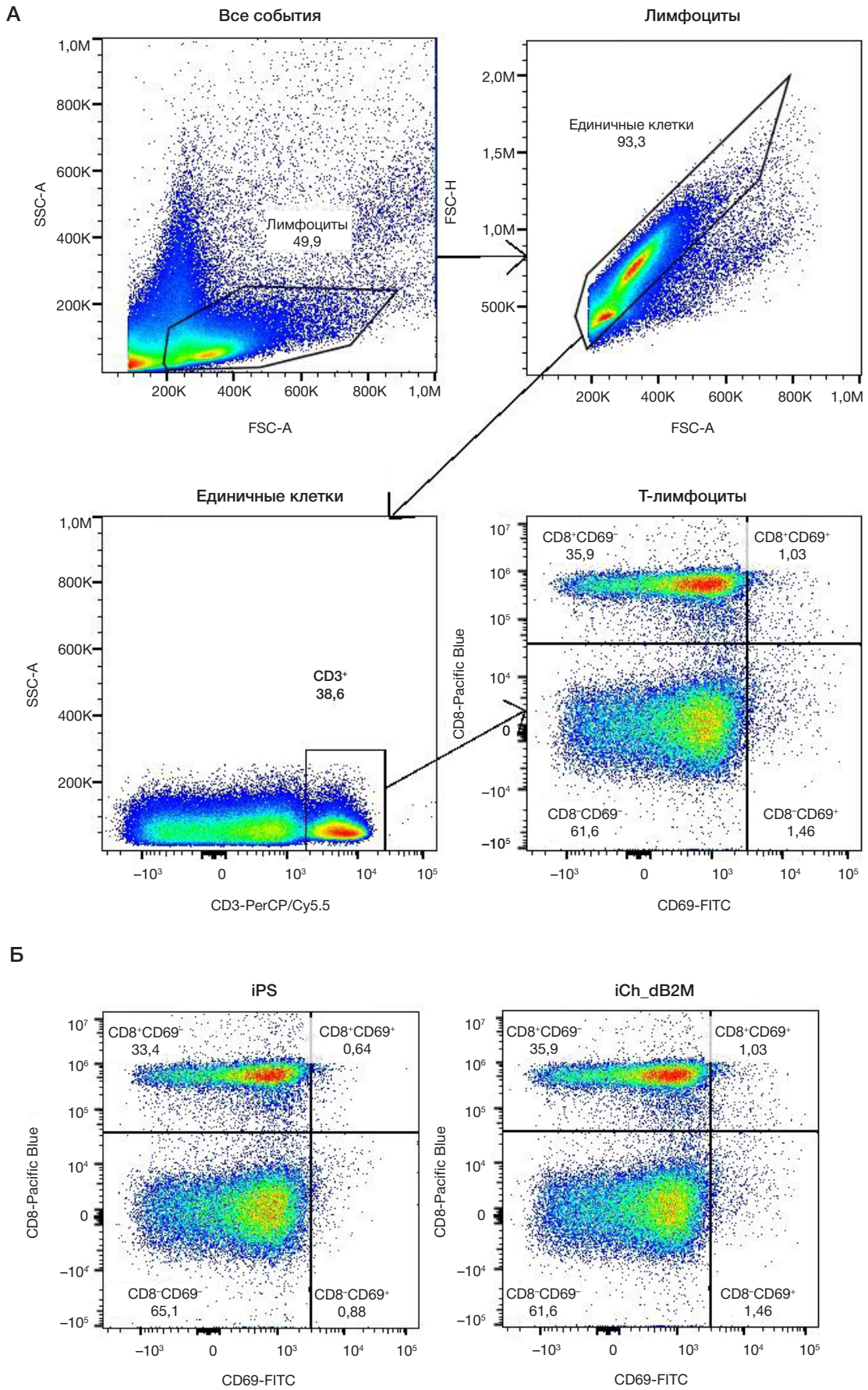
#### Анализ иммуногенности хондроцитарных производных

MHC I, главный комплекс гистосовместимости I класса, экспрессируется практически на всех клетках организма. Основной функцией этого белка является презентация эндогенных пептидов T-лимфоцитам. Гены, кодирующие MHC I, высокополиморфны и различаются от человека к человеку, равно как и набор пептидов, способных презентироваться в соответствующей молекуле MHC I. CD8<sup>+</sup>-T-лимфоциты при созревании приобретают толерантность к собственным эндогенным пептидам и MHC I, однако при попадании чужеродных клеток высока вероятность неспецифического распознавания T-клеточным рецептором комплекса «пептид — MHC I». Поэтому основное внимание уделили ответу CD8<sup>+</sup>- T-лимфоцитов.

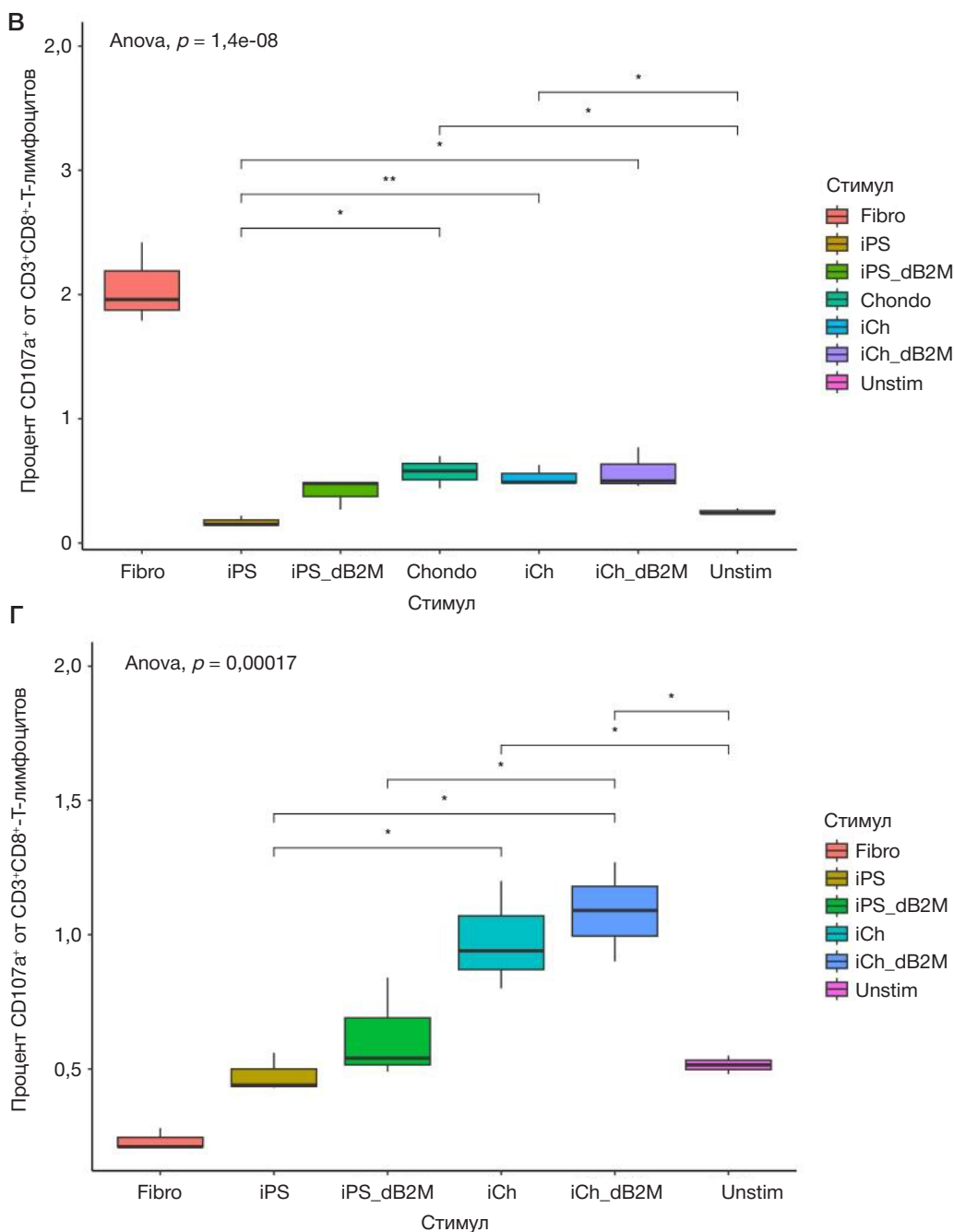
Чтобы оценить иммуногенность iCh-dB2M, кокультивировали эту линию с PBMC здорового донора. После пятидневной кокультурации определяли процент активированных CD69<sup>+</sup>- CD8<sup>+</sup>-T-лимфоцитов. CD69, мембранный рецептор С-лектина второго типа, широко используют в качестве маркера ранней активации

лимфоцитов. Экспрессия CD69 быстро индуцируется на поверхности T-лимфоцитов после связывания T-клеточного рецептора и CD3, что приводит к секреции цитокинов и пролиферации активированных клеток. Ряд статей указывает на то, что максимума экспрессия CD69 на T-клетках достигает через 24 ч после стимуляции, а затем начинает снижаться [16, 17]. Поэтому мы провели повторный эксперимент, где измерили активацию T-клеток через сутки после начала кокультурации.

Результаты цитометрического анализа представлены на рис. 3. В качестве положительного контроля использовали фибробласты здорового донора, а в качестве отрицательного — ИПСК, так как они обладают сниженной иммуногенностью [18]. Независимо от длительности кокультурации, процент активированных CD8<sup>+</sup>-T-лимфоцитов при кокультурации с iCh-dB2M значимо не отличался от такового при кокультурации с iCh и хондроцитами и был выше, чем при кокультурации с iPS или без кокультурации. С одной стороны, это может означать, что нокаута B2M недостаточно, чтобы полученные в результате клетки стали гипои иммуногенными [11, 19]. С другой стороны, все использованные линии при пятидневной кокультурации приводили к активации значимо меньшего процента CD8<sup>+</sup>-T-лимфоцитов ( $p < 0,01$ , непарный  $t$ -тест; данные не показаны) по сравнению с фибробластами, что, возможно, свидетельствует о сниженной иммуногенности хондроцитоподобных клеток и хондроцитов как таковых. По литературным



**Рис. 3.** Цитометрический анализ активации CD8<sup>+</sup>-Т-лимфоцитов. **А.** Схема гейтирования. **Б.** Процент активации CD8<sup>+</sup>-Т-лимфоцитов при кокультивации с iPS (слева) и iCh-dB2M (справа). **В.** Сравнительный анализ активации CD8<sup>+</sup>-Т-лимфоцитов после пятидневной кокультивации с линиями-мишенями. **Г.** Сравнительный анализ активации CD8<sup>+</sup>-Т-лимфоцитов после суточной кокультивации с линиями-мишенями. \* —  $p < 0,05$ ; \*\* —  $p < 0,01$ , непарный тест Стьюдента



**Рис. 3.** (Продолжение) Цитометрический анализ активации CD8<sup>+</sup>-Т-лимфоцитов. **А.** Схема гейтирования. **Б.** Процент активации CD8<sup>+</sup>-Т-лимфоцитов при кокультивации с iPS (слева) и iCh-dB2M (справа). **В.** Сравнительный анализ активации CD8<sup>+</sup>-Т-лимфоцитов после пятидневной кокультивации с линиями-мишенями. **Г.** Сравнительный анализ активации CD8<sup>+</sup>-Т-лимфоцитов после суточной кокультивации с линиями-мишенями. \* —  $p < 0,05$ ; \*\* —  $p < 0,01$ , непарный тест Стьюдента

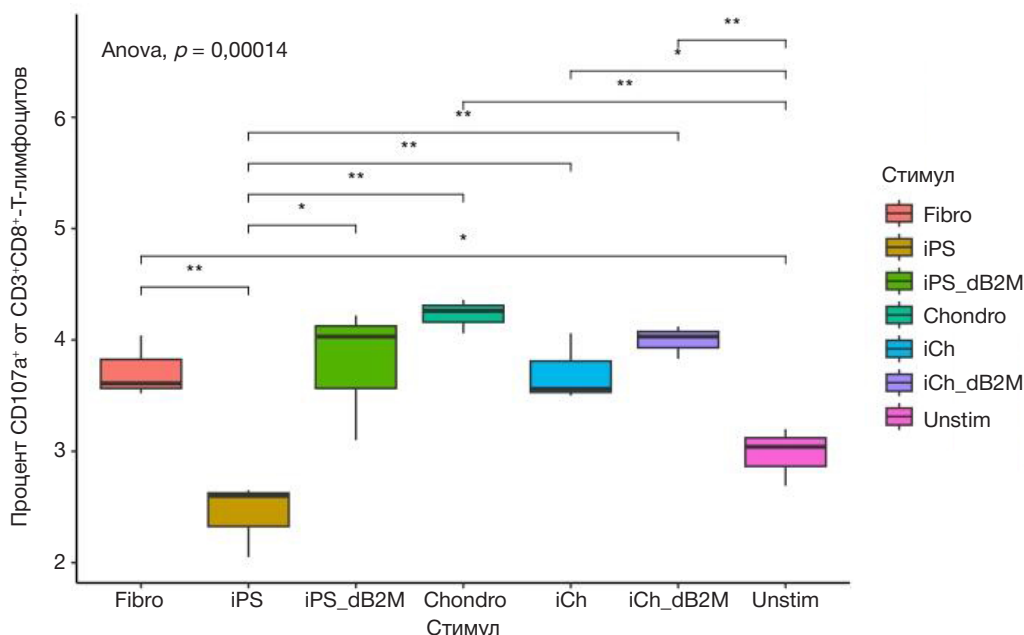
данным, хондроциты способны создавать вокруг себя противовоспалительное микроокружение, что, вероятно, повлияло на результаты эксперимента [20, 21]. В то же время кокультивация в течение одного дня с фибробластами здорового донора не привела к активации CD8<sup>+</sup>-Т-лимфоцитов. Вероятно, такому результату способствовало несколько факторов. Во-первых, по результатам цитометрии, экспрессия МНС I на фибробластах этого донора была снижена по сравнению с другими линиями фибробластов, представленными в нашей лаборатории (данные не показаны). Во-вторых, на результат эксперимента могло повлиять частичное совпадение аллеля МНС I между PBMC и фибробластами. В результате, в случае пятидневной стимуляции имел место накопительный эффект, приводящий к активации

значимо большего числа CD8<sup>+</sup>-Т-лимфоцитов, в то время как суточной стимуляции для данной линии оказалось недостаточно.

Таким образом, хондроцитарные производные iPS способны активировать CD8<sup>+</sup>-Т-лимфоциты из PBMC. Нокаут B2M не оказывает при этом существенного влияния на иммуногенность хондроцитарных производных iPS.

Для оценки иммуногенности хондроцитарных производных измеряли также цитотоксический ответ CD8<sup>+</sup>-Т-лимфоцитов при кокультивации линий с PBMC.

CD107a, он же LAMP-1, является лизосомно-ассоциированным мембранным гликопротеином. При дегрануляции CD8<sup>+</sup>-Т-лимфоцита, лизосомная гранула, содержащая в себе эффекторные литические молекулы, сливается с внешней мембраной CD8<sup>+</sup>-Т-лимфоцита. В



**Рис. 4.** Сравнительный анализ дегрануляции CD8<sup>+</sup>-Т-лимфоцитов после пятичасовой кокультурации с линиями-мишенями. Непарный тест Стьюдента, \* —  $p < 0,05$ ; \*\* —  $p < 0,01$

результате этого содержимое гранулы доставляется в клетку-мишень, а CD107a оказывается на поверхности клетки и становится доступен для окрашивания антителами как маркер цитотоксичности.

После пятичасовой кокультурации с линиями-мишенями в присутствии Брефельдина А снимали PBMC и окрашивали их антителами к CD3, CD8 и CD107a, после чего проводили цитометрический анализ.

Полученные данные в целом аналогичны предыдущим двум результатам (рис. 4). Экспрессия CD107a, и, как следствие, цитотоксическая активность CD8<sup>+</sup>-Т-лимфоцитов, в присутствии хондроцитарных производных с нокаутом B2M, хондроцитов и фибробластов была значимо выше ( $p < 0,05$ ; непарный тест Стьюдента), чем в присутствии iPS и без линии-мишени. Это свидетельствует об иммуногенности выбранных нами линий. Интересно, что iPS с нокаутом B2M также вызывали цитотоксический ответ. Подобных экспериментальных данных в литературе нами обнаружено не было. Учитывая, что схожая тенденция увеличения иммуногенности у iPS\_dB2M по сравнению с iPS наблюдалась на протяжении всех трех экспериментов, можно допустить, что для данной линии полученный результат не является артефактом. В таком случае, вероятно, нокаут B2M каким-то образом повлиял на транскриптом линии [22]. В дальнейшем мы планируем проверить транскриптом линии iPS-dB2M и сравнить его с исходной линией.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Использование клеточных продуктов для восстановления поврежденной хрящевой ткани в настоящее время является одним из самых перспективных и действенных видов терапии [23–25]. Тем не менее, ограниченные количества хрящевого клеточного материала являются серьезным препятствием для повсеместного использования данного вида лечения. За последние годы стало возможным получать клетки хрящевой ткани путем дифференцировки из ИПСК, что значительно упростило получение необходимого количества аутологичного клеточного источника для создания трансплантата. Однако данная

процедура дорогостоящая, занимает несколько месяцев и требует валидации. Создание универсального гипоиммуногенного трансплантата помогло бы решить проблему недостатка клеточного материала для создания *in vitro* хрящевой ткани. Тем не менее, биобезопасность такого продукта не изучена.

Мы получили хондроцитарные производные из iPSC с нокаутом B2M и без него и провели анализ экспрессии хондрогенных маркеров. Экспрессия таких маркеров, как SOX9, агрекан и коллагены I и II типов, свидетельствует о приобретении производными ИПСК хондроцитарного фенотипа, что демонстрировало обе линии производных в нашем эксперименте. Стоит отметить, что по результатам ПЦР в реальном времени в iCh\_dB2M Col1 экспрессировался на более низком уровне, а Col2 — на более высоком, по сравнению с хондроцитами человека. Это подтверждает преобладание фенотипа гиалинового хряща в дифференцированных производных с нокаутом B2M, что более предпочтительно в перспективе клинического применения [26]. В то же время это может свидетельствовать и о появлении фибротических черт нативных хондроцитов человека вследствие культивирования [27]. Хотя экспрессия Sox9 у iCh\_B2M была ниже, чем у iCh, нет оснований полагать, что это значимо отразилось на функциональности хондроцитарных производных [28, 29].

Полное удаление с поверхности клеток MHC I должно было привести к снижению иммуногенности хондроцитарных производных за счет избегания распознавания комплекса «MHC I–аутопептид» CD8<sup>+</sup>-Т-лимфоцитами. Однако, по полученным нами результатам, нокаут B2M является недостаточной мерой для снижения иммуногенности хондроцитарных производных. Во всех трех проведенных нами экспериментах иммунный ответ CD8<sup>+</sup>-Т-клеток на хондроцитарные производные с деплецией B2M был значимо выше, чем на ИПСК. Существует несколько механизмов, благодаря которым могла произойти активация CD8<sup>+</sup>-Т-лимфоцитов.

Согласно одному из них, CD8<sup>+</sup>-Т-лимфоциты активировались не за счет непосредственного взаимодействия с хондроцитарными производными,



а благодаря антигенпрезентирующим клеткам (АПК), присутствующим в РВМС. Как известно, антигенпрезентирующие клетки способны представлять пептиды поглощенных частиц в контексте МНС I и МНС II. Для активации CD8<sup>+</sup>-Т-лимфоцитов (и, как следствие, экспрессии CD69) достаточно распознать чужеродный пептид на АПК, а также, в некоторых случаях, получить стимуляцию от CD4<sup>+</sup>-Т-лимфоцитов [30, 31]. Что касается дегрануляции, показана способность CD8<sup>+</sup>-Т-лимфоцитов убивать опухолевые клетки, потерявшие МНС I. Этот эффект достигался в присутствии АПК, независимо от NK-клеток. Распознавание происходит за счет связывания рецептора NKG2D Т-клеток с лигандами (NKG2DL) на клетках-мишенях, а убийство — за счет секреции гранзимов [32]. В то же время Богомякова с соавторами показали, что фибробластные производные iPS экспрессируют на своей поверхности в 1,5 раза больше лигандов NKG2D по сравнению с фибробластами здорового человека [14]. Таким образом, можно предположить, что хондроцитарные производные из нашего эксперимента повысили экспрессию NKG2D лигандов, что сделало их потенциальной мишенью как для CD8<sup>+</sup>-Т-лимфоцитов, так и для NK-клеток. Хотя хондроциты (и, по-видимому, хондроцитарные производные iPS) создают вокруг себя противовоспалительное окружение [20, 21], это, судя по всему, не является абсолютной гарантией отсутствия иммунного ответа. Важно помнить, что хондроциты, попавшие в провоспалительный контекст (который неизбежен при трансплантации тканеинженерного препарата хряща), способны экспрессировать МНС II

[21]. Хотя для хондроцитарных производных iPS этого не было показано *in vitro* [27], тестов *in vivo* на настоящий момент не проводилось. Поэтому, чтобы избежать иммунного ответа CD4<sup>+</sup>-Т-лимфоцитов, необходимо нокаутить МНС II в хондроцитарных производных. В дополнение, ряд исследований демонстрирует успешное получение гипоиммуногенных производных iPS за счет нокаута МНС I, МНС II и гиперэкспрессии CD47 для регулирования NK-клеточного ответа [11, 12]. Эти данные, в совокупности, оставляют возможность для доработки универсального трансплантата хрящевой ткани на основе дифференцированных производных ИПСК.

## Выводы

Полученные хондроцитарные производные ИПСК обладают такой же невысокой иммуногенностью, как и хондроциты человека, однако они вызывают больший иммунный ответ, чем гипоиммуногенные ИПСК. С одной стороны, это говорит о том, что полученные хондроциты потенциально могут служить источником продукта для терапии хрящевой ткани суставов, но с другой стороны, данное исследование показывает потенциальные риски, связанные с нестабильностью клеток после редактирования и избеганием иммунного ответа в случае туморогенеза. Таким образом, нокаут В2М не является достаточным условием гипоиммуногенности получаемых прототипов из таких клеток ткани, а хондроцитарные производные ИПСК нуждаются в дополнительных модификациях.

## Литература

1. Кабалык М. А. Распространенность остеоартрита в России: региональные аспекты динамики статистических показателей за 2011–2016 гг. Научно-практическая ревматология. 2018; 56 (4): 416–22. Доступно по ссылке: <https://doi.org/10.14412/1995-4484-2018-416-422>.
2. Medvedeva EV, Grebenik EA, Gornostaeva SN, et al. Repair of damaged articular cartilage: current approaches and future directions. *Int J Mol Sci.* 2018; 19 (8). DOI: 10.3390/ijms19082366.
3. Pintan GF, de Oliveira ASJ, Lenza M, Antonioli E, Ferretti M. Update on biological therapies for knee injuries: osteoarthritis. *Curr Rev Musculoskelet Med.* 2014; 7 (3): 263–9. DOI: 10.1007/s12178-014-9229-8.
4. Martinčič D, Leban J, Filardo G, et al. Autologous chondrocytes versus filtered bone marrow mesenchymal stem/stromal cells for knee cartilage repair—a prospective study. *Int Orthop.* 2021; 45 (4): 931–9. DOI: 10.1007/s00264-020-04727-2.
5. Leigh M, Bosetti M, De Consoli A, Borrone A, Cannas M, Grassi F. Chondral tissue engineering of the rheumatoid knee with collagen matrix autologous chondrocytes implant. *Acta Biomed.* 2017; 88 (4S): 107–13. DOI: 10.23750/abm.v88i4-S.6801.
6. Davies RL, Kuiper NJ. Regenerative medicine: a review of the evolution of autologous chondrocyte implantation (ACI) therapy. *Bioeng (Basel, Switzerland).* 2019; 6 (1). DOI: 10.3390/bioengineering6010022.
7. Vonk LA, de Windt TS, Kragten AHM, et al. Enhanced cell-induced articular cartilage regeneration by chondrons; the influence of joint damage and harvest site. *Osteoarthr Cartil.* 2014; 22 (11): 1910–7. DOI: 10.1016/j.joca.2014.08.005.
8. Khan NM, Diaz-Hernandez ME, Chihab S, et al. Differential chondrogenic differentiation between iPSC derived from healthy and OA cartilage is associated with changes in epigenetic regulation and metabolic transcriptomic signatures. *Elife.* 2023; 12. DOI: 10.7554/eLife.83138.
9. Viñuelas R, Sanjurjo-Rodríguez C, Piñeiro-Ramil M, et al. Generation and characterization of human induced pluripotent stem cells (iPSCs) from hand osteoarthritis patient-derived fibroblasts. *Sci Rep.* 2020; 10. DOI: 10.1038/s41598-020-61071-6.
10. Abe K, Yamashita A, Morioka M, et al. Engraftment of allogeneic iPSC cell-derived cartilage organoid in a primate model of articular cartilage defect. *Nat Commun.* 2023; 14 (1): 804. DOI: 10.1038/s41467-023-36408-0.
11. Deuse T, Hu X, Gravina A, et al. Hypoimmunogenic derivatives of induced pluripotent stem cells evade immune rejection in fully immunocompetent allogeneic recipients. *Nat Biotechnol.* 2019; 37 (3): 252–8. DOI: 10.1038/s41587-019-0016-3.
12. Trionfani P, Romano E, Varinelli M, et al. Hypoimmunogenic human pluripotent stem cells as a powerful tool for liver regenerative medicine. *Int J Mol Sci.* 2023; 24 (14). DOI: 10.3390/ijms241411810.
13. Okutani Y, Abe K, Yamashita A, Morioka M, Matsuda S, Tsumaki N. Generation of monkey induced pluripotent stem cell-derived cartilage lacking major histocompatibility complex class I molecules on the cell surface. *Tissue Eng Part A.* 2022; 28 (1–2): 94–106. DOI: 10.1089/ten.TEA.2021.0053.
14. Bogomiakova ME, Sekretova EK, Anufrieva KS, et al. iPSC-derived cells lack immune tolerance to autologous NK-cells due to imbalance in ligands for activating and inhibitory NK-cell receptors. *Stem Cell Res Ther.* 2023; 14 (1): 77. DOI: 10.1186/s13287-023-03308-5.
15. Bogomiakova ME, Sekretova EK, Ereemeev AV, et al. Derivation of induced pluripotent stem cells line (RCPCMi007-A-1) with inactivation of the beta-2-microglobulin gene by CRISPR/Cas9 genome editing. *Stem Cell Res.* 2021; 55: 102451. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.scr.2021.102451>.
16. Simms PE, Ellis TM. Utility of flow cytometric detection of CD69 expression as a rapid method for determining poly- and oligoclonal lymphocyte activation. *Clin Diagn Lab Immunol.* 1996;

- 3 (3): 301–4. DOI: 10.1128/cdli.3.3.301-304.1996.
17. Zimmerman M, Yang D, Hu X, et al. IFN- $\gamma$  Upregulates survivin and lfi202 expression to induce survival and proliferation of tumor-specific T cells. *PLoS One*. 2010; 5 (11): e14076. Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0014076>.
  18. Yamasaki S, Sugita S, Horiuchi M, et al. Low Immunogenicity and immunosuppressive properties of human ESC- and iPSC-derived retinas. *Stem Cell Reports*. 2021; 16 (4): 851–67. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2021.02.021>.
  19. Petrus-Reurer S, Winblad N, Kumar P, et al. Generation of retinal pigment epithelial cells derived from human embryonic stem cells lacking human leukocyte antigen class I and II. *Stem cell reports*. 2020; 14 (4): 648–62. DOI: 10.1016/j.stemcr.2020.02.006.
  20. Pereira RC, Martinelli D, Cancedda R, Gentili C, Poggi A. Human articular chondrocytes regulate immune response by affecting directly T cell proliferation and indirectly inhibiting monocyte differentiation to professional antigen-presenting cells. *Front Immunol*. 2016; 7. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2016.00415>.
  21. Osiecka-Iwan A, Hyc A, Radomska-Lesniewska DM, Rymarczyk A, Skopinski P. Antigenic and immunogenic properties of chondrocytes. Implications for chondrocyte therapeutic transplantation and pathogenesis of inflammatory and degenerative joint diseases. *Cent J Immunol*. 2018; 43 (2): 209–19. DOI: 10.5114/cej.2018.77392.
  22. Tsai HH, Kao HJ, Kuo MW, et al. Whole genomic analysis reveals atypical non-homologous off-target large structural variants induced by CRISPR-Cas9-mediated genome editing. *Nat Commun*. 2023; 14 (1): 5183. DOI: 10.1038/s41467-023-40901-x.
  23. Ramezankhani R, Torabi S, Minaei N, et al. Two decades of global progress in authorized advanced therapy medicinal products: an emerging revolution in therapeutic strategies. *Front Cell Dev Biol*. 2020; 8: 547653. DOI: 10.3389/fcell.2020.547653.
  24. Kim J, Park J, Song SY, Kim E. Advanced therapy medicinal products for autologous chondrocytes and comparison of regulatory systems in target countries. *Regen Ther*. 2022; 20: 126–37. DOI: 10.1016/j.reth.2022.04.004.
  25. Colombini A, Libonati F, Lopa S, Peretti GM, Moretti M, de Girolamo L. Autologous chondrocyte implantation provides good long-term clinical results in the treatment of knee osteoarthritis: a systematic review. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*. 2023; 31 (6): 2338–48. DOI: 10.1007/s00167-022-07030-2.
  26. Tsumaki N, Okada M, Yamashita A. iPSC cell technologies and cartilage regeneration. *Bone*. 2015; 70: 48–54. DOI: 10.1016/j.bone.2014.07.011.
  27. Kimura T, Yamashita A, Ozono K, Tsumaki N. Limited Immunogenicity of Human Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Cartilages. *Tissue Eng Part A*. 2016; 22 (23-24): 1367–75. DOI: 10.1089/ten.tea.2016.0189.
  28. Aigner T, Gebhard PM, Schmid E, Bau B, Harley V, Pöschl E. SOX9 expression does not correlate with type II collagen expression in adult articular chondrocytes. *Matrix Biol*. 2003; 22 (4): 363–72. DOI: 10.1016/s0945-053x(03)00049-0.
  29. Lee J, Smeriglio P, Chu CR, Bhutani N. Human iPSC-derived chondrocytes mimic juvenile chondrocyte function for the dual advantage of increased proliferation and resistance to IL1 $\beta$ . *Stem Cell Res Ther*. 2017; 8 (1): 244. DOI: 10.1186/s13287-017-0696-x.
  30. Oladipo OO, Adedeji BO, Adedokun SP, Gbadamosi JA, Salaudeen M. Regulation of effector and memory CD8+T cell differentiation: a focus on orphan nuclear receptor NR4A family, transcription factor, and metabolism. *Immunol Res*. 2023; 71 (3): 314–27. DOI: 10.1007/s12026-022-09353-1.
  31. Henrickson SE, von Andrian UH. Single-cell dynamics of T-cell priming. *Curr Opin Immunol*. 2007; 19 (3): 249–58. DOI: 10.1016/j.coi.2007.04.013.
  32. Lerner EC, Woroniecka KI, D'Anniballe VM, et al. CD8+ T cells maintain killing of MHC- I-negative tumor cells through the NKG2D–NKG2DL axis. *Nat Cancer*. 2023; 4 (9): 1258–72. DOI: 10.1038/s43018-023-00600-4.

## References

1. Kabalyk MA. Rasprostranennost' osteoartrita v Rossii: regional'nye aspekty dinamiki statisticheskikh pokazatelej za 2011–2016 gg. *Nauchno-prakticheskaja revmatologija*. 2018; 56 (4): 416–22. Dostupno po slyke: <https://doi.org/10.14412/1995-4484-2018-416-422>. Russian.
2. Medvedeva EV, Grebenik EA, Gornostaeva SN, et al. Repair of damaged articular cartilage: current approaches and future directions. *Int J Mol Sci*. 2018; 19 (8). DOI: 10.3390/ijms190823660.
3. Pintan GF, de Oliveira ASJ, Lenza M, Antonioli E, Ferretti M. Update on biological therapies for knee injuries: osteoarthritis. *Curr Rev Musculoskelet Med*. 2014; 7 (3): 263–9. DOI: 10.1007/s12178-014-9229-8.
4. Martinčić D, Leban J, Filardo G, et al. Autologous chondrocytes versus filtered bone marrow mesenchymal stem/stromal cells for knee cartilage repair—a prospective study. *Int Orthop*. 2021; 45 (4): 931–9. DOI: 10.1007/s00264-020-04727-2.
5. Leigh M, Bosetti M, De Consoli A, Borrone A, Cannas M, Grassi F. Chondral tissue engineering of the rheumatoid knee with collagen matrix autologous chondrocytes implant. *Acta Biomed*. 2017; 88 (4S): 107–13. DOI: 10.23750/abm.v88i4-S.6801.
6. Davies RL, Kuiper NJ. Regenerative medicine: a review of the evolution of autologous chondrocyte implantation (ACI) therapy. *Bioeng (Basel, Switzerland)*. 2019; 6 (1). DOI: 10.3390/bioengineering6010022.
7. Vonk LA, de Windt TS, Kragten AHM, et al. Enhanced cell-induced articular cartilage regeneration by chondrons; the influence of joint damage and harvest site. *Osteoarthr Cartil*. 2014; 22 (11): 1910–7. DOI: 10.1016/j.joca.2014.08.005.
8. Khan NM, Diaz-Hernandez ME, Chihab S, et al. Differential chondrogenic differentiation between iPSC derived from healthy and OA cartilage is associated with changes in epigenetic regulation and metabolic transcriptomic signatures. *Elife*. 2023; 12. DOI: 10.7554/eLife.83138.
9. Viñuelas R, Sanjurjo-Rodríguez C, Piñeiro-Ramil M, et al. Generation and characterization of human induced pluripotent stem cells (iPSCs) from hand osteoarthritis patient-derived fibroblasts. *Sci Rep*. 2020; 10. DOI: 10.1038/s41598-020-61071-6.
10. Abe K, Yamashita A, Morioka M, et al. Engraftment of allogeneic iPSC cell-derived cartilage organoid in a primate model of articular cartilage defect. *Nat Commun*. 2023; 14 (1): 804. DOI: 10.1038/s41467-023-36408-0.
11. Deuse T, Hu X, Gravina A, et al. Hypoimmunogenic derivatives of induced pluripotent stem cells evade immune rejection in fully immunocompetent allogeneic recipients. *Nat Biotechnol*. 2019; 37 (3): 252–8. DOI: 10.1038/s41587-019-0016-3.
12. Trionfini P, Romano E, Varinelli M, et al. Hypoimmunogenic human pluripotent stem cells as a powerful tool for liver regenerative medicine. *Int J Mol Sci*. 2023; 24 (14). DOI: 10.3390/ijms241411810.
13. Okutani Y, Abe K, Yamashita A, Morioka M, Matsuda S, Tsumaki N. Generation of monkey induced pluripotent stem cell-derived cartilage lacking major histocompatibility complex class I molecules on the cell surface. *Tissue Eng Part A*. 2022; 28 (1–2): 94–106. DOI: 10.1089/ten.TEA.2021.0053.
14. Bogomiakova ME, Sekretova EK, Anufrieva KS, et al. iPSC-derived cells lack immune tolerance to autologous NK-cells due to imbalance in ligands for activating and inhibitory NK-cell receptors. *Stem Cell Res Ther*. 2023; 14 (1): 77. DOI: 10.1186/s13287-023-03308-5.
15. Bogomiakova ME, Sekretova EK, Eremeev AV, et al. Derivation of induced pluripotent stem cells line (RCPCMi007-A-1) with inactivation of the beta-2-microglobulin gene by CRISPR/Cas9 genome editing. *Stem Cell Res*. 2021; 55: 102451. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.scr.2021.102451>.
16. Simms PE, Ellis TM. Utility of flow cytometric detection of CD69 expression as a rapid method for determining poly- and oligoclonal lymphocyte activation. *Clin Diagn Lab Immunol*. 1996;

- 3 (3): 301–4. DOI: 10.1128/cdli.3.3.301-304.1996.
17. Zimmerman M, Yang D, Hu X, et al. IFN- $\gamma$  Upregulates survivin and lfi202 expression to induce survival and proliferation of tumor-specific T cells. *PLoS One*. 2010; 5 (11): e14076. Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0014076>.
  18. Yamasaki S, Sugita S, Horiuchi M, et al. Low Immunogenicity and immunosuppressive properties of human ESC- and iPSC-derived retinas. *Stem Cell Reports*. 2021; 16 (4): 851–67. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2021.02.021>.
  19. Petrus-Reurer S, Winblad N, Kumar P, et al. Generation of retinal pigment epithelial cells derived from human embryonic stem cells lacking human leukocyte antigen class I and II. *Stem cell reports*. 2020; 14 (4): 648–62. DOI: 10.1016/j.stemcr.2020.02.006.
  20. Pereira RC, Martinelli D, Cancedda R, Gentili C, Poggi A. Human articular chondrocytes regulate immune response by affecting directly T cell proliferation and indirectly inhibiting monocyte differentiation to professional antigen-presenting cells. *Front Immunol*. 2016; 7. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2016.00415>.
  21. Osiecka-Iwan A, Hyc A, Radoska-Lesniewska DM, Rymarczyk A, Skopinski P. Antigenic and immunogenic properties of chondrocytes. Implications for chondrocyte therapeutic transplantation and pathogenesis of inflammatory and degenerative joint diseases. *Cent J Immunol*. 2018; 43 (2): 209–19. DOI: 10.5114/ceji.2018.77392.
  22. Tsai HH, Kao HJ, Kuo MW, et al. Whole genomic analysis reveals atypical non-homologous off-target large structural variants induced by CRISPR-Cas9-mediated genome editing. *Nat Commun*. 2023; 14 (1): 5183. DOI: 10.1038/s41467-023-40901-x.
  23. Ramezankhani R, Torabi S, Minaei N, et al. Two decades of global progress in authorized advanced therapy medicinal products: an emerging revolution in therapeutic strategies. *Front cell Dev Biol*. 2020; 8: 547653. DOI: 10.3389/fcell.2020.547653.
  24. Kim J, Park J, Song SY, Kim E. Advanced therapy medicinal products for autologous chondrocytes and comparison of regulatory systems in target countries. *Regen Ther*. 2022; 20: 126–37. DOI: 10.1016/j.reth.2022.04.004.
  25. Colombini A, Libonati F, Lopa S, Peretti GM, Moretti M, de Girolamo L. Autologous chondrocyte implantation provides good long-term clinical results in the treatment of knee osteoarthritis: a systematic review. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*. 2023; 31 (6): 2338–48. DOI: 10.1007/s00167-022-07030-2.
  26. Tsumaki N, Okada M, Yamashita A. iPSC cell technologies and cartilage regeneration. *Bone*. 2015; 70: 48–54. DOI: 10.1016/j.bone.2014.07.011.
  27. Kimura T, Yamashita A, Ozono K, Tsumaki N. Limited Immunogenicity of Human Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Cartilages. *Tissue Eng Part A*. 2016; 22 (23-24): 1367–75. DOI: 10.1089/ten.tea.2016.0189.
  28. Aigner T, Gebhard PM, Schmid E, Bau B, Harley V, Pöschl E. SOX9 expression does not correlate with type II collagen expression in adult articular chondrocytes. *Matrix Biol*. 2003; 22 (4): 363–72. DOI: 10.1016/s0945-053x(03)00049-0.
  29. Lee J, Smeriglio P, Chu CR, Bhutani N. Human iPSC-derived chondrocytes mimic juvenile chondrocyte function for the dual advantage of increased proliferation and resistance to IL1 $\beta$ . *Stem Cell Res Ther*. 2017; 8 (1): 244. DOI: 10.1186/s13287-017-0696-x.
  30. Oladipo OO, Adedeji BO, Adedokun SP, Gbadamosi JA, Salaudeen M. Regulation of effector and memory CD8+T cell differentiation: a focus on orphan nuclear receptor NR4A family, transcription factor, and metabolism. *Immunol Res*. 2023; 71 (3): 314–27. DOI: 10.1007/s12026-022-09353-1.
  31. Henrickson SE, von Andrian UH. Single-cell dynamics of T-cell priming. *Curr Opin Immunol*. 2007; 19 (3): 249–58. DOI: 10.1016/j.coi.2007.04.013.
  32. Lerner EC, Woroniecka KI, D'Anniballe VM, et al. CD8+ T cells maintain killing of MHC- I-negative tumor cells through the NKG2D–NKG2DL axis. *Nat Cancer*. 2023; 4 (9): 1258–72. DOI: 10.1038/s43018-023-00600-4.

## КОМБИНИРОВАННЫЕ МАТРИЦЫ И ТКАНЕВЫЕ ИНЖЕНЕРНЫЕ КОНСТРУКЦИИ ИЗ БИОПОЛИМЕРОВ В РЕКОНСТРУКТИВНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНОЙ ХИРУРГИИ ЛОР-ОРГАНОВ

Н. А. Дайхес<sup>1</sup>, Х. М. Диаб<sup>1</sup>, Д. Н. Назарян<sup>1</sup>, В. В. Виноградов<sup>1</sup>, С. С. Решульский<sup>1✉</sup>, А. С. Мачалов<sup>1</sup>, С. Ш. Каршиева<sup>2</sup>, С. В. Жирнов<sup>2,3</sup>, Е. О. Осидак<sup>4</sup>, А. В. Ковалев<sup>5</sup>, Ю. Д. Хесуани<sup>6</sup>

<sup>1</sup> Национальный медицинский исследовательский центр оториноларингологии Федерального медико-биологического агентства России, Москва, Россия

<sup>2</sup> Национальный исследовательский технологический университет Московский институт стали и сплавов, Москва, Россия

<sup>3</sup> Общество с ограниченной ответственностью «ТриоНова», Москва, Россия

<sup>4</sup> Общество с ограниченной ответственностью фирмы «Имтек», Москва, Россия

<sup>5</sup> Национальный медицинский исследовательский центр травматологии и ортопедии имени Н. Н. Приорова Министерства здравоохранения, Москва, Россия

<sup>6</sup> Лаборатория биотехнологических исследований «3Д Биопринтинг Солюшенс», Москва, Россия

Микроотия — это врожденный комбинированный порок, встречается с частотой один случай на 10 000–15 000 новорожденных и составляет 50% всех врожденных пороков. Лечение микроотии — сложная задача, предложено множество вариантов ее решения, однако ни один из них не гарантирует высоких функциональных и эстетических результатов. Большие надежды в решении проблемы возлагаются на достижения регенеративной медицины. Целью исследования было определить возможность применения современных биосовместимых эндопротезов, изготовленных с помощью технологий тканевой инженерии. Двум близкородственным самцам-минипигам двухлетнего возраста породы *Sus salvanius* под височную фасцию были имплантированы биоинженерные импланты, изготовленные методом комбинированной трехмерной биопечати с нанесением на них раствора коллагена с аутогенными клетками хрящевой ткани. Через 3 месяца образцы были изъятые. По результатам их гистологического и иммуногистохимического исследования, в 100% случаев имплантированный эндопротез инициировал развитие соединительнотканых регенератов и формирование собственной сосудистой сети, тем самым обеспечивая жизнеспособность клеток и сохранность биологических структур, при этом отторжения и явлений резорбции эндопротеза не выявлено. Сделан вывод, что разработанный метод изготовления имплантатов перспективен и может послужить основой для создания отечественных пористых ушных имплантатов на основе биосовместимых полимерных материалов, гидрогелей и аутологичного клеточного материала. Необходима дальнейшая апробация импланта ушной раковины на биологических моделях.

**Ключевые слова:** реконструкция наружного уха, клеточная инженерия, хрящевая ткань, минипиги

**Вклад авторов:** Н. А. Дайхес — идея, планирование эксперимента, руководство, редактирование рукописи; Х. М. Диаб — подготовка рукописи, предоставление данных; Д. Н. Назарян — хирургический этап эксперимента, редактирование рукописи; В. В. Виноградов, С. С. Решульский — подготовка рукописи, сбор данных; А. С. Мачалов — планирование эксперимента, сбор данных, редактирование рукописи; С. Ш. Каршиева — создание эндопротеза, ведение клеточных культур; С. В. Жирнов — создание эндопротеза, печать подложки; Е. О. Осидак — создание эндопротеза, разработка гидрогеля; А. В. Ковалев — проведение гистологических исследований; Ю. Д. Хесуани — создание итоговой тканеинженерной конструкции.

**Соблюдение этических стандартов:** все манипуляции с животными были проведены в соответствии с едиными этическими нормами Базельской декларации.

✉ **Для корреспонденции:** Сергей Сергеевич Решульский  
Волоколамское шоссе, 30/2, г. Москва, 123182, Россия; RSS05@mail.ru

**Статья получена:** 20.12.2023 **Статья принята к печати:** 14.02.2024 **Опубликована онлайн:** 25.03.2024

**DOI:** 10.47183/mes.2024.007

## COMBINED MATRICES AND TISSUE-ENGINEERED CONSTRUCTS MADE OF BIOPOLYMERS IN RECONSTRUCTIVE SURGERY OF ENT ORGANS

Daikhes NA<sup>1</sup>, Diab KhM<sup>1</sup>, Nazaryan DN<sup>1</sup>, Vinogradov VV<sup>1</sup>, Reshulskiy SS<sup>1✉</sup>, Machalov AS<sup>1</sup>, Karshieva SSh<sup>2</sup>, Zhirnov SV<sup>2,3</sup>, Osidak EO<sup>4</sup>, Kovalev AV<sup>5</sup>, Hesuani YuD<sup>6</sup>

<sup>1</sup> National Medical Research Center for Otorhinolaryngology of the Federal Medical Biological Agency, Moscow, Russia

<sup>2</sup> National University of Science and Technology MISIS, Moscow, Russia

<sup>3</sup> TrioNova LLC, Moscow, Russia

<sup>4</sup> Imtek LLC, Moscow, Russia

<sup>5</sup> Priorov National Medical Research Center of Traumatology and Orthopaedics, Moscow, Russia

<sup>6</sup> 3D Bioprinting Solutions, Moscow, Russia

Microtia is a combined congenital malformation with the prevalence of one case per 10,000–15,000 newborns, which accounts for 50% of all congenital malformations. Treatment of microtia is a challenging task. Numerous solutions have been proposed, however, none of these options guarantee good functional and aesthetic outcome. High hopes for solving the problem are placed on advances in reconstructive surgery. The study was aimed to determine the possibility of using advanced biocompatible endoprostheses manufactured using the tissue engineering technologies. Two closely related male 2-year-old minipigs of the *Sus salvanius* breed underwent implantation of bioengineered implants manufactured by combined 3D bioprinting with application of the collagen solution containing autologous cartilage tissue cells under the temporal fascia. The samples were collected 3 months later. Histological examination and immunohistochemistry showed that the implanted endoprosthesis initiated the development of regenerated connective tissue and its own vasculature in 100% of cases, thereby ensuring cell viability and integrity of biological structures; furthermore, no facts of the endoprosthesis rejection or resorption were reported. We have concluded that the developed implant manufacturing method is promising and can provide the basis for creation of domestic porous ear implants based on biocompatible polymeric materials, hydrogels, and autologous cellular material. It is necessary to further test the auricular implant using biological models.

**Keywords:** outer ear reconstruction, cell engineering, cartilage tissue, minipigs

**Author contributions:** Daikhes NA — concept, planning the experiment, management, manuscript editing; Diab KhM — manuscript writing, data provision; Nazaryan DN — surgical stage of the experiment, manuscript editing; Vinogradov VV, Reshulskiy SS — manuscript writing, data acquisition; Machalov AS — planning the experiment, data acquisition, manuscript editing; Karshieva SSh — creating the endoprosthesis, cell culture maintenance; Zhirnov SV — creating the endoprosthesis, printing the substrate; Osidak EO — creating the endoprosthesis, developing the hydrogel; Kovalev AV — histological assessment; Hesuani YuD — creating the resulting tissue-engineered construct.

**Compliance with ethical standards:** animal handling was compliant with the common ethical standards of Basel Declaration.

✉ **Correspondence should be addressed:** Sergey S. Reshulsky  
Volokolamskoe shosse, 30/2, Moscow, 123182, Russia; RSS05@mail.ru

**Received:** 20.12.2023 **Accepted:** 14.02.2024 **Published online:** 25.03.2024

**DOI:** 10.47183/mes.2024.007



Комбинированный порок, известный как микротия или деформация ушной раковины с атрезией наружного слухового прохода (АНСП), который включает в себя аномалии развития наружного и среднего уха, встречается с частотой один случай на 10 000–15 000 новорожденных. Пациенты с данной патологией страдают не только от выраженной кондуктивной тугоухости, но и от грубого косметического дефекта [1–5].

Лечение микротии — сложная задача, предложено множество вариантов ее решения от использования ушного протеза до реконструктивно-восстановительной операции с использованием различных хирургических техник и реконструктивных материалов. Реконструктивно-восстановительные операции в области головы и шеи должны решать одновременно ряд сложных задач не только по восстановлению утраченных органов, их частей или тканей, восстановлению функции, но и эстетической реабилитации [6–8].

В хирургической практике существуют три основных метода устранения микротии: применение аутореберного хряща, пористого полиэтиленового импланта и внутрикостных имплантатов для протезирования съемным протезом. Выбор метода лечения определяют в зависимости от степени выраженности микротии, функциональных целей после хирургической коррекции, возраста пациента и желания пациента или его представителей. Реконструкцию ушной раковины с помощью аутореберного трансплантата классически выполняют поэтапно, как описано Tanzer, Brent, Nagata, и Firmin. Аллопластические имплантаты получили большее признание в качестве еще одного варианта реконструкции уха, поскольку аллопластическая реконструкция может быть выполнена в более раннем возрасте без ущерба для донорской зоны. Реконструкцию уха на основе пористого полиэтилена (Su-Por, Omnipore, Medpor, Porex Surgical) в настоящее время рассматривают как стандартный метод коррекции микротии для детей от трех лет [3, 4, 9].

В ФГБУ НМИЦО ФМБА России с 2014 г. накоплен богатый опыт устранения микротии, более 516 случаев с использованием различных методик и материалов. Наилучший результат получен при использовании в качестве эндопротеза ушной раковины из гетероматериала на основе пористого полиэтилена. Достижение удовлетворительных хирургических результатов удалось в 80,48% случаев, в 19,52% развились осложнения, из них в 12,19% отмечена частичная экстружия завитка протеза, а в 7,31% потребовалась резекция части эндопротеза для закрытия дефекта ввиду его миграции и прорезывания через покровные мягкие ткани.

Проводили оценку эстетического результата реконструкции ушной раковины с использованием гетероматериала на основе пористого полиэтилена. В 24,39% случаев не получено выраженной заушной складки и достаточно оттопыренной ушной раковины в отдаленном послеоперационном периоде в связи с рубцеванием кожных трансплантатов и соответственно прижатием к черепу сформированной ушной раковины, что было расценено как неудовлетворительный результат. Во всех остальных 75,61% случаев сформированная ушная раковина имела четкие контуры завитка и противозавитка, правильное положение мочки и располагалась симметрично относительно контрлатерального уха. Таким образом можно сказать, что при использовании в качестве эндопротеза ушной раковины гетероматериала на основе пористого полиэтилена частота хирургических осложнений возникает в 19,52% случаях, а

удовлетворительного эстетического результата возможно достичь лишь в 75,61% случаев. Полученные данные указывают на необходимость поиска новых методов и материалов для устранения микротии [10, 11].

Реконструктивно-восстановительная хирургия стремительно развивается на протяжении многих лет и последние годы — это направление носит междисциплинарный характер, особенно в области регенеративной медицины. Важным инструментом регенеративной медицины является тканевая инженерия, которая предполагает разработку конструкций из специальных материалов (матриц, скаффолдов) и культивирование на них стволовых или тканеспецифических клеток [12–19].

Достижения современной регенеративной медицины нашли свое применение в сердечно-сосудистой хирургии, травматологии, ортопедии, хирургии трахеи, абдоминальной хирургии, урологии, в пластической и эстетической хирургии, оториноларингологии и челюстно-лицевой хирургии [7, 18, 20–22].

Совершенно очевидно, что данные технологии могут быть использованы в лечении микротии, что и послужило катализатором для проведения экспериментальной работы по поиску и созданию новых ушных эндопротезов с применением современных возможностей отечественной регенеративной медицины и тканевой инженерии. Целью нашего исследования было изучить возможности применения комбинированных матриц и тканевых инженерных конструкций из биополимеров для реконструкции ушной раковины.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В эксперименте в качестве живой биологической модели использовали два близкородственных минипига породы *Sus salvanus*. Средний вес минипигов составлял 37,5 кг. Минипигов содержали на базе научного центра биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства в свободных от стресса условиях с предоставлением свободного доступа к еде и питью. Эксперимент состоял из нескольких этапов (рис. 1).

Для изготовления импланта использовали модифицированный FDM-принтер с картезианской кинематикой. Технологический процесс создания имплантата состоял из пяти основных этапов: 1) создание трехмерной модели ушной раковины; 2) преобразование и корректировка топологии уха; 3) подготовка клеточного компонента; 4) подготовка коллагенового гидрогеля; 5) изготовление импланта.

Для получения аутологических хондроцитов из эластического хряща двумя бригадами хирургов был осуществлен забор ушного хряща с левого уха у двух особей под тотальной внутривенной анестезией. Размеры хрящей составили 1,5 на 1,5 см. Хрящи помещали в разные пробирки с транспортной питательной (буферной) средой. Далее производили выделение клеток хряща из ушного хряща с последующим их культивированием и размножением, данный процесс занял месяц. Клетки культивировали в среде DMEM (Gibco; США), содержащей 2 мл L-глутамин («Панэко»; Россия) и однократный раствор антибиотика-антимикотика (Gibco; США) с добавлением 10% (v/v) фетальной бычьей сыворотки (Gibco; США) при 37 °C и 5% CO<sub>2</sub>. Для снятия клеток с подложки использовали раствор Версена («Панэко»; Россия) и 0,25%-й раствор трипсина-ЭДТА (Gibco; США).



Рис. 1. Графическая схема этапов эксперимента

После культивации хондроцитов был изготовлен биоинженерный имплантат, напечатанный из двух полимеров и коллагена. Для создания трехмерной модели ушной раковины использовали КТ/МРТ данных изображений ушной раковины здорового пациента и программное обеспечение ImageJ (США) и 3D Slicer (США). Преобразование и корректировку топологии уха для формирования модели имплантата производили с помощью программного обеспечения Autodesk Fusion 360 (США) и/или КОМПАС-3D (Россия). Для подготовки модели к печати использовали программное обеспечение Prusa Slicer и/или Super Slicer (США).

Имплантат изготавливали методом комбинированной трехмерной биопечати, для этого принтер располагали в стерильных условиях. Предварительно экструдеры принтера разогревали до 200 °С, стол — до 50 °С. Для ребер жесткости использовали полилактид (Ingeo 4032D, Китай; Natureworks LLC, США), для пористого каркаса использовали термопластичный полиуретан Elastollan 1170 A 10FC000. Гироидные поры полимерного каркаса заполняли гелеобразным коллагеном Вискол («Имтек»; Россия). Послойно производили печать сначала полилактидом, затем полиуретаном, обеспечивая впечатавание двух полимеров друг в друга. После формирования каркаса отдельной форсункой в него впечатавали гидрогелевую композицию. Для приготовления коллагенового гидрогеля, разведение и нейтрализацию производили при температуре +4 °С: сначала герметично соединяли шприц с культуральной средой (DMEM, 10% фетальная бычья сыворотка, 100 мМ Трис-НСI) с шприцом, содержащим 4% раствора коллагена 1-го типа (Viscol; Россия), в соотношении 1 : 4. Затем раствор коллагена тщательно смешивали с культуральной средой для получения нейтрализованного гомогенного раствора коллагена.

Кроме того, были подготовлены две пары цилиндров (диаметр — 10,5 мм, длина — 18 мм). «Цилиндр 1» (коллаген + аутогенные хондроциты) заполнили специально приготовленным раствором коллагена с аутогенными клетками хрящевой (хондроциты) ткани свиньи (концентрация клеток — около 30 млн в 1 мл). «Цилиндр 2» (коллаген) — не заполнен, представлен коллагеновой основой.

После изготовления биоинженерных ушных раковин и цилиндров 1 и 2 производили их имплантацию под

височную фасцию. Операцию осуществляли параллельно две бригады хирургов на обеих особях. Под тотальной внутривенной анестезией было произведено выделение височных фасций справа, в сформированное мышечное ложе установлен и обернут височной фасцией имплант ушной раковины. Аналогично у обеих особей выделяли височную фасцию слева, и под нее имплантировали «Цилиндр 1» (коллаген + аутогенные хондроциты); «Цилиндр 2» (коллаген) был имплантирован под мобилизованную лобную мышцу. Таким образом, у двух особей сформированы три отдельных мышечно-фасциальных компартмента, с имплантированными биоинженерными материалами, которые никак не сообщаются друг с другом (рис. 2).

Период наблюдения составил 3 месяца. Далее обе особи были гуманно выведены из эксперимента путем внутривенной эвтаназии. Фрагменты имплантатов и дисков были изъяты и зафиксированы в 10%-м нейтральном растворе формалина на фосфатном буфере. Все имплантированные материалы отправлены на гистологическое исследование.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

После изъятия имплантатов производили первичную макроскопическую оценку их состояния. У обеих особей наблюдалась полная интеграция трансплантатов с их мышечными и фасциальными футлярами без признаков инфицирования или некроза тканей (рис. 3).



Рис. 2. Вид операционной раны, после имплантации биоинженерного уха, «Цилиндра 1» и «Цилиндра 2». а — зона имплантации биоинженерного уха в область правой височной фасции; б — зона имплантации «Цилиндра 1» (коллаген + аутогенные хондроциты) в область левой височной фасции; в — зона имплантации «Цилиндра 2» (коллаген) в область лобной мышцы

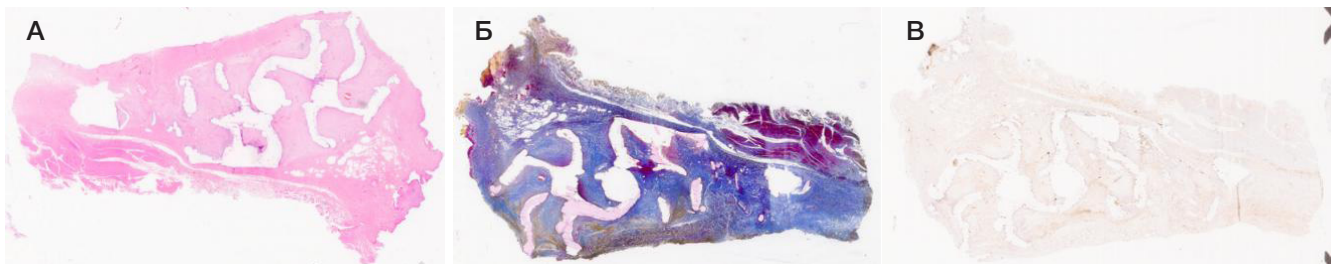


**Рис. 3.** Вид биоинженерного уха (А), «Цилиндра 1» (коллаген+аутогенные хондроциты) (Б) и «Цилиндра 2» (коллаген) (В) после их изъятия, спустя 3 месяца со дня имплантации

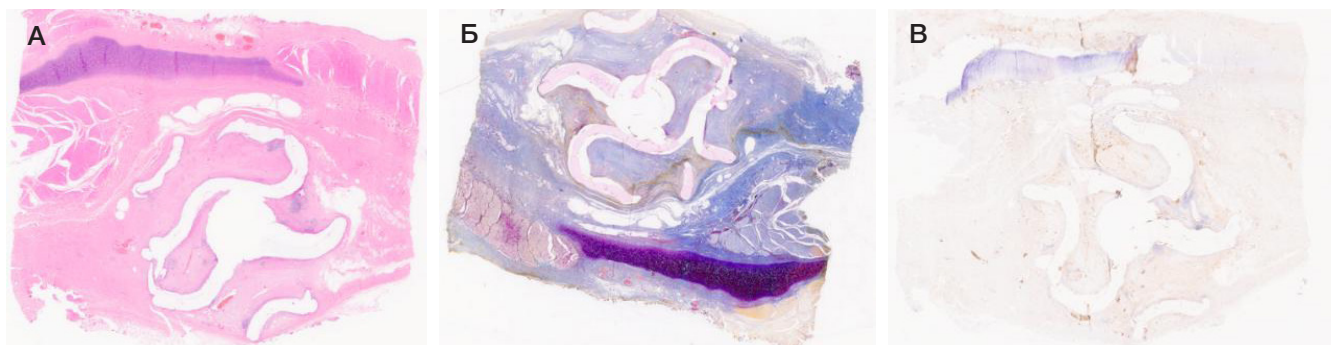
При последующем гистологическом исследовании биоинженерного уха обеих особей с помощью окрашивания гематоксилин-эозином наблюдается практически идентичная картина. В обоих препаратах просматривается умеренно плотный утолщенный участок мышечной ткани с обильной фибро-вазкулярной соединительной тканью, с кровенаполненными сосудами различного диаметра. Воспалительный инфильтрат не выявлен. К мышечной ткани мультифокально плотно прилегает плотная эозинофильная, бесклеточная ткань (предположительно коллаген). Центральная часть имеет лабиринтообразное строение из мышечных, переплетенных волокон, среди которых просматриваются обширные поля эозинофильной волокнистой ткани. Необходимо отметить, что в обоих препаратах присутствует выраженная васкуляризация с усилением по периферии центральной части, что косвенно подтверждает интеграция трансплантатов с их мышечными и фасциальными футлярами. В центральной части просматриваются множественные плотные лимфоплазмочитарные инфильтраты с преобладанием плазмочитов. Нейтрофильного воспаления, в том числе реакции отторжения, не было выявлено. Схожая гистологическая картина наблюдается и при окрашивании по Маллори, где большая часть препаратов насыщенно синего цвета, что, согласно методике окраски, соответствует коллагеновым волокнам. В определенных участках коллаген плотно прилегает к мышечным волокнам (окрашивание в

коричневый цвет). При иммуногистохимическом анализе на маркеры неангиогенеза (VEGF и CD31) у обоих препаратов была выявлена слабая экспрессия (рис. 4)

При гистологическом исследовании образца «Цилиндр 1» добавлением гидрогеля на основе коллагена 1-го типа с включением аутологических хондроцитов выявлено, что препараты преимущественно состоят из рыхлой волокнистой ткани с пустотами по типу лабиринта. Местами встречаются узкие поля фиброза и мелкие округлые поля бесклеточной эозинофильной массы. Волокнистая ткань умеренно васкуляризирована, множество крупных, щелевидных кровенаполненных сосудов. Были также выявлены мультифокальные воспалительные лимфоплазмочитарные инфильтраты, с образованием лимфоидных фолликулов, состоящих преимущественно из мелких лимфоцитов. Примечательно, что среди мышц прослеживаются узкая прослойка зрелой хрящевой ткани. При окрашивании по Маллори не более 75% обоих препаратов окрасилось в насыщенно синий цвет. По интенсивности окрашивания можно определить, что наиболее выражено содержание коллагена по периферии. В центре просматривается голубой, красный и синий цвет, что свидетельствует о присутствии коллагеновых волокон между мышечными пучками, на периферии препарата, вне области имплантата. При иммуногистохимическом анализе на экспрессию маркеров VEGF и CD31 выявлена выраженная экспрессия в эндотелиях сосудов (рис. 5).



**Рис. 4.** Вид гистологического препарата биоинженерного уха при окраске гематоксилин-эозином (А); окраска по Маллори (Б); иммуногистохимический препарат (В)



**Рис. 5.** Вид гистологического препарата «Цилиндр 1» на основе коллагена 1-го типа с включением аутологических хондроцитов: окраска гематоксилин-эозином (А); окраска по Маллори (Б); иммуногистохимический препарат (В)



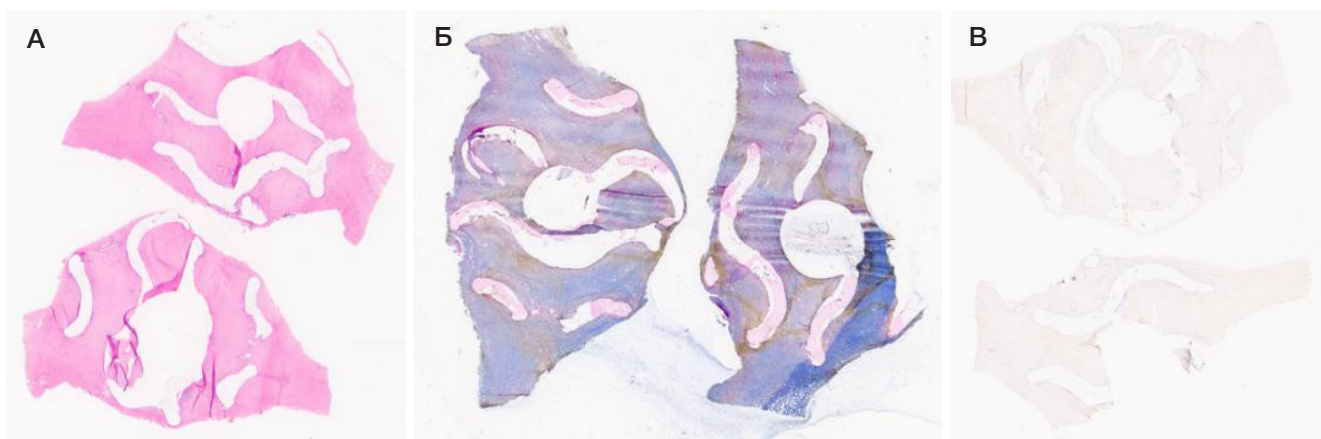


Рис. 6. Вид гистологического препарата «Цилиндр 2»: окраска гематоксилин-эозином (А); окраска по Маллори (Б); иммуногистохимический препарат (В)

При гистологическом исследовании образца «Цилиндр 1» при окраске препаратов гематоксилин-эозином преобладают участки тканей, полностью состоящих из умеренно плотной, волокнистой ткани и имеющих пустоты по принципу лабиринта. В средней части этих тканей по периферии просматривается фиброзная ткань, скудная васкуляризация. Вокруг сосудов просматриваются плотные лимфоплазмацитарные муфты. В центральной части сосредоточены множественные плотные смешанные инфильтраты с преобладанием плазмочитов, с единичными лимфоцитами, в меньшей степени нейтрофилами и различным количеством сидерофагов. Большая часть обоих препаратов при окрашивании по Маллори имеет синий цвет разной интенсивности в зависимости от поля зрения, что свидетельствует о высоком преобладании коллагеновых волокон. Маркеры неоангиогенеза (VEGF и CD31) при иммуногистохимическом анализе слабо выражены (рис. 6).

Сравнительная характеристика гистологических препаратов биоинженерного уха, «Цилиндра 1» и «Цилиндра 2», полученных у обеих особей, представлена в таблице.

Анализ представленных в таблице данных позволяет предположить, что изготовленная конструкция способствовала образованию соединительнотканного регенерата, который имеет собственную сосудистую сеть, а строение волоконного остова регенерата подстроено под форму конструкции, что обеспечивает объединенный ответ на внешнее действие механических сил. Признаков отторжения каркасов нет. Заполнение каркаса клетками и коллагеном влияет на строение регенерата, при этом регенерат заполнил весь объем импланта во всех случаях.

Таблица. Сравнительная характеристика гистологических препаратов, полученных у обеих особей

	Особь 1			Особь 2		
	Ушная раковина	Цилиндр 1 (коллаген + хондроциты)	Цилиндр 2 (полилактид)	Ушная раковина	Цилиндр 1 (коллаген + хондроциты)	Цилиндр 2 (полилактид)
Васкуляризация	++-	++-	+-	++-	++-	+-
Интеграция и адгезия	+++	+-	+-	+++	+-	+-
Маркеры ангиогенеза VEGF и CD31	+-	+++	+-	+-	+++	+-
Признаки воспаления и отторжения	---	+-	+-	---	+++	+-

Примечание: +++ — параметр сильно выражен; ++ — параметр умеренно выражен; +- — параметр слабо выражен; --- — параметр не выражен.

### ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

На основе цифровой 3D-модели ушной раковины человека разработана конструкция объемного изделия — комбинированного тканеинженерного скаффолда в форме ушной раковины. Скаффолд был успешно воспроизведен посредством полимерной 3D-печати и исследован в эксперименте на минипигах. Уникальность и объемность изделия обусловлены особенностями расположения ребер жесткости из полилактида, которые повторяют контуры козелка, противокозелка и завитка ушной раковины, а также формами и расположением полиуретановых гироидных сеток. За счет впечатывания нитей сеток в полилактид, удалось избежать провисания сеток, и получить механически прочный полимерный каркас, пригодный для имплантации в живой организм. Между нитями гироидных сеток находятся сообщающиеся открытые пространства. Эти свободные пространства могут быть искусственным путем заполнены гидрогелем на основе коллагена, гидрогелем с живыми клетками, а также оказались доступными для естественного спонтанного врастания регенератов из окружающих тканей при имплантации скаффолда в живой организм под височную фасцию.

Использование данных технологий позволило решить ряд технических проблем, на которые указывает множество зарубежных исследований, связанных с контролем контура, механической прочностью и стабильностью формы биоинженерного эндопротеза [21].

Имплантация скаффолда под височную фасцию модельного животного инициировала развитие соединительнотканых регенератов, источником роста



которых были соединительнотканые анатомические структуры (преимущественно височная фасция) окружающие имплант. Регенерат внутри импланта имеет собственную сосудистую сеть, обеспечивающую жизнеспособность клеток и сохранность биологических структур внутри всего объема скаффолда ушной раковины.

Строение скаффолда определило возможности роста и особенности регенерационного и адаптивного ремоделирования живых тканей и сосудов, заполнивших скаффолд. Успешность интеграции полученного не рассасывающегося каркаса в живой организм обусловлена в значительной степени совпадением механических характеристик импланта (скаффолд несет функцию внутреннего «скелета» уха) и живых тканей, к которым он прикреплен. Полученные результаты свидетельствуют об эффективности сочетания ребер жесткости с гиридными сетками. Установлено, что строение волоконного остова регенерата подстраивается под форму конструкции, что обеспечивает объединенный ответ тканеинженерной конструкции, позволяющий сохранять целостность живых тканей и каркаса при внешних механических воздействиях.

Обнаружено, что заполнение каркаса клетками и коллагеном влияет на строение регенерата. Это

может быть принято во внимание при дальнейшем совершенствовании тканеинженерной конструкции ушной раковины и разработке новых способов ее имплантации и реконструкции ушной раковины. Регенерат заполнил весь межполимерный объем скаффолда во всех случаях, а достижение заполнения конструкции эластичным хрящом может быть целью дальнейших исследований.

## Выводы

В исследованиях на живых биологических моделях скаффолд в форме полноразмерной ушной раковины показал свое преимущество перед контрольными образцами, обеспечив лучшую интеграцию и взаимодействие с живыми тканями, отсутствие воспаления и васкуляризацию, достаточную для жизнеобеспечения тканей внутри тканеинженерной конструкции. Необходима дальнейшая апробация импланта ушной раковины на биологических моделях, а разработанный метод изготовления имплантов перспективен и может послужить основой для создания отечественных пористых ушных имплантов на основе биосовместимых полимерных материалов, гидрогелей и аутологичного клеточного материала.

## Литература

- Cabrejo R, Persing J, Alperovich M. Epidemiologic assessment of microtia in over 23 million consecutive United States births. *J Craniofac Surg.* 2019; 30: 342–6.
- Gautam R, Kumar J, Pradhan GS, Passey JC, Meher R, Mehndiratta A. High-resolution computed tomography evaluation of congenital aural atresia — how useful is this? *J Laryngol Otol.* 2020; 134 (7): 610–22. DOI: 10.1017/S002221512000136X. Epub 2020 Jul 20.
- Andrews J, Kopacz AA, Hohman MH. Ear Microtia In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023; 2023 Mar 1. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33085390/>.
- Hartzell LD, Sivakumar Chinnadurai. Microtia and related facial anomalies. *Clin Perinatol.* 2018; 45 (4): 679–97. DOI: 10.1016/j.clp.2018.07.007. Epub 2018 Sep 18.
- Veugen CCAF, Dikkers FG, de Bakker BS. The Developmental Origin of the Auricula Revisited. *Laryngoscope.* 2020; 130 (10): 2467–74.
- Дайхес Н. А. Виноградов В. В., Решульский С. С. Хирургическая реабилитация и профилактика осложнений при лечении пациентов с злокачественными опухолями гортани: учебное пособие. М.: РИТМ, 2023; 196 с.
- Дайхес Н. А. Виноградов В. В., Решульский С. С. и др. Пособие для пациентов, перенесших ларингэктомию. Национальный медицинский исследовательский центр оториноларингологии Федерального медико-биологического агентства. Москва, 2021; 98 с. Доступно по ссылке: [https://rusneb.ru/catalog/000199\\_000009\\_010732133/?ysclid=ltxas6vey4545118904](https://rusneb.ru/catalog/000199_000009_010732133/?ysclid=ltxas6vey4545118904).
- Stuzin JM, Rohrich RJ. Plastic and reconstructive surgery and the evolution of cosmetic surgery education. *Plast Reconstr Surg.* 2021; 147 (3): 783–8. DOI: 10.1097/PRS.0000000000007697.
- Zhang TY, Bulstrode N, Chang KW, Cho YS, Frenzel H, Jiang D, et al. International Consensus Recommendations on Microtia, Aural Atresia and Functional Ear Reconstruction. *J Int Adv Otol.* 2019; 15 (2): 204–8. DOI: 10.5152/iao.2019.7383. PMID: 31418720; PMCID: PMC6750779
- Zhou G, et al. In vitro regeneration of patient-specific ear-shaper cartilage and its first clinical application for auricular reconstruction. *E Bio Medicine.* 2018; 28: 287–302. DOI: 10.1016/j.ebiom.2018.01.011. Epub 2018 Jan 13. PMID: 293962297; PMCID:5835555.
- Диаб Х. М. А., Назарян Д. Н., Дайхес Н. А., и др. Междисциплинарный подход к реабилитации пациентов с врожденной атрезией наружного слухового прохода и микротией. *Вестник оториноларингологии.* 2018; 2: 17–21.
- Диаб Х. М. А., Назарян Д. Н., Дайхес Н. А., и др. Устранение врожденной атрезии наружного слухового прохода с одномоментным эктопротезированием ушной раковины. *Вестник Клинической Больницы № 51.* 2017; 1: 18–19.
- Дайхес Н. А. Назарян Д. Н., Гилева К. С. и др. Перекрестная пересадка комбинированного лицевого трансплантата в эксперименте на биообъектах. *Медицина экстремальных ситуаций.* 2020; 4: 24–30.
- Егорихина М. Н. Мухина П. А., Бронникова И. И. Скаффолды как системы доставки биологически активных и лекарственных веществ. *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний.* 2020; 9 (1): 92–102. DOI: 10.17802/2306-1278-2020-9-1-92-102.
- Дайхес Н. А., Виноградов В. В., Решульский С. С. и др. Онкологическая патология в практике врача-оториноларинголога. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2021; 141 с.
- Трофимов Е. И., Виноградов В. В., Марченко М. Г. Особенности заживления ран при хирургическом лечении больных раком гортани и гортаноглотки. *Онкохирургия.* 2011; 3 (4): 13–16.
- Свиштушкин М. В. Бакулина С. В. Старостина А. А. и др. Применение мезенхимальных стромальных клеток человека в реконструкции голосовых складок. *Ген и Клетки.* 2022; 17 (3): 25.
- Borrelli MR, Hu MS, Longaker MT, Lorenz HP. Tissue engineering and regenerative medicine in craniofacial reconstruction and facial aesthetics. *J Craniofac Surg.* 2020; 31: 15–27.
- Eltom A, Zhong G, Muhammad A. Scaffold techniques and designs in tissue engineering functions and purposes: a review. *Adv Mater Sci Eng.* 2019; 2019: 1–13. DOI: 10.1155/2019/3429527.
- Шехтер А. Б. Гуллер А. Е., Истранов Л. П. и др. Морфология коллагеновых матриц для тканевой инженерии в урологии (биосовместимость, биодеградация, тканевая реакция). *Архив патологии.* 2015; 6: 29–38.
- Hamilton NJ, Kanani M, Roebuck DJ, et al. Tissue-engineered tracheal replacement in a child: a 4-year follow-up study. *Am J Transplant.* 2015; 15 (10): 2750–7. Available from: <https://doi.org/10.1111/ajt.13318>.
- Zurina M, Presniakova VS, Butnaru DV, Svistunov AA, Timashev PS, Rochev YA. Tissue engineering using a combined cell sheet technology and scaffolding approach. *Acta Biomaterialia.* 2020; 111: 63–83. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2020.06.016>.

## References

- Cabrejo R, Persing J, Alperovich M. Epidemiologic assessment of microtia in over 23 million consecutive United States births. *J Craniofac Surg*. 2019; 30: 342–6.
- Gautam R, Kumar J, Pradhan GS, Passey JC, Meher R, Mehndiratta A. High-resolution computed tomography evaluation of congenital aural atresia — how useful is this? *J Laryngol Otol*. 2020; 134 (7): 610–22. DOI: 10.1017/S002221512000136X. Epub 2020 Jul 20.
- Andrews J, Kopacz AA, Hohman MH. *Ear Microtia In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023; 2023 Mar 1. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33085390/>.*
- Hartzell LD, Sivakumar Chinnadurai. Microtia and related facial anomalies. *Clin Perinatol*. 2018; 45 (4): 679–97. DOI: 10.1016/j.clp.2018.07.007. Epub 2018 Sep 18.
- Veugen CCAF, Dikkers FG, de Bakker BS. The Developmental Origin of the Auricula Revisited. *Laryngoscope*. 2020; 130 (10): 2467–74.
- Daikhes NA, Vinogradov VV, Reshul'skiy SS. Hirurgicheskaja reabilitacija i profilaktika oslozhnenij pri lechenii pacientov s zlokachestvennymi opuholjami gortani: uchebnoe posobie. M.: RITM, 2023; 196 s. Russian.
- Daikhes NA, Vinogradov VV, Reshul'skiy SS, i dr. Posobie dlja pacientov, perenessih laringjektomi. Nacional'nyj medicinskij issledovatel'skij centr otorinolaringologii Federal'nogo mediko-biologicheskogo agentstva. Moskva, 2021; 98 s. Dostupno po ssylke: [https://rusneb.ru/catalog/000199\\_000009\\_010732133/?ysclid=ltxas6vey4545118904](https://rusneb.ru/catalog/000199_000009_010732133/?ysclid=ltxas6vey4545118904). Russian.
- Stuzin JM, Rohrich RJ. Plastic and reconstructive surgery and the evolution of cosmetic surgery education. *Plast Reconstr Surg*. 2021; 147 (3): 783–8. DOI: 10.1097/PRS.00000000000007697.
- Zhang TY, Bulstrode N, Chang KW, Cho YS, Frenzel H, Jiang D, et al. International Consensus Recommendations on Microtia, Aural Atresia and Functional Ear Reconstruction. *J Int Adv Otol*. 2019; 15 (2): 204–8. DOI: 10.5152/iao.2019.7383. PMID: 31418720; PMCID: PMC6750779
- Zhou G, et al. In vitro regeneration of patient-specific ear-shaper cartilage and its first clinical application for auricular reconstruction. *E Bio Medicine*. 2018; 28: 287–302. DOI: 10.1016/j.ebiom.2018.01.011. Epub 2018 Jan 13. PMID: 293962297; PMCID: PMC5835555.
- Diab HMA, Nazarjan DN, Daikhes NA, i dr. Mezhdisciplinarnyj podhod k reabilitacii pacientov s vrozhdennoj atreziej naruzhnogo sluhovogo prohoda i mikrotiej. *Vestnik otorinolaringologii*. 2018; 2: 17–21.
- Diab HMA, Nazarjan DN, Dajhes NA, i dr. Ustranenie vrozhdennoj atrezii naruzhnogo sluhovogo prohoda s odnomomentnym jektoprotezirovanijem ushnoj rakoviny. *Vestnik Klinicheskoj Bol'nicy # 51*. 2017; 1: 18–19. Russian.
- Daikhes NA, Nazarjan DN, Gileva KS, i dr. Perekretnaja peresadka kombinirovannogo licevogo transplantata v jeksperimente na bioob'ektah. *Medicina jekstremal'nyh situacij*. 2020; 4: 24–30. Russian.
- Egorihina MN, Muhina PA, Bronnikova II. Skaffoldy kak sistemy dostavki biologicheskij aktivnyh i lekarstvennyh veshhestv. *Kompleksnye problemy serdechno-sosudistyh zabolevanij*. 2020; 9 (1): 92–102. DOI: 10.17802/2306-1278-2020-9-1-92-102. Russian.
- Daikhes NA, Vinogradov VV, Reshul'skiy SS, i dr. Onkologicheskaja patologija v praktike vracha-otorinolaringologa. M.: GJeOTAR-Media, 2021; 141 s. Russian.
- Trofimov EI, Vinogradov VV, Marchenko MG. Osobennosti zashivenija ran pri hirurgicheskom lechenii bol'nyh rakom gortani i gortanogolotki. *Onkohirurgija*. 2011; 3 (4): 13–16. Russian.
- Svistushkin MV, Bakulina SV, Starostina AA, i dr. Primenenie mezenhimal'nyh stromal'nyh kletok cheloveka v rekonstrukcii golosovyh skladok. *Gen i Kletki*. 2022; 17 (3): 25. Russian.
- Borrelli MR, Hu MS, Longaker MT, Lorenz HP. Tissue engineering and regenerative medicine in craniofacial reconstruction and facial aesthetics. *J Craniofac Surg*. 2020; 31: 15–27.
- Eltom A, Zhong G, Muhammad A. Scaffold techniques and designs in tissue engineering functions and purposes: a review. *Adv Mater Sci Eng*. 2019; 2019: 1–13. DOI: 10.1155/2019/3429527.
- Shehter AB, Guller AE, Istranov LP, i dr. Morfologija kollagenovyh matriksov dlja tkanevoj inzhenerii v urologii (biosovmestimost', biodegradacija, tkanevaja reakcija). *Arhiv patologii*. 2015; 6: 29–38. Russian.
- Hamilton NJ, Kanani M, Roebuck DJ, et al. Tissue-engineered tracheal replacement in a child: a 4-year follow-up study. *Am J Transplant*. 2015; 15 (10): 2750–7. Available from: <https://doi.org/10.1111/ajt.13318>.
- Zurina M, Presniakova VS, Butnaru DV, Svistunov AA, Timashev PS, Rochev YA. Tissue engineering using a combined cell sheet technology and scaffolding approach. *Acta Biomaterialia*. 2020; 111: 63–83. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2020.06.016>.

## СВЯЗЬ ГЕНА *GSTP1* С ФУНКЦИОНАЛЬНЫМ СОСТОЯНИЕМ ПОЧЕК У БОЛЬНЫХ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ

Н. Я. Костюшок<sup>1</sup>✉, С. В. Горнов<sup>1</sup>, А. В. Сизов<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Федеральное научно-клиническое центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий Федерального медико-биологического агентства России, Москва, Россия

<sup>2</sup> Федеральное научный клинический центр медицинской реабилитации и курортологии Федерального медико-биологического агентства России, Москва, Россия

Введение в клинико-лабораторную диагностику точечных генетических ассоциаций позволит врачу определять риск тяжелого течения диабета и его осложнений, делая упор на выявление генетически детерминированного патологического состояния. Целью работы было выявить молекулярно-генетические маркеры тяжелого течения диабетической нефропатии у пациентов с сахарным диабетом (СД) 1-го и 2-го типа на основании изучения гена *GSTP1* (*I105V*). Проводили генотипирование локуса *I105V* гена *GSTP1* у пациентов с СД 1-го и 2-го типа. Далее выявляли особенности окислительного статуса, свободнорадикального окисления и функции почек у пациентов с различными полиморфными вариантами исследуемого гена. Пациенты с СД 1-го типа — носители гетерозиготного варианта полиморфизма (*Ile/VaI*) гена *GSTP1* — имели более высокий уровень активности ферментов окислительного стресса (глутатион-S-трансферазы, каталазы) и малонового диальдегида по сравнению с гомозиготными носителями ( $p < 0,001$ ,  $p < 0,001$ ,  $p < 0,05$ ). У них также выявлено значимое повышение уровня триглицеридов в 1,6 раз и повышение уровня гликированного гемоглобина в 1,1 раз ( $p < 0,05$ ). Пациенты с СД 2-го типа — носители гомозиготного по аллелю 2 полиморфизма (*VaI/VaI*) гена *GSTP1* — имели более высокий уровень малонового диальдегида (100,5 мкмоль/л, ( $p < 0,001$ )), что сочеталось с более тяжелым течением диабетической нефропатии (среднее значение скорости клубочковой фильтрации — 48 мл/мин/1,73 м<sup>2</sup>, уровень суточной альбуминурии — 0,9 г/л;  $p < 0,01$ ). Предложено производить анализ гена *GSTP1* (*I105V*) у лиц с СД 1-го и 2-го типа. Данный полиморфизм в гетерозиготном состоянии у лиц с СД 1-го типа и в гомозиготном по аллелю 2 состоянии у лиц с СД 2-го типа неблагоприятен в отношении течения СД и его осложнений.

**Ключевые слова:** диабетическая нефропатия, окислительный стресс, ген *GSTP1* (*I105V*), персонализированная медицина

**Вклад авторов:** Н. Я. Костюшок — подготовка тестов, проведение экспериментов, анализ полученных результатов; С. В. Горнов — руководство исследованием, редактирование рукописи; А. В. Сизов — общее редактирование рукописи.

**Соблюдение этических стандартов:** исследование одобрено этическим комитетом ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России (протокол № 91 от 29 сентября 2020 г.). Все пациенты подписали информированное добровольное согласие на участие в настоящем исследовании.

✉ **Для корреспонденции:** Надежда Яковна Костюшок  
ул. Седина, д. 4, г. Краснодар, 350063, Россия; ShagalovaN@list.ru

**Статья получена:** 25.01.2024 **Статья принята к печати:** 15.03.2024 **Опубликована онлайн:** 28.03.2024

**DOI:** 10.47183/mes.2024.012

## ASSOCIATION OF *GSTP1* GENE WITH RENAL FUNCTION IN PATIENTS WITH DIABETES MELLITUS

Kostyushok NYa<sup>1</sup>✉, Gornov SV<sup>1</sup>, Sizov AV<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Federal Scientific and Clinical Center for Specialized Types of Medical Care and Medical Technologies of the Federal Medical Biological Agency, Moscow, Russia

<sup>2</sup> Federal Research and Clinical Center of Medical Rehabilitation and Balneology of the Federal Medical Biological Agency, Moscow, Russia

Introduction of point genetic associations into clinical and laboratory diagnosis will allow the physician to determine the risk of severe diabetes mellitus and its complications with a focus on detection of the genetically determined disorder. The study was aimed to identify the molecular genetic markers of severe diabetic nephropathy in patients with type 1 and 2 diabetes mellitus (DM) based on the *GSTP1* (*I105V*) gene assessment. Genotyping of the *GSTP1* gene *I105V* locus was performed in patients with type 1 and 2 DM. Then we identified the features of oxidative status, free radical oxidation, and renal function in patients with various polymorphic variants of the studied gene. Patients with type 1 DM, who were carriers of the *GSTP1* heterozygous polymorphic variant (*Ile/VaI*), showed higher activity of the oxidative stress enzymes (glutathione-S-transferase, catalase) and malondialdehyde compared to homozygous carriers ( $p < 0.001$ ,  $p < 0.001$ ,  $p < 0.05$ ). They also showed a significant increase in the levels of triglycerides (1.6-fold) and the glycated hemoglobin levels (1.1-fold) ( $p < 0.05$ ). Patients with type 2 DM, who were carriers of the *GSTP1* polymorphism homozygous for allele 2 (*VaI/VaI*), had a higher level of malondialdehyde (100.5  $\mu\text{mol/L}$ , ( $p < 0.001$ )), which was associated with the more severe diabetic nephropathy (average glomerular filtration rate — 48 mL/min/1.73 m<sup>2</sup>, 24-h urinary albumin excretion — 0.9 g/L;  $p < 0.01$ ). It has been proposed to assess the *GSTP1* (*I105V*) gene in individuals with type 1 and 2 DM. This polymorphism that is heterozygous in individuals with type 1 DM and homozygous for allele 2 in individuals with type 2 DM is unfavorable in terms of the DM course and complications.

**Keywords:** diabetic nephropathy, oxidative stress, *GSTP1* (*I105V*) gene, personalized medicine

**Author contribution:** Kostyushok NYa — preparation of tests, experimental procedure, analysis of the results; Gornov SV — research management, manuscript editing; Sizov AV — manuscript revision.

**Compliance with ethical standards:** the study was approved by the Ethics Committee of the Kuban State Medical University (protocol № 91 dated 29 September 2020). All patients submitted the informed consent to study participation.

✉ **Correspondence should be addressed:** Nadezhda Ya. Kostyushok  
Sedina, 4, Krasnodar, 350063, Russia; ShagalovaN@list.ru

**Received:** 25.01.2024 **Accepted:** 15.03.2024 **Published online:** 28.03.2024

**DOI:** 10.47183/mes.2024.012

Клинико-диагностические лаборатории (КДЛ) всего мира постепенно переходят к персонализированной медицине [1]. Она представляет собой современный подход к охране здоровья, который учитывает индивидуальные особенности

каждого пациента, включая генетические маркеры и вариативные фенотипические признаки. Такой подход позволяет более точно диагностировать заболевания, подбирать оптимальные методы лечения и профилактики,

а также снижать риск развития осложнений [2]. Внедрение персонализированной медицины и специализированных КДЛ позволит повысить качество оказания медицинской помощи, снизить затраты на здравоохранение и улучшить прогноз для пациентов [3].

Говоря о персонализированной медицине, нельзя обойти вниманием одно из заболеваний, которое называют неинфекционной пандемией XX-XXI вв. В 2022 г. в мире насчитывалось почти 9 млн человек, страдающих сахарным диабетом (СД) [4]. Причем отмечают рост числа не только лиц, страдающих СД 2-го типа, но и пациентов с СД 1-го типа [5]. Предупредить или облегчить течение СД 2-го типа и его осложнений возможно путем изменения образа жизни и питания, увеличения физической активности. А вот повлиять на развитие СД 1-го типа пока не удается. Особое внимание хочется уделить осложнениям СД. Основной причиной смертности у пациентов с СД 1-го и 2-го типа становятся сердечно-сосудистые заболевания, риск которых увеличивается в 2–4 раза при появлении диабетической нефропатии (ДН) [6, 7]. ДН — грозное осложнение СД, потому что клинические симптомы проявляются только на самых поздних стадиях. Согласно исследованиям, на ранних стадиях хроническую болезнь почек (ХБП) пропускают у 20% пациентов [8]. ДН у пациентов с СД 1-го типа в среднем появляется через 10 лет от манифестации заболевания. В случае декомпенсации СД эта медиана сдвигается, и ХБП прогрессирует на более ранних сроках [9]. У пациентов с СД 2-го типа рекомендовано проводить оценку тяжести ДН сразу при постановке диагноза СД. Связано это с тем, что из-за мягкой манифестации СД 2-го типа пациенты могут длительно находиться в состоянии гипергликемии, что и оказывает негативное влияние на функцию почек. Отсутствие возможности использования современных нефропротективных препаратов (блокаторов натрий-глюкозного котранспортера 2-го типа; агонистов глюкагоноподобного пептида-1, тиазолидинионов), которые замедляют прогрессирование ХБП, — важная проблема у пациентов с СД 1-го типа. Использование данных препаратов у пациентов с СД 1-го типа недостаточно изучено и на данный момент противопоказано [10]. Для лиц с СД 2-го типа, наоборот, использование нефропротективных препаратов оказывает положительный эффект на течение ДН, поддерживая скорость клубочковой фильтрации (СКФ) и снижая альбуминурию [11]. В клинической лабораторной диагностике есть методы оценки тяжести диабетических осложнений, в частности, ДН. Однако все они (определение фильтрационной функции почек с помощью креатинина расчетными методами, альбумин/креатининовый коэффициент в разовой порции мочи, микро/макроальбуминурии в суточной моче, цистатина С и др.) эффективны при уже наступившей ХБП. Нет четких маркеров, предупреждающих врачей о вероятности тяжелого течения диабета и его осложнений, в частности, ДН. На наш взгляд, информировать врача о риске осложнений и о тяжести течения диабета могут молекулярно-генетические маркеры. Среди всего множества генов важно выбрать те, которые с высокой чувствительностью и специфичностью будут влиять на течение ДН. Ведущие диабетологи нашей страны описали важность поиска полигенных ассоциаций, а не индивидуальных генов, и в качестве одних из генов-кандидатов выделили гены, ответственные за антиоксидантную защиту [12]. Введение в клинико-лабораторную диагностику точечных генетических

ассоциаций позволит врачу определять степень риска тяжелого течения диабета и его осложнений, своевременно проводить профилактику данных осложнений, интенсифицировать сахароснижающую терапию, увеличивать количество профилактических осмотров пациентов, делая упор на профилактику и выявление того осложнения, которое генетически определено. А это представляет собой базовое звено персонализированной медицины в целом и персонализированной клинико-лабораторной диагностики в частности.

При поиске возможных генов-кандидатов, участвующих в патогенезе ДН, мы заинтересовались ролью гена *GSTP1 (I105V)*. Данный ген кодирует фермент глутатион-S-трансферазу (GST) — один из основных участников процесса биотрансформации ксенобиотиков. В норме GST содействует взаимодействию глутамата с электрофильными атомами азота (N), углерода (C), серы (S) и кислорода (O) и обеспечивает конъюгацию сульфидгидрильной группы с молекулами ксенобиотиков. Процесс детоксикации, осуществляемый GST, служит ключевым в защите клеток от перекисидации липидов и алкилирования белков, что повышает устойчивость к гипоксическим состояниям [13]. Полиморфизм *I105V (A>G)* гена *GSTP1* связан с заменой нуклеотида аденина (A) на гуанин (G), что приводит к замене аминокислоты в пептидной цепи фермента, вызывая снижение его активности и, соответственно, увеличение накопления свободных радикалов в организме. У носителей генотипа G/G наблюдают повышенный риск развития различных форм рака легких и ротовой полости [14]. Полиморфизм также связан с предрасположенностью к лейкемии и болезни Паркинсона. Известны делеционные полиморфизмы (*GSTM (del)*, *GSTT1*), которые определяют функционально неактивные нулевые аллели. Предполагают, что у индивидуумов с гомозиготным состоянием этих делеций снижена способность детоксикации химических веществ. Чаще всего эти полиморфизмы обнаруживают у женщин с эндометриозом и у людей с аллергическими заболеваниями [15]. В последнее время стало известно об исследованиях, в которых ген *GSTP1 (I105V)* вместе с генами транспортера гликопротеина P (MDR1), органических катионов (OCT1) и органических анионов (OATP-C, OAT1, OAT3) оказывает влияние на фармакокинетику лекарственных препаратов [16].

Цель данной работы — выявление молекулярно-генетических маркеров, определяющих тяжесть течения диабетической нефропатии у пациентов с СД 1-го и 2-го типа на основании изучения гена *GSTP1 (I105V)*.

## ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Исследование было проведено на базе кафедры эндокринологии факультета повышения квалификации и профессиональной переподготовки специалистов ФГБОУ ВО «Кубанский Государственный медицинский университет МЗ КК». Набор пациентов осуществляли на базе Краевой клинической больницы скорой медицинской помощи г. Краснодара. В это открытое проспективное когортное исследование был включен 51 человек с СД 2-го типа и 49 человек с СД 1-го типа. Критерии включения в исследование: возраст пациентов — от 20 до 60 лет; длительность течения СД 1-го и 2-го типа — от 10 до 15 лет; уровень гликированного гемоглобина — 7,0–9,5%; уровень скорости клубочковой фильтрации более 45 мл/мин/1,73м<sup>2</sup>, вне зависимости от уровня суточной альбуминурии; использование в



качестве сахароснижающей терапии препаратов без нефропротективного эффекта (бигуаниды; препараты сульфонилмочевины; ингибиторы дипептидилпептидазы 4-го типа; инсулин); отсутствие тяжелых сопутствующих заболеваний на момент исследования. Лица, не соответствующие данным критериям, были исключены из исследования. Была также сформирована контрольная группа из 20 условно здоровых доноров (13 женщин и 7 мужчин), не являющихся родственниками пациентов основной группы и не имеющих в анамнезе СД и патологии почек.

Клинико-лабораторные исследования проводили на основе образцов сыворотки крови, полученных при центрифугировании пробирок с полной венозной кровью со скоростью 3 тыс. об./мин в течение 5 мин при комнатной температуре. Уровни глюкозы натощак и постпрандиальной гликемии, а также общий анализ крови, биохимический анализ крови оценивали на анализаторе Konelab (Thermo Fisher Scientific; Финляндия), общий и суточный анализ мочи оценивали у пациентов на биохимическом анализаторе SYNCHRON CX9 PRO (Beckman Coulter; США) иммунотурбидиметрическим методом. Расчетным методом по формуле СКД-ЕРІ оценивали уровень СКФ (мл/мин/1,73 м<sup>2</sup>).

Состояние баланса в системе про-/антиоксидантов организма наблюдаемых пациентов и контрольной группы оценивали по активности ферментов системы антиоксидантной защиты (супероксиддисмутазы (СОД) [17], каталазы (КАТ) [18], глутатионтрансферазы (GST) [19], уровень малонового диальдегида (МДА) [20]). Определение активности СОД осуществляли по способности ингибировать реакцию аутоокисления адреналина в щелочной среде. Измерение скорости реакции оценивали спектрофотометрическим методом, исходя из полученной оптической плотности высвобождающихся продуктов аутоокисления адреналина в исследуемом образце и в сравнении полученных данных при его отсутствии в исследуемом образце крови. Измерение КАТ в гемолизате осуществляли фотометрически, и оно было основано на способности разрушать Н<sub>2</sub>О<sub>2</sub>. Суть метода определения GST заключалась в способности восстановленного глутатиона (который присутствует в субстрате — 1%-м гемолизате эритроцитов пациента) связываться с 1-хлор-2,4-динитробензолом, образуя стойкий хромогенный конъюгат в щелочной среде. Качественную реакцию по уровню оценки МДА в гемолизате и измерение его концентрации производили посредством добавления тиобарбитуровой кислоты в присутствии хлоруксусной кислоты.

Молекулярно-генетическое исследование гена *GSTP1* (*I105V*) происходило в лаборатории молекулярно-генетических исследований ФГБОУ КубГМУ МЗ КК, г. Краснодар. Методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) из лейкоцитарной фракции в режиме реального времени — real time (ПЦР-РВ) — на амплификаторе RotorGene (QIAGEN; Германия) выполняли генотипирование локуса *I105V* гена *GSTP1*. С образцом выделенной ДНК параллельно проводили две реакции амплификации —

с двумя парами аллель-специфичных праймеров. Прибором автоматически осуществляли детекцию продуктов амплификации в каждом цикле амплификации. По полученным данным управляющая программа строила кривые накопления флуоресцентного сигнала по заданному для образцов каналу. Результаты анализа позволяли дать три типа заключений: гомозигота по аллели 1; гетерозигота; гомозигота по аллели 2.

### Статистический анализ

Достоверность различий в распределении частот генотипов между группами пациентов с СД и здоровых лиц оценивали по тесту  $\chi^2$ , количественные показатели в клинических характеристиках пациентов — по критерию Стьюдента. Расчеты выполнены с помощью программы BIOSTAT. Статистически значимыми считали различия при  $p < 0,05$ . Для определения соответствия распределению Харди–Вайнберга были рассчитаны частоты для каждого варианта аллелей и соответствующий им уровень  $\chi^2$ . Критическое значение  $\chi^2$  превышало рассчитанные значения по каждой группе, что говорит о том, что равновесие Харди–Вайнберга сохранялось.

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

У пациентов с СД 2-го типа были обнаружены следующие процентные соотношения носителей полиморфизмов гена *GSTP1* (*I105V*): 25,5% гетерозиготных носителей (*I/LE/VAL*), 62,7% гомозиготных носителей по аллелю 1 (*I/LE/I/LE*) и 11,8% гомозиготных носителей по аллелю 2 (*VAL/VAL*). У пациентов с СД 1-го типа доля пациентов с гетерозиготным (*I/LE/VAL*) вариантом гена составила 34,7%, гомозиготным по аллелю 1 (*I/LE/I/LE*) — 65,3%, а гомозиготным по аллелю 2 выявлено не было. Эти данные существенно отличаются от контрольной группы, где 65% были гетерозиготными носителями (*I/LE/VAL*), 35% — гомозиготными носителями (*I/LE/I/LE*) и не было обнаружено носителей гомозиготы по аллелю 2 (*VAL/VAL*) (табл. 1).

Далее мы приступили к изучению зависимости функции почек от варианта генетического полиморфизма исследуемого гена. У пациентов с СД 2-го типа значимых различий в уровне СКФ и суточной альбуминурии между гетерозиготными носителями (*I/LE/VAL*) и гомозиготными носителями по аллелю 1 (*I/LE/I/LE*) гена *GSTP1* выявлено не было. Средний уровень СКФ в подгруппах гомозиготного и гетерозиготного полиморфизма у лиц с СД 2-го типа составил 64 мл/мин/1,73 м<sup>2</sup>, а средний уровень белка в суточной моче — 0,18 г/л. Однако пациенты с СД 2-го типа — носители редкой гомозиготы по аллелю 2 (*VAL/VAL*) — имели значительно худшие показатели: средний уровень СКФ в этой подгруппе составил 48 мл/мин/1,73 м<sup>2</sup>, средний уровень альбуминурии в суточной моче — 0,9 г/л. По остальным биохимическим показателям крови статистически значимых различий между аллельными вариантами исследуемого гена у лиц с СД 2-го типа выявлено не было.

Таблица 1. Сравнение частот аллелей по гену *GSTP1* (*I105V*) в исследуемых группах

Генетический вариант	СД 1-го типа	СД 2-го типа	$\chi^2$	$p$	OR (95%CI)
<i>GSTP1</i> ( <i>I105V</i> )					
Гомозигота 1 ( <i>I/LE/I/LE</i> ), %	65,3 (32/49)	62,7 (32/51)	6,572	0,039	0,895 (0,395–2,026)
Гомозигота 2 ( <i>VAL/VAL</i> ), %	0 (0/49)	11,8 (6/51)			–
Гетерозигота ( <i>I/LE/VAL</i> ), %	34,7 (17/49)	25,5 (13/51)			0,644 (0,272–1,524)

**Таблица 2.** Особенности изменения показателей липидного профиля и гликированного гемоглобина у больных СД 1-го типа с различными аллельными вариантами гена *GSTP1* (*I105V*)

Ген	Группа	Гликированный гемоглобин	ЛПОНП	Триглицериды	Холестерин
<i>GSTP1</i> ( <i>I105V</i> )	Гетерозигота ( <i>I105V/VAL</i> )	9,41* ± 2,13	4,07 ± 1,46	2,85 ± 1,24**	5,14 ± 0,88
	Гомозигота 1 ( <i>I105V/I105V</i> )	8,74 ± 2,30	3,36 ± 1,15	1,75 ± 0,67	5,00 ± 1,33

**Примечание:** \* — различия между группой больных с СД 1-го типа с полиморфизмом гена в гетерозиготном состоянии и пациентами с СД 1-го типа с полиморфизмом гена в гомозиготном состоянии (гомозигота по аллелю 1) при  $p < 0,05$  (\*\* — при  $p < 0,01$ , \*\*\* — при  $p < 0,001$ ).

При оценке аналогичных показателей у гомо- и гетерозиготных носителей полиморфизмов гена *GSTP1* (*I105V/Val*) в группе пациентов с СД 1-го типа значимых различий в показателях функции почек (СКФ и уровень суточной альбуминурии) получено не было. Зато было выявлено статистически значимое повышение уровня триглицеридов в 1,6 раз и повышение уровня гликированного гемоглобина в 1,1 раз у гетерозиготных носителей (*I105V/VAL*) гена по сравнению с гомозиготными носителями (*I105V/I105V*) ( $p < 0,05$ ) (табл. 2).

Сравнение показателей функции почек между пациентами с СД 1-го типа, 2-го типа и группой контроля не проводили, так как контрольная группа была представлена здоровыми лицами.

На следующем этапе мы приступили к изучению зависимости активности ферментов антиоксидантной защиты (АОЗ) и уровня МДА от варианта генетического полиморфизма исследуемого гена. Наиболее значимое повышение активности ферментов АОЗ (каталазы и супероксиддисмутазы) у пациентов с СД 2-го типа было отмечено у гомозиготных носителей по аллелю 1 по сравнению с гетерозиготными и гомозиготными по аллелю 2 носителями полиморфизмов гена *GSTP1*. Однако уровень средних конечных продуктов гликации — МДА — в подгруппе носителей редкой гомозиготы по аллелю 2 (*VAL/VAL*) был значительно выше (100,5 мкмоль/л), чем при других полиморфизмах ( $p < 0,001$ ) [21].

У пациентов с СД 1-го типа носители гетерозиготного полиморфизма (*I105V/VAL*) гена *GSTP1* имели более высокий уровень МДА, GST и каталазы по сравнению с гомозиготными носителями полиморфизма данного гена ( $p < 0,001$ ,  $p < 0,001$ ,  $p < 0,05$ ).

При сравнении полученных данных между пациентами с СД 1-го типа, 2-го типа и контрольной группой закономерно было выявлено статистически значимое преобладание активности ферментов АОЗ и уровня МДА у лиц с СД (табл. 3).

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Исходя из проведенного исследования, можно сделать вывод, что процент встречаемости гетерозиготного полиморфизма (*I105V/VAL*) гена *GSTP1* у лиц с СД 1-го и 2-го типа достоверно более высокий, чем у лиц из группы контроля. По обоим полиморфизмам распределение генотипов соответствовало равновесию Харди-Вайнберга и значительно не отличалось от данных SNP database [22]. Кроме того, у лиц с СД 2-го типа был выявлен редкий генотип *Val/Val*, чего не было отмечено ни у одного из исследуемых пациентов с СД 1-го типа и контрольной группы ( $\chi^2 = 6,572$ ,  $p = 0,039$ ).

Пациенты с СД 2-го типа — носители редкого гомозиготного по аллелю 2 (*Val/Val*) варианта полиморфизма гена *GSTP1* — имели более высокие уровни МДА (маркера свободно-радикального окисления) и более высокую активность ферментов окислительного стресса. В одном из исследований была продемонстрирована четкая взаимосвязь данного варианта полиморфизма с развитием СД 2-го типа, однако его влияния на развитие такого осложнения, как диабетическая полинейропатия, доказано не было [23]. В нашей работе у пациентов с редкой гомозиготой по аллелю 2 было отмечено достоверно более тяжелое течение ДН (средняя СКФ — 48 мл/мин/1,73 м<sup>2</sup>; средний уровень альбуминурии в

**Таблица 3.** Показатели системы антиоксидантной защиты и перекисного окисления липидов у лиц с различными полиморфными вариантами гена *GSTP1* (*I105V/Val*)

<i>I105V/Val</i>	МДА (мкмоль/л)	КАТ (нмоль H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /мг Hb)	GST (мкмоль/мин/мг белка)	СОД (усл. ед.)
Пациенты с СД 2-го типа генотип ( <i>I105V/Val</i> ) $n = 14$	24,6 ± 2,78* $p < 0,001$	40,3 ± 4,17* $p < 0,05$	30,0 ± 3,2* $p < 0,05$	81,8 ± 4,6* $p < 0,05$
Пациенты с СД 2-го типа генотип ( <i>I105V/I105V</i> ) $n = 31$	34,90 ± 2,5** $p < 0,001$	40,7 ± 1,6** $p < 0,001$	42,2 ± 2,3** $p < 0,001$	89,1 ± 2,2** $p < 0,001$
Пациенты с СД 2-го типа генотип ( <i>Val/Val</i> ) $n = 5$	100,5 ± 4,7*** $p < 0,05$	42,1 ± 8,3*** $p < 0,001$	29,6 ± 6,9*** $p < 0,05$	89,2 ± 8,4*** $p < 0,05$
Пациенты с СД 1-го типа генотип ( <i>I105V/Val</i> ) $n = 17$	37,23 (32,37; 40,90) ### $p < 0,001$	43,36 (37,03; 51,97) # $p < 0,05$	53,02 (44,26; 59,08) ### $p < 0,001$	88,44 (81,10; 98,74)
Пациенты с СД 1-го типа генотип ( <i>I105V/I105V</i> ) $n = 32$	23,30 (17,36; 28,05)	38,04 (27,82; 43,28)	29,41 (23,69; 40,38)	87,20 (73,09; 99,75)
Контрольная группа генотип ( <i>I105V/Val</i> ) $n = 13$	6,4 ± 0,5	30,5 ± 1,6	28,1 ± 1,33	75,0 ± 3,07
Контрольная группа генотип ( <i>I105V/I105V</i> ) $n = 7$	5,8 ± 0,49	33,08 ± 3,4	32,5 ± 3,15	73,8 ± 3,08

**Примечание:** МДА — малоновый диальдегид; СОД — супероксиддисмутаза; КАТ — каталаза; GST — глутатионтрансфераза. \* — в сравнении с гетерозиготными носителями исследуемого гена в контрольной группе; \*\* — в сравнении с гомозиготными носителями исследуемого гена в контрольной группе; \*\*\* — в сравнении с показателями основной группы генотипов (*I105V/Val*) и (*I105V/I105V*); # — различия между группой больных с СД 1-го типа с вариантом гена в гетерозиготном состоянии (*I105V/Val*) и пациентами с СД 1-го типа с вариантом гена в гомозиготном состоянии (*I105V/I105V*) при  $p < 0,05$  (## — при  $p < 0,01$ ; ### — при  $p < 0,001$ ).

суточной моче — 0,9 г/л). Вероятно, это связано с тем, что именно данный генетический вариант приводит к сниженной активности вырабатываемого белка — GST, что не обеспечивает адекватную детоксикацию ксенобиотиков и приводит к повышению активности свободно-радикального окисления. Это проявляется повышением уровня маркера свободнорадикального окисления — МДА. Так формируются условия для активного протекания перекисного окисления липидов во всех клетках, но особенно в наиболее чувствительных к гипоксическому повреждению — нефронах. Многокомпонентное повреждение структуры нефронов приводит к снижению фильтрационной функции почек (повышение креатинина и снижение СКФ) и реабсорбционной функции почек (повышение суточной альбуминурии) в когорте пациентов с СД 2-го типа. Аналогичные данные были получены и в исследовании, в котором авторы подтвердили взаимосвязь между редким гомозиготным полиморфизмом (VAL/VAL) и терминальной стадией почечной недостаточности [24].

У гетерозиготных (LEVAL) носителей гена *GSTP1* (I105V) с СД 1-го типа отмечен статистически значимо более высокий уровень активности ферментов АОЗ и уровень МДА по сравнению с гомозиготными полиморфизмами. GST, как антиоксидантный фермент, защищает ткани от окислительного повреждения, типичного для многих патологических состояний, особенно таких, как СД 1-го типа и его хронические осложнения. Вероятно, именно в гетерозиготном состоянии данный полиморфизм является более патогенным. Похожие результаты были получены и в работе, где была выявлена взаимосвязь между данным генетическим полиморфизмом и развитием диабетического осложнения — кардиальной автономной полинейропатии — у пациентов с СД 1-го типа [25]. У пациентов с СД 1-го типа и гетерозиготным вариантом полиморфизма также наблюдают статистически значимое повышение уровня триглицеридов в 1,6 раз. Судя по этим данным, можно предположить, что у гетерозиготных носителей снижена активность триацилглицероллипазы, что приводит к замедлению процесса распада

триглицеридов. Это обусловлено влиянием окислительного стресса и некоторых гормонов, таких как норадреналин, адреналин, глюкагон и др. Отмечено, что активностью данного фермента может изменяться под воздействием указанных факторов [26]. Кроме того, у данной подгруппы пациентов также статистически значимо определяли более высокий уровень гликированного гемоглобина, что также коррелировало с повышением уровня МДА и повышением активности KAT и GST.

## ВЫВОДЫ

В основе персонализированной медицины лежит индивидуальный подход к особенностям каждого пациента. Введение в клинику-лабораторную диагностику молекулярно-генетического исследования гена *GSTP1* (LEVAL) позволит выявлять пациентов с СД 1-го и 2-го типа с высоким уровнем окислительного стресса и повышенным риском тяжелого течения ДН. В клинической лабораторной диагностике при СД 1-го типа рекомендовано определять гетерозиготный (LEVAL) вариант гена *GSTP1* (I105V), который сочетается с повышением уровня свободнорадикального окисления и активностью ферментов АОЗ, а также может приводить к статистически значимо более высокому уровню гликированного гемоглобина и триглицеридов. А для пациентов с СД 2-го типа рекомендовано определять редкий гомозиготный по аллелю 2 (VAL/VAL) вариант гена *GSTP1* (I105V), который сочетается с повышением уровня свободнорадикального окисления и повышением активности ферментов окислительного стресса, а также со снижением функции почек (увеличением суточной альбуминурии и снижением СКФ). Данные исследования также могут лечь в основу создания генетической панели, в составе которой будут определены полигенные последовательности, увеличивающие достоверность и более точно прогнозирующие тяжесть течения и сроки наступления диабетических осложнений. Однако для этого необходимо расширять исследования в данной сфере.

## Литература

- Иванец Н. В. Научное обоснование совершенствования управления деятельностью централизованной клиничко-диагностической лаборатории [диссертация]. Национальный научно-исследовательский институт общественного здоровья РАМН, 2015.
- Пальцев М. А. Персонализированная медицина. Наука в России. 2011; 1: 12–7. ISSN 0869-7078.
- Бибикова В. В., Эмануэль В. Л. Современное положение специализированной клиничко-диагностической лаборатории и ее роль при переходе к персонализированной медицине. Лабораторная служба. 2020; 9 (3): 16–23.
- Heerspink HJ, Cherney DZ, Groop PH, Matthieu C, Rossing P, Tuttle KR. People with type 1 diabetes and chronic kidney disease urgently need new therapies: a call for action. *The Lancet Diabetes & Endocrinology*. 2023; 11 (8): 536–40.
- Асфандиярова Н. С. Смертность при сахарном диабете 2-го типа. *Сахарный диабет*. 2015; 18 (4): 12–21. DOI: 10.14341/DM6846.
- Rawshani A, Sattar N, Franzén S, McGuire DK, Eliasson B. Relative prognostic importance and optimal levels of risk factors for mortality and cardiovascular outcomes in type 1 diabetes mellitus. *Circulation*. 2019; 139 (16): 1900–12.
- De Boer IH, Khunti K, Sadusky T, Tuttle KR, Neumiller JJ, Rhee CM, et al. Diabetes management in chronic kidney disease: a consensus report by the American Diabetes Association (ADA) and Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO). *Diabetes Care*. 2022; 45 (12): 3075–90. DOI: 10.1016/j.kint.2022.08.012.
- Piani MIF, Tommerdahl KL, Severn C, Chung LT, MacDonald A, et al. Aminoaciduria and metabolic dysregulation during diabetic ketoacidosis: results from the diabetic kidney alarm (DKA) study. *Journal of Diabetes and its Complications*. 2022; 36 (6): 108203. DOI: 10.1016/j.jdiacom.2022.108203.
- Дедов И. И., Шестакова М. В., Викулова О. К. Сахарный диабет в Российской Федерации: распространенность, заболеваемость, смертность, параметры углеводного обмена и структура сахароснижающей терапии по данным Федерального регистра сахарного диабета, статус 2017 г. *Сахарный диабет*. 2018; 21 (3): 144–59.
- Шестакова М. В. Сахарный диабет и хроническая болезнь почек: современная диагностика и лечение. *Вестник Российской академии медицинских наук*. 2012; 67 (1): 45–9.
- Иллариошкин С. Н. Современные представления об этиологии болезни Паркинсона. *Неврологический журнал*. 2015; 20 (4): 4–13.
- Liu D, Liu Y, Ran L, Shang H, Li D. GSTT1 and GSTM1 polymorphisms and prostate cancer risk in Asians: a systematic review and meta-analysis. *Tumor Biology*. 2013; 34: 2539–44.

13. Santric V, Djokic M, Suvakov S, Pljesa-Ercegovac M, Nikitovic M, Radic T, et al. GSTP1 rs1138272 polymorphism affects prostate cancer risk. *Medicina*. 2020; 56 (3): 128.
14. ZamekGliszczynski MJ, Giacomini KM, Zhang L. Emerging clinical importance of hepatic organic cation transporter 1 (OCT1) in drug pharmacokinetics, dynamics, pharmacogenetic variability, and drug interactions. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*. 2018; 5: 758–60.
15. Могилenkova Л. А., Рембовский В. Р. Роль генетического полиморфизма и различия в детоксикации химических веществ в организме человека. *Гигиена и санитария*. 2016; 95 (3): 255–62.
16. Westphal C, Konkel A, Schunck WH. Cytochrome p450 enzymes in the bioactILE/VALation of polyunsaturated Fatty acids and their role in cardiovascular disease. *Monooxygenase, Peroxidase and Peroxygenase Properties and Mechanisms of Cytochrome P450*. 2015; 151–87.
17. Сирота Т. В. Новый подход в исследовании процесса аутоокисления адреналина и использование его для измерения активности супероксиддисмутазы. *Вопросы медицинской химии*. 1999; 45 (3): 263–72.
18. Королюк М. А., Иванова Л. И., Майорова И. Г., Токарев В. Е. Метод определения активности каталазы. *Лабораторное дело*. 1988; 1: 16–9.
19. Karpishchenko AI. *Medical laboratory technologies and diagnostics: Guide. Vol. 2: Medical laboratory technologies*. St. Petersburg: Intermedica, 1999; p. 792.
20. Stalnaya ID, Garishvili TG, 1977. Method of determination of malonic dialdehyde using thiobarbituric acid. In: *Modern methods in biochemistry*. M.: Medicine, 1977; p. 66–8.
21. Костюшок Н. Я., Павлюченко И. И., Иванова Л. А., Прозоровская Ю. И. Роль гена второй фазы системы биотрансформации ксенобиотиков *gstp1 (ile105val)* в развитии диабетической нефропатии у пациентов с сахарным диабетом 2-го типа. *Современные проблемы науки и образования*. 2022; 4. Доступно по ссылке: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=31902>.
22. National Center for Biotechnology Information: Single Nucleotide Polymorphism Database (1998). Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/>.
23. Stoian A, Bănescu C, Bălașa RI, Moțățianu A, Stoian M, Moldovan VG, et al. Influence of GSTM1, GSTT1, and GSTP1 polymorphisms on type 2 diabetes mellitus and diabetic sensorimotor peripheral neuropathy risk. *Disease markers*. 2015; 2015: 638693.
24. Agrawal S, Tripathi G, Khan F, Sharma R, Baburaj VP, et al. Relationship between GSTs gene polymorphism and susceptibility to end stage renal disease among North Indians. *Renal failure*. 2007; 29 (8): 947–53.
25. Vojtková J, Ďurdík P, Čiljaková M, Michnová Z, Turčan T, Babušíková E. The association between glutathione S-transferase T1 and M1 gene polymorphisms and cardiovascular autonomic neuropathy in Slovak adolescents with type 1 diabetes mellitus. *Journal of Diabetes and its Complications*. 2013; 27 (1): 44–8.
26. Перова Н. В., Драпкина О. М. Триглицериды: структура, метаболизм, физиологические функции. М.: ООО «Видокс», 2021; 192 с.

## References

1. Ivanets NV. *Nauchnoe obosnovanie sovershenstvovaniya upravleniya deyatelnost'yu tsentralizovannoy kliniko-diagnosticheskoy laboratorii [dissertation]*. Natsional'nyy nauchno-issledovatel'skiy institut obshchestvennogo zdorov'ya RAMN, 2015. Russian.
2. Paltsev MA. *Personalizirovannaya meditsina. Nauka v Rossii*. 2011; 1: 12–7. ISSN 0869-7078. Russian.
3. Bibikova VV, Emanuel VL. Current Status of Specialized Clinical Laboratory and its Role in Facilitating a Transition Towards Personalized Medicine. *Laboratory Service*. 2020; 9 (3): 16–23. Russian.
4. Heerspink HJ, Cherney DZ, Groop PH, Matthieu C, Rossing P, Tuttle KR. People with type 1 diabetes and chronic kidney disease urgently need new therapies: a call for action. *The Lancet Diabetes & Endocrinology*. 2023; 11 (8): 536–40.
5. Asfandiyarova NS. A review of mortality in type 2 diabetes mellitus. *Diabetes mellitus*. 2015; 18 (4): 12–21. DOI: 10.14341/DM6846. Russian.
6. Rawshani A, Sattar N, Franzén S, McGuire DK, Eliasson B. Relative prognostic importance and optimal levels of risk factors for mortality and cardiovascular outcomes in type 1 diabetes mellitus. *Circulation*. 2019; 139 (16): 1900–12.
7. De Boer IH, Khunti K, Sadusky T, Tuttle KR, Neumiller JJ, Rhee CM, et al. Diabetes management in chronic kidney disease: a consensus report by the American Diabetes Association (ADA) and Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO). *Diabetes Care*. 2022; 45 (12): 3075–90. DOI: 10.1016/j.kint.2022.08.012.
8. Piani MIF, Tommerdahl KL, Severn C, Chung LT, MacDonald A, et al. Aminoaciduria and metabolic dysregulation during diabetic ketoacidosis: results from the diabetic kidney alarm (DKA) study. *Journal of Diabetes and its Complications*. 2022; 36 (6): 108203. DOI: 10.1016/j.jdiacomp.2022.108203.
9. Dedov II, Shestakova MV, Vikulova OK, Zheleznyakova AV, Isakov MA. Diabetes mellitus in Russian Federation: prevalence, morbidity, mortality, parameters of glycaemic control and structure of glucose lowering therapy according to the Federal Diabetes Register, status 2017. *Diabetes mellitus*. 2018; 21 (3): 144–59. Russian.
10. Shestakova MV. Diabetes mellitus and chronic kidney disease: modern diagnostics and treatment. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2012; 67 (1): 45–9. Russian.
11. Illarishkin SN. Modern view on etiology of parkinson's disease. *Neurologicheskiy zhurnal*. 2015; 20 (4): 4–13. Russian.
12. Liu D, Liu Y, Ran L, Shang H, Li D. GSTT1 and GSTM1 polymorphisms and prostate cancer risk in Asians: a systematic review and meta-analysis. *Tumor Biology*. 2013; 34: 2539–44.
13. Santric V, Djokic M, Suvakov S, Pljesa-Ercegovac M, Nikitovic M, Radic T, et al. GSTP1 rs1138272 polymorphism affects prostate cancer risk. *Medicina*. 2020; 56 (3): 128.
14. ZamekGliszczynski MJ, Giacomini KM, Zhang L. Emerging clinical importance of hepatic organic cation transporter 1 (OCT1) in drug pharmacokinetics, dynamics, pharmacogenetic variability, and drug interactions. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*. 2018; 5: 758–60.
15. Mogilenkova LA, Rembovskiy VR. Role of genetic polymorphism and differences in the detoxification of chemical substances in the human body. *Hygiene and Sanitation*. 2016; 95 (3): 255–62. Russian.
16. Westphal C, Konkel A, Schunck WH. Cytochrome p450 enzymes in the bioactILE/VALation of polyunsaturated Fatty acids and their role in cardiovascular disease. *Monooxygenase, Peroxidase and Peroxygenase Properties and Mechanisms of Cytochrome P450*. 2015; 151–87.
17. Sirota TV. *Novyy podkhod v issledovanii protsessa autookisleniya adrenalina i ispol'zovanie ego dlya izmereniya aktivnosti superoksidismutazy. Voprosy meditsinskoy khimii*. 1999; 45 (3): 263–72. Russian.
18. Korolyuk MA, Ivanova LI, Mayorova IG, Tokarev VE. *Metod opredeleniya aktivnosti katalazy. Laboratornoe delo*. 1988; 1: 16–9. Russian.
19. Karpishchenko AI. *Medical laboratory technologies and diagnostics: Guide. Vol. 2: Medical laboratory technologies*. St. Petersburg: Intermedica, 1999; p. 792.
20. Stalnaya ID, Garishvili TG, 1977. Method of determination of malonic dialdehyde using thiobarbituric acid. In: *Modern methods in biochemistry*. M.: Medicine, 1977; p. 66–8.
21. Kostyushok NY, Pavlyuchenko II, Ivanova LA, Prozorovskaya YI. The role of the gene of the second phase of the xenobiotic biotransformation system *gstp1 (ile105val)* in the development of diabetic nephropathy in patients with type 2 diabetes mellitus. *Modern problems of science and education*. 2022; 4. Available from: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=31902>. Russian.



22. National Center for Biotechnology Information: Single Nucleotide Polymorphism Database (1998). Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/>.
23. Stoian A, Bănescu C, Bălașa RI, Moțășianu A, Stoian M, Moldovan VG, et al. Influence of GSTM1, GSTT1, and GSTP1 polymorphisms on type 2 diabetes mellitus and diabetic sensorimotor peripheral neuropathy risk. *Disease markers*. 2015; 2015: 638693.
24. Agrawal S, Tripathi G, Khan F, Sharma R, Baburaj VP, et al. Relationship between GSTs gene polymorphism and susceptibility to end stage renal disease among North Indians. *Renal failure*. 2007; 29 (8): 947–53.
25. Vojtková J, Ďurdík P, Čiljaková M, Michnová Z, Turčan T, Babušíková E. The association between glutathione S-transferase T1 and M1 gene polymorphisms and cardiovascular autonomic neuropathy in Slovak adolescents with type 1 diabetes mellitus. *Journal of Diabetes and its Complications*. 2013; 27 (1): 44–8.
26. Perova NV, Drapkina OM. Triglitseridy: struktura, metabolizm, fiziologicheskie funktsii. M.: OOO «Vidoks», 2021; p. 192. Russian.

## ВЛИЯНИЕ ФОНОВОЙ ЛИМФОПЕНИИ НА РЕАКТИВНОСТЬ ПОКАЗАТЕЛЕЙ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОГО ИММУНИТЕТА В ОТВЕТ НА ОБЩЕЕ ХОЛОДОВОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ

В. П. Патракеева <sup>✉</sup>, Е. В. Контиевская

Федеральный исследовательский центр комплексного изучения Арктики имени Н. П. Лаверова Уральского отделения Российской академии наук, Архангельск, Россия

Лимфопения — состояние, при котором концентрация лимфоцитов ниже физиологической нормы. Сочетание лимфопении и длительного воздействия низких температур приводит к сокращению резервов адаптационных ресурсов, повышая риск формирования хронических воспалительных процессов и вторичных экологически обусловленных иммунодефицитов. Цель исследования — сравнить особенности реактивности иммунных показателей в ответ на общее охлаждение в зависимости от фонового уровня лимфоцитов. Проведено изучение изменения гематологических и иммунологических показателей у 203 человек до и сразу после общего охлаждения. У обследованных проводили измерение температуры лба и тыльной стороны ладони, артериального давления и частоты сердечных сокращений, лейкограмму и гемограмму. Методом иммуноферментного анализа определено содержание ферритина, лактоферрина, трансферрина, интерлейкина-6, интерлейкина-1β и TNFα, эритропоэтина, ирисина. Уровень апоптоза и некроза лимфоцитов определяли методом проточной цитометрии двойным окрашиванием AnV/PI. Вне зависимости от фонового уровня лимфоцитов в периферической крови регистрировали однотипные реакции на общее кратковременное охлаждение со стороны сердечно-сосудистой системы, уровня ирисина и ферритина, что свидетельствует о включении механизмов терморегуляции и сохранении теплового гомеостаза. Лимфопения ассоциируется со снижением активности неспецифической защиты, в ответ на холодное воздействие не происходит изменения уровня и функциональной активности циркулирующих нейтрофильных гранулоцитов, что повышает риск хронизации инфекционных процессов в данной группе.

**Ключевые слова:** лимфопения, адаптация, человек, NLR, ферритин, трансферрин, лактоферрин, холод

**Финансирование:** работа выполнена в рамках программы фундаментальных научных исследований по теме лаборатории экологической иммунологии Института физиологии природных адаптаций ФГБУН ФИЦКИА УрО РАН № гос. регистрации 122011300377-5.

**Вклад авторов:** В. П. Патракеева — планирование исследования, сбор, обработка и интерпретация данных, анализ литературы, подготовка рукописи; Е. В. Контиевская — сбор и обработка данных.

**Соблюдение этических стандартов:** исследование проводили с письменного согласия волонтеров, в соответствии с принципами Хельсинкской декларации 1975 г. (2013 г.). Исследование одобрено этической комиссией ИФПА ФГБУН ФИЦКИА УрО РАН (протокол № 4 от 7 декабря 2016 г., протокол № 6 от 14 февраля 2022 г.).

✉ **Для корреспонденции:** Вероника Павловна Патракеева  
пр. Никольской, д. 20, г. Архангельск, 163020, Россия; patrakeewa.veronika@yandex.ru

**Статья получена:** 18.09.2023 **Статья принята к печати:** 02.02.2024 **Опубликована онлайн:** 19.03.2024

**DOI:** 10.47183/mes.2024.005

## THE IMPACT OF BACKGROUND LYMPHOPENIA ON THE REACTIVITY OF NONSPECIFIC IMMUNITY IN RESPONSE TO TOTAL BODY COLD EXPOSURE

Patrakeeva VP <sup>✉</sup>, Kontievskaya EV

N. Laverov Federal Center for Integrated Arctic Research, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Arkhangelsk, Russia

Lymphopenia is a condition in which there are lower than normal counts of lymphocytes in the blood. Combination of lymphopenia and prolonged exposure to low temperatures leads to a reduction of adaptive resources, increasing risks of chronic inflammatory processes and secondary environmentally induced immunodeficiencies. The aim of the study was to compare characteristics of immune reactivity in response to cold exposure depending on background level of lymphocytes. Changes in hematologic and immunologic parameters in 203 participants before and immediately after short-term cold exposure were studied. Measurements included skin temperature (forehead, backside of palm), blood pressure, heart rate, leukogram, and hemogram. Levels of ferritin, lactoferrin, transferrin, interleukin-6, interleukin-1β, TNFα, erythropoietin, and irisin were determined using the enzyme immunoassay method. Apoptosis and necrosis of lymphocytes were assessed by flow cytometry analysis using AnV/PI double staining assay. Regardless of the background level of lymphocytes in peripheral blood, same-type responses to short-term cold exposure were observed in cardiovascular system as well as in irisin and ferritin levels, providing an evidence of activating thermoregulation and thermal homeostasis mechanisms. Lymphopenia is associated with a decrease in activity of nonspecific defense - in response to cold exposure there were no changes in level and functional activity of circulating neutrophil granulocytes that can increase the risks of chronicization of infectious processes in this group.

**Keywords:** lymphopenia, adaptation, human, NLR, ferritin, transferrin, lactoferrin, cold exposure

**Funding:** the study was performed within the Program of Fundamental Scientific Research on the topic of the environmental immunology laboratory, Institute of Physiology of Natural Adaptations, N. Laverov Federal Center for Integrated Arctic Research, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences (project № 122011300377-5).

**Author contribution:** Patrakeeva VP — study planning, data collection, processing and interpretation, literature review, manuscript writing; Kontievskaya EV — data collection and processing.

**Compliance with ethical standards:** the study was conducted with the written consent of all participants and in accordance with the principles of the Declaration of Helsinki (1975, rev. 2013). The study was approved by the Ethics Committee of the N. Laverov Federal Center for Integrated Arctic Research, the Ural branch of RAS (protocol № 4 of 7 December 2016, protocol № 6 of 14 February 2022).

✉ **Correspondence should be addressed:** Veronika P. Patrakeeva  
Nikolsky prospect, 20, Arkhangelsk, 163020, Russia; patrakeewa.veronika@yandex.ru

**Received:** 18.09.2023 **Accepted:** 02.02.2024 **Published online:** 19.03.2024

**DOI:** 10.47183/mes.2024.005

Механизмы формирования лимфопении различны, включая нарушение созревания и дифференцировки лимфоцитов, угнетение их выхода из лимфоидных тканей, усиление миграции в ткани, а также гибель лимфоцитов при повышении их чувствительности к комплемент-опосредованному цитолизу, активации апоптоза и некроза. Проживание в неблагоприятных условиях Севера связано с необходимостью адаптации к воздействию низких температур, что приводит к снижению резервных возможностей организма. Холод оказывает влияние на морфофункциональное состояние тимуса, это проявляется в его гипотрофии и снижении числа лимфоцитов, повышении активности апоптоза, что в дальнейшем регистрируют как лимфопению в периферической крови [1, 2]. Холодовой стресс приводит к истощению лимфоидной ткани слизистых оболочек и нарастанию в них дегенеративных процессов, таким образом снижается эффективность защиты «входных ворот» инфекции [3, 4]. Снижение активности клеточных и гуморальных реакций у северян проявляется в большей частоте острых и хронических инфекционных заболеваний, аллергий, аутоиммунных процессов и злокачественных новообразований [5–7]. При патологическом течении лимфопения сопровождается высоким уровнем провоспалительных цитокинов IL6 и TNF $\alpha$ , приводящих к активации апоптоза лимфоцитов, формируя деструктивную петлю положительной обратной связи [8]. У людей, проживающих в экологически неблагоприятных регионах и экстремальных климатических условиях, часто выявляют бессимптомные лимфопении, на севере в периоды минимального светового дня частота регистрации лимфопений у взрослых людей трудоспособного возраста достигает 19,86% [9–11]. Комплекс неблагоприятных климатических факторов, оказывая стрессовое влияние на организм, нарушает нормальное функционирование иммунной системы. Длительное снижение числа функционально активных лимфоцитов, обеспечивающих формирование защитных иммунных реакций, значительно повышает риск тяжелого течения инфекционных заболеваний и перехода их в хроническую форму. В ответ на холодное воздействие наиболее быстро изменяется метаболическая активность с повышением биохимических показателей, в том числе концентрации свободных жирных кислот, С-реактивного белка, глюкозы и др. [12]. Факторы врожденного иммунитета наиболее устойчивы к влиянию общего охлаждения, в то время как для лимфоцитов глюкоза служит необходимым субстратом для повышения их энергообеспеченности и активного функционирования. Цель исследования — сравнить особенности реактивности иммунных показателей в ответ на общее охлаждение в зависимости от фонового уровня лимфоцитов.

## ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Проведено изучение гематологических и иммунологических показателей у 203 волонтеров до и сразу после общего охлаждения в двух группах в зависимости от фонового уровня лимфоцитов периферической крови. В исследование были включены практически здоровые лица трудоспособного возраста, которые не имели на период исследования острых и обострения хронических заболеваний, а также ранее и в настоящее время не занимались закаливанием. Лица трудоспособного возраста, которые имели на период исследования острые хронические заболевания и их обострения, ранее и в настоящее время занимались закаливанием, были, соответственно, исключены. В

исследовании волонтеры находились в течение 5 мин в холодильной камере (УШЗ-25Н; Россия) при  $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$  в хлопковой одежде под постоянным видеонаблюдением. Первая группа — с наличием фоновой лимфопении ( $n = 70$ , из них 59 женщин и 11 мужчин). Содержание лимфоцитов —  $1,26 (1,09\text{--}1,37) \times 10^9$  кл./л. Вторая группа — с содержанием лимфоцитов в периферической крови в пределах физиологической нормы ( $n = 133$ , из них 94 женщины и 39 мужчин). Уровень лимфоцитов —  $2,08 (1,81\text{--}2,45) \times 10^9$  кл./л ( $p^{1-2} < 0,0001$ ). У обследованных до и сразу после общего охлаждения проводили измерение температуры лба и тыльной стороны ладони, артериального давления и частоты сердечных сокращений. Забор крови проводили с помощью квалифицированного медперсонала до и сразу после нахождения в холодильной камере из локтевой вены в вакуумные пробирки Vacciutte с этилендиаминтетрауксусной кислотой для получения плазмы и проведения гематологических исследований; с активатором свертывания крови — для получения сыворотки. Сыворотку и плазму отделяли центрифугированием. Образцы однократно замораживали при температуре  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Лейкограмму и гемограмму определяли на гематологическом анализаторе XS-500i (Sysmex; Япония). Методом иммуноферментного анализа определяли содержание ферритина (ORGENTEC Diagnostika; Германия), лактоферрина (HycultBiotech; США), трансферрина (AssayPro; США), IL6, IL1 $\beta$  и TNF $\alpha$  (Bender MedSystems; Австрия), эритропоэтина («Вектор Бест»; Россия), ирисина (BioVendor; Чехия), оценку результатов проводили на иммуноферментном анализаторе Multiskan FC (Thermo Fisher Scientific; Финляндия). Уровень апоптоза и некроза лимфоцитов определяли на проточном цитофлуориметре Epics XL (Beckman Coulter; США) методом двойного окрашивания аннексином-V (AnV) и пропидиумом йодидом (PI), с учетом не менее 5000 клеток. Оценку результатов проводили по окрашиванию клеток: живые клетки — AnV-/PI-, апоптоз — AnV+/PI-, некроз — AnV-/PI+. Результаты исследования обработаны с использованием пакета прикладных программ Statistica 6.0 (StatSoft; США). Для проверки данных на нормальность распределения использовали критерий нормальности Шапиро–Уилка. Для оценки полученных данных определяли средние значения (M), стандартное отклонение (SD). При распределении, близком к нормальному, для сравнения результатов вычисляли *t*-критерий Стьюдента, различия считали значимыми при  $p < 0,05$ . В случае, если распределение отличалось от нормального, для описания данных использовали медиану (Me) и 25–75 перцентили. Статистическую значимость различий определяли с помощью непараметрического критерия Манна–Уитни. Критический уровень значимости ( $p$ ) при проверке статистических гипотез принимали равным 0,05.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для обследованных лиц с лимфопенией характерно более низкое содержание нейтрофилов в периферической крови —  $2,44 (1,93\text{--}2,93) \times 10^9$  кл./л, частота нейтропении составляет  $38,57 \pm 2,29\%$ . У лиц с физиологическим уровнем лимфоцитов концентрация нейтрофильных гранулоцитов выше —  $3,02 (2,33\text{--}3,64) \times 10^9$  кл./л ( $p < 0,001$ ), нейтропения выявляется в  $15,79 \pm 1,88\%$  случаев. Низкое содержание нейтрофильных гранулоцитов ассоциируется со снижением их фагоцитарной активности. Так, процент

Таблица. Уровни железосодержащих белков в сыворотке периферической крови,  $M \pm m, p < 0,01$ 

	Ферритин, нг/мл	Лактоферрин, нг/мл	Трансферрин, мг/дл
1-я группа (лимфопения)	43,91 (23,22 – 53,55)	394,85 (180,24–383,92)	827,35 (360,30–515,90)
2-я группа (норма)	63,90 (24,38 – 87,21)	334,71 (169,80–470,80)	473,56 (351,40–549,6)

активных фагоцитов составил в первой группе 68,53%, в то время как у практически здоровых людей — 72,25%. При оценке фонового отношения нейтрофилов к лимфоцитам (NLR) было выявлено, что при лимфопении данный показатель выше и составил 2,11, во второй группе — 1,49. Показатель NLR — значимый биомаркер состояний, сопровождающихся системным воспалением. Известно, что повышение NLR связано с инфекциями, инсультом, инфарктом, онкологическими и аутоиммунными заболеваниями, повреждением тканей и более высоким риском заболеваемости [13–17]. В обеих группах NLR не превышает 3,0, что является нормой. Однако более высокое значение NLR в группе с лимфопенией отражает дисбаланс иммунных путей воспаления, и это можно рассматривать как критерий риска усиления системного воспаления.

Проведена оценка уровня апоптоза (AnV+/PI-) и некроза лимфоцитов (AnV-/PI+). Показано, что уровень некротизированных клеток в обеих группах значимо не различается: в 1-й группе процент лимфоцитов AnV-/PI+ составил 0,74%, во 2-й группе — 0,67%. Концентрация лимфоцитов, меченных к апоптозу, выше у лиц с нормальным их уровнем в периферической крови — 5,43%, при лимфопении процентное содержание лимфоцитов AnV+/PI- составило 3,68% ( $p < 0,01$ ). Таким образом, лимфопения в данном случае не связана с повышением гибели клеток, а представляет собой вариант компенсаторной адаптационной реакции, и воздействие неблагоприятных факторов приводит к выходу показателей за пределы физиологической нормы.

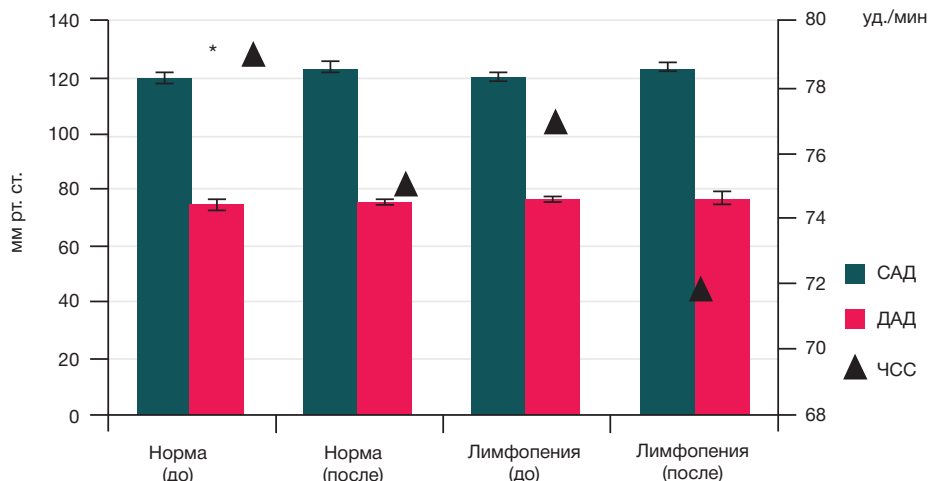
Особенность гемограммы при лимфопении — более низкая концентрация эритроцитов (соответственно 4,41 (4,08–4,73) и 4,68 (4,31–4,99)  $\times 10^6$  кл./л,  $p < 0,001$ ) и гемоглобина (соответственно 127,70 (118,00–138,00) и 137,19 (128,00–149) г/л,  $p < 0,0001$ ) без достоверных различий средней концентрации гемоглобина в эритроцитах (340,33 (331,00–351,00) и 340,71 (332,00–349,00) г/л). Частота выявления концентрации гемоглобина менее 120 г/л в первой группе — 30,75  $\pm$  2,15%, во второй — 16,67  $\pm$  1,46%. Содержание эритроцитов менее 4  $\times 10^6$  кл./л фактически в 4 раза чаще выявляют при лимфопении (у 20,51% и

6,06% обследованных соответственно). Не установлено достоверных различий в концентрации эритропоэтина в обеих группах, при низком уровне лимфоцитов его содержание было 30,02 (13,25–35,48) мМЕ/мл, у лиц с содержанием лимфоцитов в пределах физиологической нормы — 29,68 (17,31–37,11) мМЕ/мл.

В регуляции эритропоэза, а также в адаптации к холоду важную роль играет железо, его усвоение и запас. Косвенный критерий запаса железа в организме — это ферритин. Увеличение транскрипции мРНК ферритина-N и самого белка ферритина происходит во время холодной акклиматизации [18]. Уровни данного железосодержащего белка при лимфопении находятся в пределах физиологической нормы, но имеется тенденция к более низким концентрациям, чем у лиц с нормальным содержанием лимфоцитов (таблица). Не установлено достоверных различий в концентрации лактоферрина в обеих изучаемых группах. Наличие лимфопении ассоциируется с более высоким, фактически в 2 раза, содержанием трансферрина в периферической крови. Факторами, повышающими транскрипцию гена трансферрина и, следовательно, концентрацию самого трансферрина в крови, служат гипоксия и холод. Высокое содержание трансферрина, с одной стороны, направлено на повышение снабжения тканей железом для компенсации дефицита кислорода, но с другой стороны, трансферрин способствует активации тромбина, что увеличивает риск гиперкоагуляции и, как следствие, тромбоэмболических и сердечно-сосудистых патологий [19, 20].

Концентрации цитокинов в периферической крови в обеих группах находятся в пределах физиологической нормы, достоверных различий не установлено. При наличии бессимптомной лимфопении концентрации IL6 составили 2,48  $\pm$  0,41 пг/мл и во 2-й группе — 3,74  $\pm$  0,35 пг/мл, IL1 $\beta$  — 5,01  $\pm$  0,61 и 4,46  $\pm$  0,67 пг/мл, соответственно, и TNF $\alpha$  — 6,32  $\pm$  1,03 и 7,32  $\pm$  0,91 пг/мл, соответственно.

После общего охлаждения в обеих группах регистрируют адаптивную реакцию со стороны сердечно-сосудистой системы с тенденцией к повышению артериального давления и снижению частоты сердечных сокращений (рисунок).

Рис. Изменение артериального давления и частоты сердечных сокращений после общего кратковременного охлаждения в группах сравнения. \* —  $p < 0,01$



В обеих группах установлено достоверное снижение температуры лба (в первой группе (лимфопения) — с  $36,6 \pm 0,06$  до  $34,05 \pm 0,45^\circ\text{C}$ ,  $p < 0,0001$ ; во второй группе (норма) — с  $36,4 \pm 0,10$  до  $33,78 \pm 0,32^\circ\text{C}$ ,  $p < 0,0001$ ) и тыльной стороны ладони (в первой группе (лимфопения) — с  $33,2 \pm 0,33$  до  $32,4 \pm 0,24^\circ\text{C}$ ,  $p < 0,05$ ; во второй группе (норма) с  $33,61 \pm 0,36$  до  $32,54 \pm 0,23^\circ\text{C}$ ,  $p < 0,05$ ). Реакция на общее кратковременное охлаждение сопровождается повышением содержания лимфоцитов при лимфопении до  $1,32 (1,13-1,48) \times 10^9$  кл./л ( $p < 0,05$ ), без достоверного изменения их уровня в группе сравнения —  $2,02 (1,76-2,35) \times 10^9$  кл./л. Со стороны нейтрофильных гранулоцитов зарегистрирована противоположная реакция. Так, при нормальном фоновом уровне лимфоцитов концентрация нейтрофилов увеличивается на 11% до  $3,27 (2,57-4,01) \times 10^9$  кл./л ( $p < 0,05$ ), а при лимфопении изменений в их содержании не установлено. В обеих группах отмечено снижение уровня ирисина (при лимфопении — с  $4,25 (1,81-6,70)$  до  $3,52 (1,30-5,75)$  мкг/мл; в группе сравнения — с  $2,99 (1,63-7,14)$  до  $2,38 (1,65-5,66)$  мкг/мл, что может свидетельствовать о включении механизмов несократительного термогенеза.

Воздействие холодого фактора связано с увеличением концентрации ферритина при лимфопении до  $57,67 (41,67-65,10)$  нг/мл ( $p < 0,01$ ), при нормальном содержании лимфоцитов до  $76,46 (25,29-98,29)$  нг/мл ( $p < 0,01$ ); содержание лактоферрина повышается только в группе обследованных без лимфопении до  $498,85 (124,68-485,97)$  ( $p < 0,0001$ ); концентрация трансферрина не изменяется в обеих группах (соответственно, в первой группе —  $558,60 (421,70-940,70)$  мг/дл и во второй —  $423,30 (351,40-549,60)$  мг/дл).

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Адаптационные возможности организма при реагировании на воздействие факторов окружающей среды определяются уровнями реактивности и резистентности, обеспечивая в ответ формирование стресс-реакции или реакции тренированности. Известно, что наличие лимфопении — плохой прогностический признак при различных патологических состояниях и сочетание ее с необходимостью адаптации к дефициту тепла приводит к напряжению регуляторных систем и срыву адаптации [21–23]. Наличие бессимптомной лимфопении, характерной для северных территорий, сопровождается нейтропенией и более низкой активностью фагоцитарной защиты. В этиологии нейтропении у северян играет роль перераспределение лейкоцитов, увеличенный переход нейтрофильных гранулоцитов в ткани под воздействием неблагоприятных климатических факторов [24, 25]. Низкое фоновое содержание лимфоцитов в периферической крови ассоциировано с тканевой гипоксией, которая может быть следствием нарушения морфофункционального состояния эритроцитов, вызванного воздействием низких температур и окислительного стресса [26–28]. Кроме того, для людей, проживающих на Севере, характерно изменение структуры мембраны эритроцитов с увеличением ее вязкости, и, как следствие, снижением скорости диффузии газов, поступления кислорода в ткани

[29–31]. Показано, что при лимфопении показатель NLR выше, чем у лиц с нормальным уровнем лимфоцитов. Сочетание высокого NLR с недостаточностью обеспеченности кислородом — неблагоприятный признак при инфекционных воспалительных заболеваниях [32]. В ответ на холодое воздействие в обеих группах, независимо от фонового содержания лимфоцитов, регистрируют схожие физиологические реакции со стороны сердечно-сосудистой системы, что проявляется в повышении артериального давления и снижении частоты сердечных сокращений. О включении механизмов терморегуляции у обследованных свидетельствует снижение уровня ирисина, белка, участвующего в метаболизме и терморегуляции организма [33, 34]. Ирисин повышает экспрессию разобщающего белка-1 (UCP1) и приводит к несократительному термогенезу и повышению выработки тепла.

Не установлено изменение концентрации лактоферрина у лиц с фоновой лимфопенией после кратковременного общего охлаждения. Повышение концентрации данного белка связано с дегрануляцией нейтрофилов и отражает уровень их активации. Таким образом, при лимфопении в сочетании с нейтропенией и снижением функциональной активности нейтрофильных гранулоцитов значительно повышается риск срыва адаптационных реакций, а систематическое воздействие холодого фактора увеличивает вероятность хронизации инфекционных процессов. Кроме того, высокий уровень трансферрина, концентрация которого сохраняется и после общего охлаждения, повышает риск гиперкоагуляции, тромбозов и сердечно-сосудистых катастроф. В обеих обследованных группах регистрируют фактически одинаковое повышение уровня ферритина (в первой группе — на 21,10% и во второй — на 19,96% соответственно), что может свидетельствовать о сохранении теплового гомеостаза, так как индукция экспрессии тяжелой цепи ферритина способствует выживанию на холоде за счет детоксикации форм железа, генерирующих активные формы кислорода [35].

## ВЫВОДЫ

Фоновая бессимптомная лимфопения ассоциируется с недостаточностью кислородной обеспеченности и более высоким уровнем нейтропении. Вне зависимости от уровня лимфоцитов, в периферической крови регистрируют однотипные реакции на общее кратковременное охлаждение со стороны сердечно-сосудистой системы, уровня ирисина и ферритина, что свидетельствует о включении механизмов терморегуляции. При лимфопении в ответ на холод не установлено активизации неспецифической защиты, не происходит изменения уровня и функциональной активности циркулирующих нейтрофильных гранулоцитов, что повышает риск хронизации инфекционных процессов в данной группе. Полученные данные могут быть использованы в мониторинговых исследованиях в области экологической физиологии, разработке методов оценки риска развития дезадаптационных реакций на общее охлаждение, коррекции нарушений иммунитета у людей, проживающих на Севере.

## Литература

1. Гармаева Д. К., Белолобская Д. С., Федорова А. И., Аржакова Л. И., Афанасьева О. Г. Влияние холодового стресса на морфофункциональные показатели тимуса в эксперименте. *Морфологические ведомости*. 2019; 27 (2): 19–23. DOI: 10.20340/mv-mn.19(27).02.19-23.
2. Маткина О. В. Патогенетические изменения в тимусе и селезенке неинбредных белых крыс при остром стрессе. *Пермский медицинский журнал*. 2014; 31 (1): 121–8.
3. Бузинаева М. Т. Иммуноморфологическая характеристика лимфоидной ткани гортани при воздействии низких природных температур [диссертация]. Ульяновск, 2013.
4. Девонаев О. Т. Структурно-функциональные характеристики и особенности морфогенеза лимфоидного аппарата мочевыводящих путей в норме и при воздействии холодового стресса и высокогорья [диссертация]. Новосибирск, 2007.
5. Государственный доклад «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Архангельской области в 2022 году». Архангельск, 2023.
6. Об итогах работы Министерства здравоохранения Российской Федерации в 2022 году и задачах на 2023 год. М.: Министерство здравоохранения Российской Федерации, 2023.
7. Красильников С. В. Анализ тенденций заболеваемости населения Архангельской области болезнями системы кровообращения как основа организации кардиохирургической помощи. *Международный научно-исследовательский журнал*. 2017; 5–2 (59): 145–7. DOI: 10.23670/IRJ.2017.59.077.
8. Fathi N, Rezaei N. Lymphopenia in COVID-19: Therapeutic opportunities. *Cell Biol Int*. 2020; 44 (9): 1792–7. DOI: 10.1002/cbin.11403.
9. Добродеева Л. К. Иммунологическое районирование. Сыктывкар: КНЦ, 2004; 101 с.
10. Добродеева Л. К., Патракеева В. П. Влияние миграционных и пролиферативных процессов лимфоцитов на состояние иммунного фона человека, проживающего в условиях высоких широт. *Екатеринбург: УрО РАН*, 2018; 203 с.
11. Gubkina LV, Samodova AV, Dobrodeeva LK. Distinctive aspects of the immune status of the kola Saami and Russians living in the far North. *American Journal of Human Biology*. 2023; 23969. DOI: 10.1002/ajhb.23969.
12. Журавлева О. А., Маркин А. А., Кузичкин Д. С., Салтыкова М. М., Логинов В. И., Заболотская И. В. и др. Особенности метаболических реакций человека при экстремальном холодовом воздействии. *Физиология человека*. 2018; 44 (3): 109–15. DOI: 10.7868/S0131164618030128.
13. De Jager CP, van Wijk PT, Mathoera RB, de Jongh-Leuvenink J, van der Poll T, Wever PC. Lymphocytopenia and neutrophil-lymphocyte count ratio predict bacteremia better than conventional infection markers in an emergency care unit. *Crit Care*. 2010; 14 (5): R192. DOI: 10.1186/cc9309.
14. Kabak M, Çil B, Hocalı I. Relationship between leukocyte, neutrophil, lymphocyte, platelet counts, and neutrophil to lymphocyte ratio and polymerase chain reaction positivity. *International Immunopharmacology*. 2021; 93: 107390. DOI: 10.1016/j.intimp.2021.107390.
15. Sejópoles MD, Souza-Silva JP, Silva-Santos C, Paula-Duarte MM, Fontes CJF, Gomes LT. Prognostic value of neutrophil and lymphocyte counts and neutrophil/lymphocyte ratio for predicting death in patients hospitalized for COVID-19. *Heliyon*. 2023; 9 (6): e16964. DOI: 10.1016/j.heliyon.2023.e16964.
16. Shusterman E, Prozan L, Ablin JN, Weiss-Meilik A, Adler A, Choshen G, et al. Neutrophil-to-lymphocyte ratio trend at admission predicts adverse outcome in hospitalized respiratory syncytial virus patients. *Heliyon*. 2023; 9 (6): e16482. DOI: 10.1016/j.heliyon.2023.e16482.
17. Mehta S, Ketkar M, Jain DK. Role of neutrophil-to-lymphocyte ratio (NLR) and platelet-to-lymphocyte ratio (PLR) in predicting carcinoma prostate (CaP) in patients with lower urinary tract symptoms and raised serum prostate-specific antigen (sr.PSA). *Medical Journal Armed Forces India*. 2023. DOI: 10.1016/j.mjafi.2023.03.001.
18. Yamashita M, Ojima N, Sakamoto T. Molecular cloning and cold-inducible gene expression of ferritin H subunit isoforms in rainbow trout cells. *J Biol Chem*. 1997; 271 (43): 26908–13. DOI: 10.1074/jbc.271.43.26908.
19. Li M, Tang X, Liao Z, Shen C, Cheng R, Fang M, et al. Hypoxia and low temperature upregulate transferrin to induce hypercoagulability at high altitude. *Blood*. 2022; 140 (19): 2063–75. DOI: 10.1182/blood.2022016410.
20. Tang X, Zhang Z, Fang M, Han Y, Wang G, Wang S, et al. Transferrin plays a central role in coagulation balance by interacting with clotting factors. *Cell Res*. 2020; 30 (2): 119–32. DOI: 10.1038/s41422-019-0260-6.
21. Стрельцова Е. И., Пешкова И. В., Саматов И. Ю., Валеева В. А., Верещагин Е. И. Лимфопения как фактор, определяющий тяжесть сепсиса, как точный критерий диагностики и как объект терапии. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2020; 3: 108–25. DOI: 10.31549/2542-1174-2020-3-108-125.
22. Османова А. С., Аммиров Г. Н., Асадулаева М. Н., Шахбанов Р. К., Асадулаева З. М. Влияние лимфопении у больных covid-19 на тяжесть протекания инфекции. *Технологии живых систем*. 2022; 19 (1): 14–9. DOI: 10.18127/j20700997-202201-02.
23. Абдуллаев Р. Ю. О., Комиссарова О. Г. Изменения маркеров гематологического, биохимического и коагулологического анализов крови при новой коронавирусной инфекции covid-19. *Consilium Medicum*. 2020; 22 (11): 51–5.
24. Балашова С. Н., Добродеева Л. К. Влияние нейтропении на состояние иммунного статуса у лиц, работающих на архипелаге Шпицберген. *Вестник Уральской медицинской академической науки*. 2019; 16 (2): 71–7. DOI: 10.22138/2500-0918-2019-16-2-71-77.
25. Gubkina LV, Samodova AV, Dobrodeeva LK. Distinctive aspects of the immune status of the kola Saami and Russians living in the far North. *American Journal of Human Biology*. 2023; 23969. DOI: 10.1002/ajhb.23969.
26. Луценко М. М. Газотранспортный обмен в периферической крови при общем охлаждении организма. *Бюллетень физиологии и патологии дыхания*. 2012; 44: 85–9.
27. Алексеев Р. З., Гольдерова А. С., Мамаева С. Н., Платонова В. А., Саввинова Л. Н., Афанасьева С. С. и др. Особенности морфологии эритроцитов у лиц, умерших от переохлаждения. *Международный научно-исследовательский журнал*. 2018; 12 (78): 169–72. DOI: 10.23670/IRJ.2018.78.12.030.
28. Нагибович О. А., Уховский Д. М., Жекалов А. Н., Ткачук Н. А., Аржавкина Л. Г., Богданова Е. Г. и др. Механизмы гипоксии в Арктической зоне Российской Федерации. *Вестник Российской военно-медицинской академии*. 2016; 2 (54): 202–5.
29. Куницын В. Г., Панин Л. Е., Осипова Л. П., Табиханова Л. Э., Чуркина Т. В., Розуменко А. А. Изменение структуры гемоглобина в экстремальных условиях Арктики. *Вестник Уральской медицинской академической науки*. 2014; 2 (48): 37–9.
30. Ким Л. Б. Транспорт кислорода при адаптации человека к условиям Арктики и кардиореспираторной патологии. Новосибирск: Наука, 2015; 216 с.
31. Ким Л. Б. Влияние полярного стажа на кислородотранспортную функцию крови у северян различного возраста. *Арктика и Север*. 2014; 17: 150–62.
32. Ozawa T, Asakura T, Chubachi S, Namkoong H, Tanaka H, Lee K, et al. Use of the neutrophil-to-lymphocyte ratio and an oxygen requirement to predict disease severity in patients with COVID-19. *Respiratory Investigation*. 2023; 61 (4): 454–9. DOI: 10.1016/j.resinv.2023.03.007.
33. Viora M, Grillo E, Corsini M, Ravelli C, Nintou E, Karligiotou E, et al. Irisin regulates thermogenesis and lipolysis in 3T3-L1 adipocytes. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)*. 2022; 1866 (4): 130085. DOI: 10.1016/j.bbagen.2022.130085.
34. Gheit REAE, Younis RL, El-Saka MH, Emam MN, Soliman NA, El-Sayed RM, et al. Irisin improves adiposity and exercise tolerance in a rat model of postmenopausal obesity through enhancing adipo-myocyte thermogenesis. *J Physiol Biochem*. 2022; 78 (4): 897–913. DOI: 10.1007/s13105-022-00915-3.
35. Blankenhaus B, Braza F, Martins R, Bastos-Amador P, González-García I, Carlos AR, et al. Ferritin regulates organismal energy

balance and thermogenesis. *Molecular Metabolism*. 2019; 24: 64–79. DOI: 10.1016/j.molmet.2019.03.008.

36. Blankenhaus B, Braza F, Martins R, Bastos-Amador P, González-

García I, Carlos AR, et al. Ferritin regulates organismal energy balance and thermogenesis. *Molecular Metabolism*. 2019. 24: 64–79. DOI: 10.1016/j.molmet.2019.03.008.

## References

- Garmaeva DK, Belolyubskaya DS, Fyodorova AI, Arzhakova LI, Afanasieva OG. The effect of the cold stress on morphological and functional parameters of the thymus in the experiment. *Morphological Newsletter*. 2019; 27 (2): 19–23. DOI: 10.20340/mv-mn.19(27).02.19-23. Russian.
- Matkina OV. Patogeneticheskie izmeneniya v timuse i slezenke neinbrednykh belykh krysov pri ostrom stresse. *Permskiy meditsinskiy zhurnal*. 2014; 31 (1): 121–8. Russian.
- Buzinaeva MT. Immunomorfologicheskaya kharakteristika limfoidnoy tkani gortani pri vozdeystvii nizkikh prirodnykh temperatur [dissertation]. Ul'yanovsk, 2013. Russian.
- Devonae OT. Strukturno-funktsional'nye kharakteristiki i osobennosti morfogeneza limfoidnogo apparata mochevyvodyashchikh putey v norme i pri vozdeystvii kholodovogo stressa i vysokogor'ya [dissertation]. Novosibirsk, 2007. Russian.
- Gosudarstvennyy doklad «O sostoyanii sanitarno-epidemiologicheskogo blagopoluchiya naseleniya v Arkhangel'skoy oblasti v 2022 godu». Arkhangel'sk, 2023. Russian.
- Ob itogakh raboty Ministerstva zdravookhraneniya Rossiyskoy Federatsii v 2022 godu i zadachakh na 2023 god. M.: Ministerstvo zdravookhraneniya Rossiyskoy Federatsii, 2023. Russian.
- Krasilnikov SV. Analysis of tendencies of population morbidity of Arkhangel'sk region as a result of diseases of blood circulation system as the basis of cardiac-surgery organization. *International Research Journal*. 2017;5–2 (59). C. 145–7. DOI: 10.23670/IRJ.2017.59.077. Russian.
- Fathi N, Rezaei N. Lymphopenia in COVID-19: Therapeutic opportunities. *Cell Biol Int*. 2020; 44 (9): 1792–7. DOI: 10.1002/cbin.11403.
- Dobrodeeva LK. Immunologicheskoe rayonirovanie. *Syktvykar: KNTs*, 2004; 101 p. Russian.
- Dobrodeeva LK, Patrakeeva VP. Vliyaniye migratsionnykh i proliferativnykh protsessov limfotsitov na sostoyaniye immunnogo fona cheloveka, prozhivayushchego v usloviyakh vysokikh shirot. Ekaterinburg: UrO RAN, 2018; 203 p. Russian.
- Gubkina LV, Samodova AV, Dobrodeeva LK. Distinctive aspects of the immune status of the kola Saami and Russians living in the far North. *American Journal of Human Biology*. 2023; 23969. DOI: 10.1002/ajhb.23969.
- Juravlyova OA, Markin AA, Kuzichkin DS, Saltukova MM, Loginov VI, Zabolotskaya IV, et al. Features of Human Metabolic Reactions under Extreme Cold Exposure. *Human Physiology*. 2018; 44 (3): 109–15. DOI: 10.7868/S0131164618030128. Russian.
- De Jager CP, van Wijk PT, Mathoera RB, de Jongh-Leuvenink J, van der Poll T, Wever PC. Lymphocytopenia and neutrophil-lymphocyte count ratio predict bacteremia better than conventional infection markers in an emergency care unit. *Crit Care*. 2010; 14 (5): R192. DOI: 10.1186/cc9309.
- Kabak M, Çil B, Hocanlı I. Relationship between leukocyte, neutrophil, lymphocyte, platelet counts, and neutrophil to lymphocyte ratio and polymerase chain reaction positivity. *International Immunopharmacology*. 2021; 93: 107390. DOI: 10.1016/j.intimp.2021.107390.
- Sejópales MD, Souza-Silva JP, Silva-Santos C, Paula-Duarte MM, Fontes CJF, Gomes LT. Prognostic value of neutrophil and lymphocyte counts and neutrophil/lymphocyte ratio for predicting death in patients hospitalized for COVID-19. *Heliyon*. 2023; 9 (6): e16964. DOI: 10.1016/j.heliyon.2023.e16964.
- Shusterman E, Prozan L, Ablin JN, Weiss-Meilik A, Adler A, Choshen G, et al. Neutrophil-to-lymphocyte ratio trend at admission predicts adverse outcome in hospitalized respiratory syncytial virus patients. *Heliyon*. 2023; 9 (6): e16482. DOI: 10.1016/j.heliyon.2023.e16482.
- Mehta S, Ketkar M, Jain DK. Role of neutrophil-to-lymphocyte ratio (NLR) and platelet-to-lymphocyte ratio (PLR) in predicting carcinoma prostate (CaP) in patients with lower urinary tract symptoms and raised serum prostate-specific antigen (sr:PSA). *Medical Journal Armed Forces India*. 2023. DOI: 10.1016/j.mjafi.2023.03.001.
- Yamashita M, Ojima N, Sakamoto T. Molecular cloning and cold-inducible gene expression of ferritin H subunit isoforms in rainbow trout cells. *J Biol Chem*. 1997; 271 (43): 26908–13. DOI: 10.1074/jbc.271.43.26908.
- Li M, Tang X, Liao Z, Shen C, Cheng R, Fang M, et al. Hypoxia and low temperature upregulate transferrin to induce hypercoagulability at high altitude. *Blood*. 2022; 140 (19): 2063–75. DOI: 10.1182/blood.2022016410.
- Tang X, Zhang Z, Fang M, Han Y, Wang G, Wang S, et al. Transferrin plays a central role in coagulation balance by interacting with clotting factors. *Cell Res*. 2020; 30 (2): 119–32. DOI: 10.1038/s41422-019-0260-6.
- Streltsova EI, Peshkova IV, Samatov IYu, Valeeva VA, Vereshchagin EI. Lymphopenia as a determinant factor of sepsis severity, as an exact diagnostic criterion, and as an object of therapy. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2020; 3: 108–25. DOI: 10.31549/2542-1174-2020-3-108-125. Russian.
- Osmanova AS, Amirov GN, Asadulayeva MN, Shakhbanov RK, Asadulayeva ZM. The effect of lymphopenia in COVID-19 patients on the severity of infection. *Journal Technologies of Living Systems*. 2022; 19 (1): 14–9. DOI: 10.18127/j20700997-202201-02. Russian.
- Abdullaev RYu, Komissarova OG. Changes in markers of hematological, biochemical and coagulological blood tests with coronavirus COVID-19 infections. *Consilium Medicum*. 2020; 22 (11): 51–5. Russian.
- Balashova SN, Dobrodeeva LK. Influence of neutropenia on the state of the immune status in persons working on the Svalbard Archipelago. *Vestn Ural Med Akad Nauki*. 2019; 16 (2): 71–7. DOI: 10.22138/2500-0918-2019-16-2-71-77. Russian.
- Gubkina LV, Samodova AV, Dobrodeeva LK. Distinctive aspects of the immune status of the kola Saami and Russians living in the far North. *American Journal of Human Biology*. 2023; 23969. DOI: 10.1002/ajhb.23969.
- Lutsenko MM. Gas-transport metabolism in the peripheral blood at general cooling of the organism. *Bulletin Physiology and Pathology of Respiration*. 2012; 44: 85–9. Russian.
- Alekseev RZ, Golderova AS, Mamaeva SN, Platonova VA, Savinova LN, Afanasyeva SS, et al. Main features of erythrocytes morphology in persons dead of hypothermia. *International Research Journal*. 2018; 12 (78): 169–72. DOI: 10.23670/IRJ.2018.78.12.030. Russian.
- Nagibovich OA, Ukhovskiy DM, Zhekalov AN, Tkachuk NA, Arzhavkina LG, Bogdanova EG, et al. Mechanisms of hypoxia in Arctic zone of Russian Federation. *Bulletin of the Russian Military Medical Academy*. 2016; 2 (54): 202–5. Russian.
- Kunitsyn VG, Panin LE, Osipova LP, Tabikhanova LE, Churkina TV, Rozumenko AA. Izmeneniye struktury gemoglobina v ekstremal'nykh usloviyakh Arktiki. *Journal of Ural Medical Academic Science*. 2014; 2 (48): 37–9. Russian.
- Kim LB. Transport kisloroda pri adaptatsii cheloveka k usloviyam Arktiki i kardiorespiratornoy patologii. Novosibirsk: Nauka, 2015; 216 p. Russian.
- Kim LB. Vliyaniye polyarnogo stazha na kislorodotransportnyuyu funktsiyu krovi u severyan razlichnogo vozrasta. *Arktika i Sever*. 2014; 17: 150–62. Russian.
- Ozawa T, Asakura T, Chubachi S, Namkoong H, Tanaka H, Lee K, et al. Use of the neutrophil-to-lymphocyte ratio and an oxygen requirement to predict disease severity in patients with COVID-19. *Respiratory Investigation*. 2023; 61 (4): 454–9. DOI: 10.1016/j.resinv.2023.03.007.
- Vlora M, Grillo E, Corsini M, Ravelli C, Nintou E, Karligiotou E, et al. Irisin regulates thermogenesis and lipolysis in 3T3-L1 adipocytes. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)*. 2022; 1866 (4): 130085. DOI: 10.1016/j.bbagen.2022.130085.
- Gheit REAE, Younis RL, El-Saka MH, Emam MN, Soliman NA, El-

- Sayed RM, et al. Irisin improves adiposity and exercise tolerance in a rat model of postmenopausal obesity through enhancing adipo-myocyte thermogenesis. *J Physiol Biochem*. 2022; 78 (4): 897–913. DOI: 10.1007/s13105-022-00915-3.
35. Blankenhaus B, Braza F, Martins R, Bastos-Amador P, González-García I, Carlos AR, et al. Ferritin regulates organismal energy balance and thermogenesis. *Molecular Metabolism*. 2019; 24: 64–79. DOI: 10.1016/j.molmet.2019.03.008.
36. Blankenhaus B, Braza F, Martins R, Bastos-Amador P, González-García I, Carlos AR, et al. Ferritin regulates organismal energy balance and thermogenesis. *Molecular Metabolism*. 2019. 24: 64–79. DOI: 10.1016/j.molmet.2019.03.008.



## АНТИОКСИДАНТНЫЕ ЭФФЕКТЫ СИНТЕТИЧЕСКОГО АНАЛОГА ТИРОНАМИНА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ИШЕМИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА

Д. А. Филимонов<sup>1✉</sup>, А. Б. Ересько<sup>2</sup>, Е. В. Ракша<sup>2</sup>, Н. Н. Трубникова<sup>1</sup>, Р. В. Ищенко<sup>1</sup>, Д. А. Терещенко<sup>1</sup>, И. А. Кисиленко<sup>1</sup>, И. Н. Носова<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Институт неотложной и восстановительной хирургии имени В. К. Гусака Министерства здравоохранения Российской Федерации, Донецк, Россия

<sup>2</sup> Объединенный институт ядерных исследований, Дубна, Россия

Окислительный стресс при ишемическом инсульте — один из основных факторов, повреждающих нервную ткань. Тиреоидные гормоны оказывают существенное влияние на редокс-статус организма, однако влияние их производных, тиронаминов, рассматриваемых в качестве потенциальных нейропротекторов, на показатели перекисного окисления липидов (ПОЛ) изучено недостаточно. Целью исследования было изучить влияние синтетического аналога тиронамина TOAM на основные показатели ПОЛ в модели острой ишемии головного мозга. Для моделирования острой ишемии головного мозга у белых крыс выполняли необратимую перевязку правой общей сонной артерии. Животные были разделены на две группы — контрольную без лечения и экспериментальную, в которой интраперитонеально вводили синтетический аналог тиронамина TOAM (75 мг/кг массы тела крысы). Спустя сутки крысу подвергали декапитации, и ткань коры больших полушарий головного мозга извлекали для биохимического анализа. Из показателей ПОЛ определяли малоновый диальдегид (МДА), супероксиддисмутазу (СОД), глутатионпероксидазу (ГПО) спектрофотометрически. На фоне введения синтетического аналога тиронамина TOAM наблюдали статистически значимое снижение содержания МДА в ишемизированном полушарии в 2 раза ( $p = 0,022$ ), повышение активности ГПО в ткани головного мозга в 2,49 раза ( $p = 0,004$ ) для интактного и в 2,65 раза ( $p = 0,021$ ) — для ишемизированного полушарий и увеличение активности СОД в ишемизированном полушарии в 1,23 раза ( $p = 0,042$ ). Синтетический аналог тиронамина TOAM обладает значительным потенциалом в отношении активации механизмов антиоксидантной защиты в коре головного мозга белых лабораторных крыс в условиях острой полушарной ишемии.

**Ключевые слова:** тиронамины, антиоксиданты, нейропротекция, ишемический инсульт, окислительный стресс, перекисное окисление липидов

**Финансирование:** исследование выполнено в рамках государственного задания Министерства здравоохранения Российской Федерации № 1023042500162-8-3.1.4;3.2.25 (2023-2025).

**Вклад авторов:** Д. А. Филимонов — основная идея, общее руководство, разработка статистической модели, обработка данных; А. Б. Ересько, Е. В. Ракша — сбор информации, анализ литературных данных, подготовка и спектроскопические исследования синтетического аналога TOAM; Н. Н. Трубникова — дизайн эксперимента по моделированию ишемии, экспериментальная часть, сбор информации, подготовка текста статьи; Р. В. Ищенко — общее руководство, сбор информации, правки текста; Д. А. Терещенко — биохимические исследования, сбор информации, правки чернового текста статьи; И. А. Кисиленко — экспериментальная работа с лабораторными животными, подготовка текста, внесение правок; И. Н. Носова — сбор информации, обработка данных.

**Соблюдение этических стандартов:** исследование одобрено этическим комитетом ФГБУ «ИНВХ имени В. К. Гусака» Минздрава России (протокол № 3 от 23 ноября 2023 г.).

✉ **Для корреспонденции:** Дмитрий Алексеевич Филимонов  
пр-т Ленинский, д. 47, г. Донецк, 283045, Россия; neuro.dnmu@yandex.ru

**Статья получена:** 04.01.2024 **Статья принята к печати:** 04.02.2024 **Опубликована онлайн:** 22.03.2024

**DOI:** 10.47183/mes.2024.003

## ANTIOXIDANT EFFECTS OF THE SYNTHETIC THYRONAMINE ANALOGUE IN EXPERIMENTAL CEREBRAL ISCHEMIA

Filimonov DA<sup>1 ✉</sup>, Eresko AB<sup>2</sup>, Raksha EV<sup>2</sup>, Trubnikova NN<sup>1</sup>, Ischenko RV<sup>1</sup>, Tereschenko DA<sup>1</sup>, Kisilenko IA<sup>1</sup>, Nosova IN<sup>1</sup>

<sup>1</sup> V.K. Gusak Institute of Emergency and Reconstructive Surgery, Donetsk, Russia

<sup>2</sup> Joint Institute for Nuclear Research, Dubna, Russia

The oxidative stress associated with ischemic stroke is a major factor damaging the nervous tissue. Thyroid hormones have a significant effect on the body's redox status, however, the impact of their derivatives, thyronamines, considered as potential neuroprotectors, on the characteristics of lipid peroxidation (LP) is not clearly understood. The study was aimed to assess the impact of the TOAM thyronamine synthetic analogue on the main LP indicators in the model of acute cerebral ischemia. Permanent ligation of the right common carotid artery was performed to simulate acute cerebral ischemia in white rats. The animals were divided into two groups: the control group receiving no treatment and the experimental group, to which the TOAM thyronamine synthetic analogue was intraperitoneally administered (75 mg/kg of the rat's body weight). After 24 h the rat was decapitated, and the cerebral cortex tissue was extracted for biochemical analysis. The following LP indicators were determined by spectrophotometry: malondialdehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPx). When administering the TOAM thyronamine synthetic analogue, a significant (2-fold) decrease in MDA levels was observed in the ischemic hemisphere ( $p = 0.022$ ), along with the 2.49-fold increase in the GPx activity in the brain tissue ( $p = 0.004$ ) of the intact hemisphere and the 2.65-fold increase in its activity ( $p = 0.021$ ) in the ischemic hemisphere, as well as the 1.23-fold increase in SOD activity in the ischemic hemisphere ( $p = 0.042$ ). The TOAM thyronamine synthetic analogue has a great potential in terms of activation of the antioxidant protection mechanisms in the cerebral cortex of white laboratory rats under conditions of acute hemispheric ischemia.

**Keywords:** thyronamines, antioxidants, neuroprotection, ischemic stroke, oxidative stress, lipid peroxidation

**Funding:** the study was carried out within the framework of the state assignment of the Ministry of Health of the Russian Federation № 1023042500162-8-3.1.4;3.2.25 (2023–2025).

**Author contribution:** Filimonov DA — core concept, general management, constructing the statistical model, data processing; Eresko AB, Raksha EV — data acquisition, literature review, TOAM synthetic analogue preparation and spectroscopic analysis; Trubnikova NN — design of the experiment on ischemia simulation, experimental procedure, data acquisition, manuscript writing; Ischenko RV — general management, data acquisition, manuscript editing; Tereschenko DA — biochemical tests, data acquisition, manuscript draft editing; Kisilenko IA — animal experiments, manuscript writing and editing; Nosova IN — data acquisition and processing.

**Compliance with ethical standards:** the study was approved by the Ethics Committee of the V.K. Gusak Institute of Emergency and Reconstructive Surgery (protocol No 3 dated 23 November 2023).

✉ **Correspondence should be addressed:** Dmitry A. Filimonov  
Leninsky Prospekt, 47, Donetsk, 283045, Russia; neuro.dnmu@yandex.ru

**Received:** 04.01.2024 **Accepted:** 04.02.2024 **Published online:** 22.03.2024

**DOI:** 10.47183/mes.2024.003

Инсульт — одна из ведущих причин смертности в мире и ведущая причина стойкой инвалидизации, которая ложится тяжелым экономическим бременем на все общество. Развитие ишемии сопровождается стремительной гибелью миллионов нейронов в течение нескольких секунд. К сожалению, в настоящее время все еще отсутствуют эффективные средства нейропротекции, способные нивелировать этот процесс [1].

Одним из основных механизмов такого повреждения служит оксидативный (окислительный) стресс (ОС), сопровождающийся выделением активных форм кислорода (АФК). Головной мозг особенно чувствителен к оксидативному повреждению, поскольку содержит большое количество полиненасыщенных жирных кислот, представляющих собой одну из предпочтительных целей для АФК. Через 24 ч после перманентной окклюзии среднемозговой артерии (СМА) в эксперименте на грызунах в очаге ишемического инсульта (ИИ) отмечают высокие показатели перекисного окисления липидов (ПОЛ), конечные продукты которого активируют фосфолипазу А<sub>2</sub>, расщепляющую фосфолипиды клеточных мембран с выделением провоспалительных медиаторов. В этот же период времени отмечают низкий уровень антиоксидантов с последующим его нарастанием [2, 3]. Основания ДНК также в значительной степени восприимчивы к повреждению оксидантами. Вследствие этого возникают мутации и делеции как в первичной, так и во вторичной структурах не только ядерной, но и митохондриальной ДНК, причем вторая более уязвима, поскольку располагается ближе к первоисточнику АФК и обладает меньшей репарационной способностью по сравнению с ядерной ДНК. Продукты ПОЛ также могут действовать как триггеры сигнального пути р53, вызывая изменения в строении мембран и утрату функций митохондриальной ДНК [4]. При нарушении редокс-гомеостаза повреждается и иммунная система, вследствие чего могут развиваться аутоиммунные и нейродегенеративные заболевания. С точки зрения оценки интенсивности ОС особый интерес представляют такие показатели, как один из биомаркеров ОС — малоновый диальдегид (МДА), эндогенный антиоксидант супероксиддисмутаза (СОД) и глутатионпероксидаза (ГПО), катализирующая окисление восстановленного глутатиона.

Вклад тиреоидных гормонов (ТГ) в поддержание редокс-статуса неоднозначен. Есть литературные данные, указывающие на то, что гипертиреоз приводит к увеличению продукции АФК, а гипотиреоз — к ее уменьшению, снижая при этом антиоксидантную активность [5, 6]. Митохондрии нейронов — одна из мишеней как для ТГ, так и для их производных (в частности, тиронаминов), причем при дефиците ТГ наблюдают морфофункциональные нарушения в работе этих органелл. В культуре астроцитов было продемонстрировано усиление экспрессии генов бета-окисления пальмитата в митохондриях под влиянием трийодтиронина (Т<sub>3</sub>), что приводило к увеличению содержания в клетках аденозинтрифосфата (АТФ), необходимого для нормальной работы ионных насосов [7, 8]. Учитывая ведущую роль астроцитов в защите нейронов при ишемическом повреждении головного мозга, авторы пришли к выводу, что при экспериментальной транзиторной ишемии снижение размеров очага поражения обусловлено именно нормализацией энергообмена в астроглии, которую обеспечивает ТЗ.

Однако это только один из предполагаемых механизмов нейропротекции, осуществляемой ТГ. Описание роли

их производных — тиронаминов — в защите нейронов обычно ограничивалось гипотермическим эффектом, описанным в литературе. Мы предположили, что тиронамины, в частности, ТОАМ, также могут вносить свой вклад в антиоксидантную защиту нервной ткани. Целью исследования было изучить концентрацию продуктов, активно реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБК-АП), СОД и ГПО в ткани головного мозга лабораторных крыс после экспериментальной острой ишемии на фоне введения синтетического аналога тиронамина ТОАМ (CA-ТОАМ) в качестве предполагаемого нейропротектора.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Синтез CA-ТОАМ — гидрохлорида 4-[4-(2-аминоэтоксифенил)анилина] — был осуществлен авторами по описанной в литературе методике [9]. Структура полученного соединения подтверждена методом ЯМР (<sup>1</sup>H и <sup>13</sup>C) спектроскопии.

Для эксперимента было отобрано 40 животных из собственного вивария ФГБУ «ИНВХ имени В. К. Гусака» Минздрава России, обоих полов, массой 190–210 г. В качестве модели острой ишемии головного мозга была выбрана перманентная перевязка правой общей сонной артерии (ОСА) у белых нелинейных лабораторных крыс. Согласно опубликованным исследованиям, данная модель вызывает формирование небольших по размерам инфарктов коры головного мозга [10]. Операцию проводили под общей анестезией («Калипсол», 100 мг/кг массы тела крысы). В качестве растворителя для CA-ТОАМ использовали диметилсульфоксид (DMSO). В исследовании по изучению биологических эффектов различных растворителей интраперитонеальное введение DMSO крысам в дозе 5 мл/кг в течение месяца расценено как относительно безопасное [11]. Животные были разделены на две экспериментальные группы по 20 особей в каждой. В первой группе («Контроль») проводили операцию по перевязке правой ОСА, через 10 мин после наложения лигатуры вводили внутривенно 0,5 мл раствора DMSO + 0,5 мл раствора NaCl 0,9%. Во второй группе («Эксперимент») животным вводили после операции 0,5 мл раствора DMSO + 0,5 мл раствора NaCl 0,9% + CA-ТОАМ в дозе 75 мг/кг массы тела крысы. Оптимальная доза 75 мг/кг была выбрана на основании максимального выраженного индукции гипотермии при нулевой летальности, исходя из исследования, описанного нами ранее [12]. С учетом максимальной активности ОС в течение первых минут после индукции ишемии [13], препарат вводили через 10 мин после перевязки ОСА. Через сутки после эксперимента животных подвергали декапитации с извлечением головного мозга. Ткань коры больших полушарий — отдельно интактного и ишемизированного — использовали для определения показателей ПОЛ.

Навеску свежей ткани коры больших полушарий головного мозга крыс гомогенизировали не менее 10 мин в стеклянном гомогенизаторе с буфером 50 мМ трис, содержащим 1 мМ ЭДТА и 0,25М сахарозы, pH 7,4, в соотношении 1:3. Готовый гомогенат замораживали при –70 °С минимум на сутки. После размораживания его центрифугировали в течение 30 мин при 4000 об/мин, после чего разводили центрифугат в 6 раз (50 мкл надосадочной жидкости + 250 мкл 5 мМ калий-фосфатного буфера, содержащего  $1 \times 10^{-4}$  М ЭДТА pH 7,8).

Количество белка определяли по методу Лоури фотометрически при  $\lambda = 750$  нм в кювете 5 мм. Результаты

данного метода необходимы для пересчета содержания СОД, ГПО и ТБК-АП в гомогенате головного мозга животного (на 1 мг белка). Метод определения активности СОД в гомогенате ткани мозга основан на способности фермента тормозить реакцию аутоокисления адrenalина в адренохром при pH 10,2. Кинетику окисления измеряли спектрофотометрически при  $\lambda = 480$  нм в кювете 10 мм на биохимическом анализаторе Erpendorf EPAC 6140 (Erpendorf AG; Германия). Содержание ТБК-АП определяли по реакции МДА с 2-тиобарбитуровой кислотой (ТБК) с образованием окрашенного «триметинового комплекса», содержание которого определяли фотометрически при  $\lambda = 532$  нм в кювете 10 мм. Экстинкцию измеряли на биохимическом анализаторе Erpendorf EPAC 6140. Активность ГПО оценивали по изменению количества восстановленного глутатиона (GSH) до и после инкубации с модельным субстратом (гидропероксид трет-бутила) по реакции с реактивом Элмана (5,5-дитиобис-2-нитробензойная кислота). Измеряли оптическую плотность в кювете с ходом луча 10 мм при 412 нм на биохимическом анализаторе Erpendorf EPAC 6140.

Полученные данные статистически обрабатывали с использованием пакета программ для статистических вычислений R (R Core Team, 2018). Согласно результатам теста Шапиро–Вилка, показатели ТБК-АП ( $W = 0,79$ ,  $p = 0,01$ ), ГПО ( $W = 0,860$ ,  $p = 0,016$ ) и СОД ( $W = 0,89$ ,  $p = 0,41$ ) в ишемизированном полушарии не подчинялись нормальному закону распределения. Для выявления различий между выборками был использован непараметрический критерий Манна–Уитни.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Результаты биохимических исследований, характеризующие активность антиоксидантных систем в ткани головного мозга лабораторных животных в модели острой церебральной ишемии, представлены в таблице и на рисунке.

При сравнении уровней ТБК-АП в интактном полушарии было выявлено, что у крыс, получавших СА-ТОАМ, этот показатель был в 3,4 раза выше, чем у животных контрольной группы ( $p < 0,001$ ). Однако в ишемизированном полушарии у крыс, которым вводили исследуемый потенциальный нейротропектор, содержание ТБК-АП оказалось примерно в 2 раза ниже, чем у контрольных животных с ишемией без терапевтической коррекции ( $p = 0,022$ ).

При сравнении активности ГПО у крыс контрольной и экспериментальной групп было выявлено, что введение

СА-ТОАМ приводит к повышению активности данного фермента в 2,49 и 2,65 раза соответственно в ткани коры головного мозга как интактного ( $p = 0,040$ ), так и ишемизированного ( $p = 0,021$ ) полушарий.

Статистически значимых отличий в активности СОД в ткани коры интактных полушарий головного мозга крыс в контроле и в эксперименте выявлено не было ( $p = 0,750$ ). Однако в ишемизированном полушарии животных, получавших СА-ТОАМ, активность СОД оказалась в 1,23 раза выше, чем у крыс контрольной группы ( $p = 0,042$ ).

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

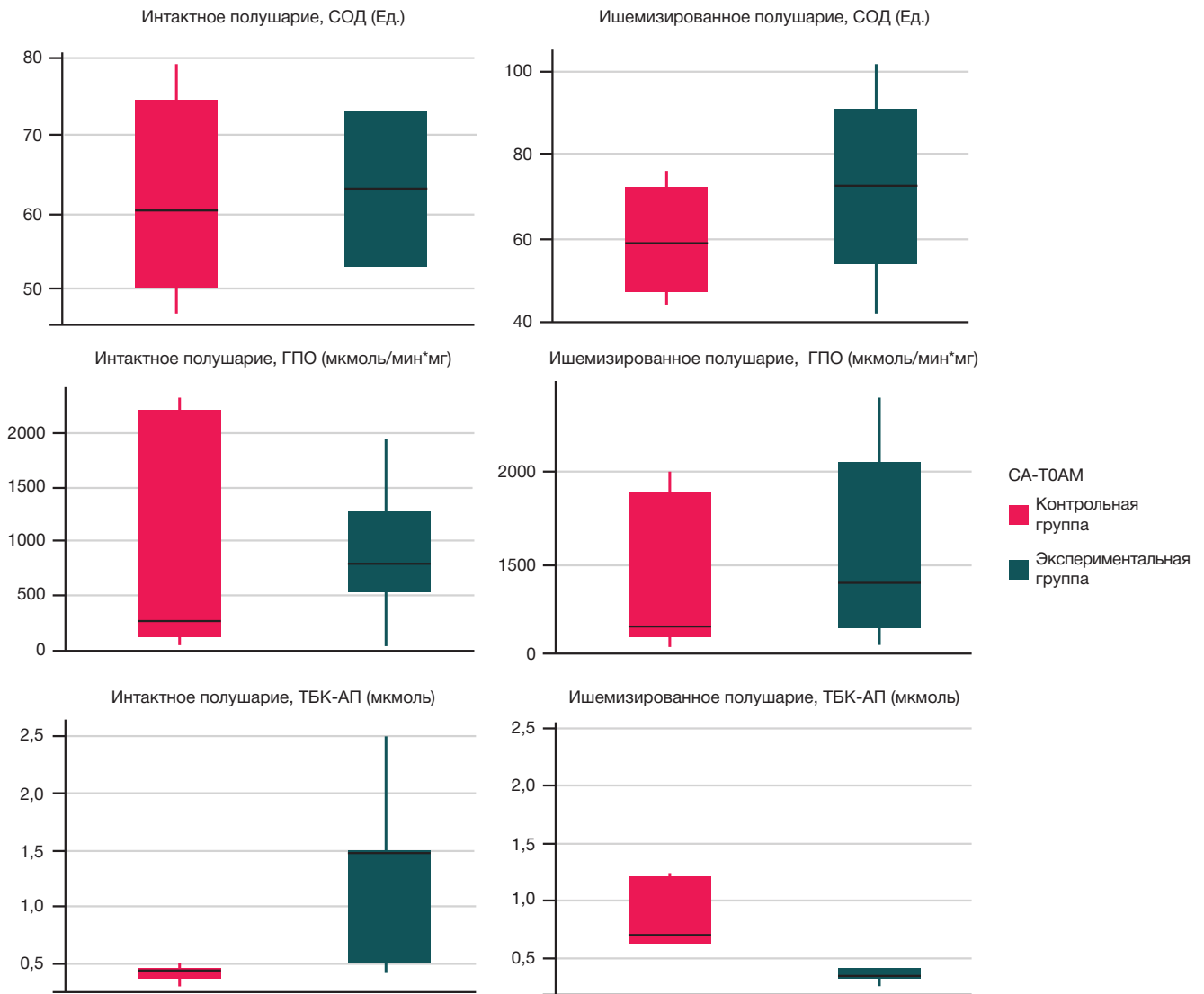
### Изменение содержания МДА при острой ишемии

Увеличение количества ТБК-АП, которое наблюдали в гомогенатах полушарий головного мозга крыс, свидетельствует об активации процессов ОС при ишемии. МДА представляет собой стабильный и токсичный продукт ПОЛ. Повышение уровня МДА, основного компонента ТБК-АП, приводит к нарушению проницаемости и последующему разрушению клеточных мембран, выходу лизосомальных ферментов и активации процессов лизиса клеточных структур.

Исследователями было показано статистически значимое увеличение количества МДА в крови пациентов с ИИ без обнаружения корреляции с исходом заболевания, в то время как в другой работе выявили зависимость между сывороточным уровнем МДА и функциональным исходом заболевания через 3 месяца, в связи с чем даже предложили использовать МДА в качестве биопредиктора [2, 3]. Ряд авторов подтверждает наличие существенной положительной корреляции между уровнями МДА и функциональным исходом инсульта через неделю после поступления пациента в отделение, а в одном из исследований обнаружили, что по уровню МДА в день поступления и через 7 дней можно прогнозировать функциональную нетрудоспособность пациента спустя 6 месяцев по шкале mRS [14, 15]. Замечена и существенная связь между уровнем МДА и тяжестью инсульта по шкале NIHSS. Из-за недостаточного потребления кислорода в зоне пенумбры скапливается огромное количество свободных радикалов (о чем и свидетельствует накопление МДА). Степень повреждения зависит от активности механизмов антиоксидантной защиты. При тяжелом течении инсульта из-за большого объема поврежденных тканей антиоксиданты не справляются со связыванием свободных радикалов. Антиоксидантные ферменты

**Таблица.** Показатели антиоксидантной защиты в ткани головного мозга крыс в модели острой полушарной ишемии (показатели СОД, ГПО и ТБК-АП указаны в пересчете на 1 мг белка)

Группы	Контроль		Эксперимент		p
	n	Медиана	n	Медиана	
Показатель					
СОД, Ед., интактное полушарие	16	60	16	63	0,75
СОД, Ед., ишемизированное полушарие	18	59	18	72,5	0,042
ГПО, мкмоль/мин.*мг, интактное полушарие	16	278,5	18	693	0,004
ГПО, мкмоль/мин.*мг, ишемизированное полушарие	16	304	18	805	0,021
ТБК-АП, мкмоль, интактное полушарие	20	0,44	20	1,5	< 0,001
ТБК-АП, мкмоль, ишемизированное полушарие	20	0,7	20	0,34	0,022



**Рис.** Активность маркеров окислительного стресса в головном мозге крыс в модели острой полушарной ишемии. ТБК-АП — концентрация продуктов, активно реагирующих с тиобарбитуровой кислотой; СОД — супероксиддисмутаза; ГПО — глутатионпероксидаза

являются индуцируемыми энзимами, потому для их транскрипции и синтеза требуется определенное время. Таким образом, в начальной фазе развития инсульта происходит усиление ПОЛ из-за недостаточной стимуляции антиоксидантных защитных механизмов, что отражает объем инсульта и, как следствие, тяжесть его течения, а МДА служит чувствительным маркером данного процесса. Снижение уровня ТБК-АП в гомогенатах ткани головного мозга крыс на фоне введения CA-T0AM указывает на уменьшение степени ОС в данной группе животных [16].

#### Изменение активности ГПО при острой ишемии

Считается, что ГПО обладает защитной функцией в отношении повреждений головного мозга. У мышей с нокаутированным геном глутатионпероксидазы 1 (ГПО1) в эксперименте по окклюзии СМА с последующей реперфузией наблюдают увеличение размеров инфаркта и усиление апоптоза [17, 18]. У этих животных наблюдали увеличение активности каспазы-3, которая повышается при ОС, что также свидетельствует в пользу того, что чувствительные к ГПО1 АФК играют важную роль в регуляции апоптоза. Данные подтверждают, что ГПО1 способна эффективно взаимодействовать не только с

главными сигнальными путями нейрональной смерти, но также и с механизмами постишемического воспаления. Это позволяет ряду авторов рассматривать ГПО1 как многообещающий инструмент для терапевтического вмешательства в процессы, связанные с предотвращением или регулированием постишемического повреждения головного мозга [19].

Было показано защитное действие сверхэкспрессии ГПО в отношении нейронов головного мозга при фокальной ишемии у крыс. В эксперименте на 62 особях моделировали окклюзию СМА и стереотаксически вводили в полосатые ядра (очаг ишемии) вирусные векторы, экспрессирующие либо GPx1/lacZ (опытная группа), либо только lacZ (контроль). Было выявлено, что при введении векторов за 12 ч до операции выживаемость нейронов была на 36% выше в сравнении с показателями контрольной группы. При введении вектора через 2 и 5 ч после операции выживаемость нейронов была выше соответственно на 26% и 25% в сравнении с контролем. Морфологически было подтверждено, что в обеих группах тяжесть ишемии была одинаковой. С использованием иммунофлуоресцентного окрашивания авторы показали, что сверхэкспрессия ГПО предотвращает высвобождение цитохрома с из митохондрий нейронов и ограничивает опосредованное



азотом повреждение этих органоидов, подавляет экспрессию Вах и каспазы-3 и активирует экспрессию Bcl-2, что указывает на участие ГПО в ингибировании эндогенного пути апоптоза. Эндогенная ГПО синтезируется в нейронах, и перенос гена с вектором усиливает ее продукцию. Астроциты защищают нейроны от ОС за счет содержащегося в них глутатиона, и сверхэкспрессия ГПО также способствует его превращению в окисленную форму после реакции с АФК. ГПО обладает способностью напрямую блокировать определенные этапы пути апоптоза без снижения общего уровня АФК. Например, повышение продукции Bcl-2 на фоне сверхэкспрессии ГПО способно блокировать высвобождение цитохрома с. Цитозольный цитохром формирует существенную часть апоптосомы у позвоночных, которая включает в себя также прокаспазу-9. Активация каспазы-9 индуцирует активацию каспазы-3, которая запускает биохимическое разрушение клеток. Данные указывают на то, что ГПО предотвращает апоптоз на уровне высвобождения цитохрома с, в пользу чего свидетельствуют повышение экспрессии Bcl-2 и снижение экспрессии Вах. Введение вектора с геном ГПО спустя 4–6 ч от развития ишемии может предотвращать вторую фазу активации каспазы и уменьшать за счет этого гибель нейронов в очаге ишемии. Исследователи устанавливают терапевтическое окно для этого способа доставки гена ГПО в очаг заболевания в 9–11 ч [20].

Таким образом, повышение активности ГПО — эндогенный защитный механизм, обеспечивающий выживаемость нейронов при инсульте, и введение СА-ТОАМ в значительной степени усиливает активность данного фермента.

### Изменение активности СОД при острой ишемии

СОД относится к основным ферментам антиоксидантной защиты. Незначительная активация СОД в гомогенатах экспериментального полушария после окклюзии характерна для ишемизированных тканей и свидетельствует об адаптивной перестройке процессов антиоксидантной защиты в ответ на нарушение поступления кислорода в клетки. В целом, литературные данные по активности СОД на фоне ИИ противоречивы. Так, было показано значительное снижение уровня СОД в крови у лиц с ИИ крупных (но не мелких!) сосудов [21], такие же результаты получены при изучении СОД в сыворотке 41 пациента с острым ИИ [22]. Однако другие исследователи, напротив, указывают на резкое повышение уровня СОД в плазме больных, поступивших в отделение, и объясняют это значительным повышением содержания свободных радикалов в организме [23]. Таким образом, на сегодняшний день данные об изменении активности СОД при ишемии головного мозга противоречивы и требуют дальнейшего изучения.

На молекулярном уровне у животных с нокаутированным геном СОД2 наблюдали повышение уровня цитозольного цитохрома с и фрагментацию ДНК. У крыс со сверхэкспрессией СОД1, напротив, содержание цитохрома с в цитозоле низкое. Высвобождение цитохрома с приводит к усилению продукции АФК за счет ингибирования дыхательной цепи. Считается, что АФК также инициируют выход цитохрома с из митохондрий. Таким образом, формируется «порочный круг» высвобождения цитохрома с из митохондрий нейронов при ишемии, что в итоге приводит к активации апоптотического каскада [20].

Наши данные указывают на активацию СОД в ответ на введение СА-ТОАМ, что подтверждает влияние этого потенциального нейропротектора на усиление антиоксидантной защиты в ткани головного мозга при ишемии.

### Влияние тиронаминов на показатели антиоксидантной защиты

Тиронамины T1AM и TOAM способны дозозависимо связываться с рецептором TAAR1 (Trace Amine-Associated Receptor 1), что сопровождается выработкой циклического аденозинмонофосфата (цАМФ), однако на сегодняшний день сложно достоверно утверждать, что TAAR1 — единственный эндогенный рецептор, благодаря которому данные биогенные амины реализуют свои эффекты. Так, усиление выработки цАМФ на клеточном уровне не согласуется с развитием гипотермии и снижением сердечной функции. Следовательно, либо активация TAAR1 не сопряжена с G-белками в отдельных тканях, либо тиронамины способны взаимодействовать и с другими формами TAAR [24]. Возможно, эффекты тиронаминов опосредованы взаимодействием также и с рецепторами, отличными от TAAR. Ряд авторов отмечает накопление T1AM внутри клеток, что позволяет предположить существование внутриклеточных мишеней для данного производного ТГ [25]. Интересно, что в некоторых случаях TOAM влияет на потребление  $O_2$  в большей степени, чем T1AM, хотя данный тиронамин менее эффективен в индукции гипотермии *in vivo* [9].

Тиронамины — природные декарбоксилированные производные ТГ. Их введение *in vivo* зачастую вызывает эффекты, противоположные эффектам, вызываемым гормонами щитовидной железы, включая снижение температуры тела. Поскольку известно, что митохондриальный аппарат передачи энергии служит потенциальной мишенью ТГ и их производных, в 2012 г. было исследовано влияние TOAM и T1AM *in vitro* на скорость потребления  $O_2$  и выделение  $H_2O_2$  митохондриями печени крысы. В работе использовали животных с гипотиреозом из-за низкого содержания в их организме эндогенных тиронаминов. Авторы обнаружили, что инкубация митохондриальных препаратов с тиронаминами вызывает снижение активности белкового комплекса III дыхательной цепи, а эндогенный T1AM способен существенно снижать потребление  $O_2$ , вероятно, замедляя скорость перемещения электронов по дыхательной цепи, и усиливать выработку АФК митохондриями печени у крыс с гипотиреозом. Кроме того, T1AM окисляется моноаминоксидазами внешней мембраны митохондрий за счет  $O_2$ , который затем восстанавливается до  $H_2O_2$  [26, 27].

Влияние тиронамина на активность фермента ГПО в мозге мало изучено и требует дальнейшего исследования. Активация процессов свободнорадикального окисления, увеличение количества АФК, о чем косвенно свидетельствует повышение уровня ТБК-АП и активности СОД в нашем эксперименте, включает процессы редокс-сигнализации. Считается, что система Nrf2-Keap1-ARE является основной ответственной за включение адаптивных механизмов в клетках в условиях ОС. Ядерный фактор Nrf2 представляет собой фактор транскрипции, регулирующий ряд генов антиоксидантной защиты, которые действуют синергически, обеспечивая связывание АФК посредством каскада ферментативных реакций. Гены-мишени Nrf2

участвуют в нейтрализации свободных радикалов, детоксикации ксенобиотиков и поддержании редокс-потенциала. Обычно Nrf2 локализован в цитоплазме и связан с белком Keap1. ОС модифицирует положение связывающих групп в комплексе Nrf2-Keap1, вызывая диссоциацию и перемещение Nrf2 в ядро клетки, где он связывается с антиоксидантным элементом (antioxidant response element, ARE), расположенным в промоторном участке целого ряда генов, кодирующих ферменты синтеза и обмена глутатиона (глутаматцистеинлигаза, глутатион-S-трансфераза, ГПО, глутатионредуктаза) и других ферментов антиоксидантной защиты (СОД, каталаза) [28]. Таким способом запускается активация транскрипции этих генов, и данный механизм может пояснить, почему в интактном полушарии, в меньшей степени затронутым ОС, значения ТБК-АП выше, чем в ишемизированном. На животной модели было показано, что активация Nrf2 способна спасти ткань в зоне пенумбры, но не в ядре инсульта, а профилактическое лечение улучшает функциональный исход в течение месяца. При делециях гена Nrf2 животные становятся чувствительными к действию стрессорных факторов, а также более уязвимыми для ишемического повреждения головного мозга и прочих неврологических нарушений [29]. Увеличение активности ГПО в ответ на возрастание уровня ТБК-АП в гомогенатах ишемизированного полушария до введения СА-Т0АМ, и особенно после введения, может быть также вызвано активацией системы редокс-сигнальной Nrf2-Keap1-ARE [30].

Иными словами, влияние ТГ и их производных (в частности, тиронаминов) на редокс-статус организма и отдельных его тканей подтверждено рядом авторов, однако характер этого воздействия крайне противоречив и требует дальнейшего изучения.

## ВЫВОДЫ

Согласно результатам нашего исследования, содержание ТБК-АП в ишемизированном полушарии белых крыс снижается в ответ на введение синтетического аналога тиронамина Т0АМ (75 мг/кг массы тела крысы интраперитонеально). В то же время наблюдают усиление активности СОД в ишемизированном полушарии и значительное повышение активности ГПО в ткани обоих полушарий головного мозга крыс экспериментальной группы. Это дает основания предполагать, что используемый нами в качестве нейропротектора СА-Т0АМ обладает значительным потенциалом в отношении активации механизмов антиоксидантной защиты в коре головного мозга белых лабораторных крыс в условиях острой полушарной ишемии.

В дальнейшем планируется продолжение поиска наиболее перспективных синтетических аналогов тиронаминов (более удобных для применения в клинике водорастворимых форм с более выраженным гипотермическим эффектом), определение их биологических свойств в модели фокальной церебральной ишемии, а также идентификация сигнальных путей, за счет которых реализуются их нейропротективные эффекты.

## Литература

- Buchan AM, Pelz DM. Neuroprotection in Acute Ischemic Stroke: A Brief Review. *Can J Neurol Sci.* 2022; 49 (6): 741–5. PMID: 34526172. DOI: 10.1017/cjn.2021.223.
- Menon B, Ramalingam K, Kumar R. Evaluating the Role of Oxidative Stress in Acute Ischemic Stroke. *J Neurosci Rural Pract.* 2020; 11 (1): 156–9. DOI: 10.1055/s-0039-3402675.
- Elsayed WM, Abdel-Gawad El-HA, Mesallam DIA, Tamer S. The relationship between oxidative stress and acute ischemic stroke severity and functional outcome. *The Egyptian Journal of Neurology, Psychiatry and Neurosurgery.* 2020; 56: 1–6. DOI: 10.1186/s41983-020-00206-y.
- Carlsson MJ, Vollmer AS, Demuth P, Heylmann D, Reich D, Quarz C, et al. p53 triggers mitochondrial apoptosis following DNA damage-dependent replication stress by the hepatotoxin methyleugenol. *Cell Death Dis.* 2022; 13 (11): 1009. DOI: 10.1038/s41419-022-05446-9.
- Khan M, Mukherjee S, Bank S, Maiti S. Role of Thyroid Hormone and Oxidant Stress in Cardiovascular Diseases. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets.* 2021; 21 (7): 1282–8. DOI: 10.2174/1871530320666200917114501.
- Glombik K, Detka J, Kurek A, Budziszewska B. Impaired brain energy metabolism: involvement in depression and hypothyroidism. *Front Neurosci.* 2020; 14: 586939. DOI: 10.3389/fnins.2020.586939.
- Incerpi S, Gionfra F, Luca De R, Candelotti E, Vito De P, Percario ZA, et al. Extranuclear effects of thyroid hormones and analogs during development: An old mechanism with emerging roles. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2022; 13: 961744. DOI: 10.3389/fendo.2022.961744.
- Rastoldo G, Tighilet B. Thyroid Axis and Vestibular Physiopathology: From Animal Model to Pathology. *Int J Mol Sci.* 2023; 24 (12): 9826. DOI: 10.3390/ijms24129826.
- Chiellini G, Nesi G, Digiacomo M, Malvasi R, Espinoza S, Sabatini M, et al. Design, Synthesis, and Evaluation of Thyronamine Analogues as Novel Potent Mouse Trace Amine Associated Receptor 1 (mTAAR1) Agonists. *J Med Chem.* 2015; 58 (12): 5096–107. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.5b00526.
- Olopade FE, Femi-Akinlosotu OM, Odiri E, Shokunbi MT. Differential effects of common carotid artery occlusion models of ischaemic stroke on sensorimotor function and infarct sizes in rats. *Arch Bas App Med.* 2021; 9: 135–144.
- Gad SC, Cassidy CD, Aubert N, Spainhour B, Robbe H. Nonclinical vehicle use in studies by multiple routes in multiple species. *Int J Toxicol.* 2006; 25 (6): 499–521. DOI: 10.1080/10915810600961531. PMID: 17132609.
- Филимонов Д. А., Ересью А. Б., Белоцерковская М. А., Трубинова Н. Н., Федорова А. А., Сауткина Т. Ю. Терморегуляторные эффекты метаболитов тиреоидных гормонов (тиронамина Т0АМ) в in-vivo эксперименте. *Вестник неотложной и восстановительной хирургии.* 2019; 4 (4): 214–22.
- Kelmanson IV, Shokhina AG, Kotova DA, Pochechuev MS, Ivanova AD, Kostyuk AI, et al. In vivo dynamics of acidosis and oxidative stress in the acute phase of an ischemic stroke in a rodent model. *Redox Biol.* 2021; 48: 102178. DOI: 10.1016/j.redox.2021.102178. PMID: 34773835. PMID: PMC8600061.
- Yaseen Z, Chowdhury D, Shantaram M, Agarwal S. Prognostic significance of plasma homocysteine and malondialdehyde in patients with acute ischemic stroke. *Intern J Pharma Research and Health Sciences.* 2015; 3 (3): 727–36. DOI: 10.1186/s12883-021-02257-x.
- Zhang JJ, Sanchez VDI, Chan JN, Hui ESK, Lau KK, Wang X, et al. Biomarkers for prognostic functional recovery poststroke: A narrative review. *Front Cell Dev Biol.* 2023; 10: 1062807. DOI: 10.3389/fcell.2022.1062807.
- Crack PJ, Taylor JM, Flentjar NJ, Haan de J, Hertzog P, Iannello RC, et al. Increased infarct size and exacerbated apoptosis in the glutathione peroxidase-1 (Gpx-1) knocked mouse brain in response to ischemia/reperfusion injury. *J Neurochem.* 2001; 78 (6): 1389–99. DOI: 10.1046/j.1471-4159.2001.00535.x. PMID:

- 11579147.
17. Vaskova J, Kocan L, Vasko L, Perjesi P. Glutathione-Related Enzymes and Proteins: A Review. *Molecules*. 2023; 28 (3): 1447. DOI: 10.3390/molecules28031447.
  18. Kamal FZ, Lefter R, Jaber H, Balmus IM, Ciobica A, Iordache AC. The Role of Potential Oxidative Biomarkers in the Prognosis of Acute Ischemic Stroke and the Exploration of Antioxidants as Possible Preventive and Treatment Options. *Int J Mol Sci*. 2023; 24 (7): 6389. DOI: 10.3390/ijms24076389.
  19. Hoehn B, Yenari MA, Sapolsky RM, Steinberg GK. Glutathione peroxidase overexpression inhibits cytochrome C release and proapoptotic mediators to protect neurons from experimental stroke. *Stroke*. 2003; 34: 2489–94. DOI: 10.1161/01.STR.0000091268.25816.19.
  20. Srikrishna R, Suresh DR. Biochemical Study of Antioxidant Profile in Acute Ischemic Stroke. *British Journal of Medical Practitioners*. 2009; 2 (1): 35–7.
  21. Spranger M, Krempien S, Schwab S, Donneberg S, Hacke W. Superoxide dismutase activity in serum of patients with acute cerebral ischemic injury. Correlation with clinical course and infarct size. *Stroke*. 1997; 28 (12): 2425–8. DOI: 10.1161/01.str.28.12.2425.
  22. Akinlua I, Asaolu MF, Ojo OC, Oyebanji GO. Evaluation of Oxidative Stress and Antioxidant Level of Stroke Patients in Osun State, South-Western Nigeria. *Journal of Biosciences and Medicines*. 2019; 7 (5): 189–94. DOI: 10.4236/jbm.2019.75020.
  23. Rutigliano G, Zucchi R. Molecular Variants in Human Trace Amine-Associated Receptors and Their Implications in Mental and Metabolic Disorders. *Cell Mol Neurobiol*. 2020; 40 (2): 239–55. DOI: 10.1007/s10571-019-00743-y.
  24. Leo di N, Moscato S, Borso M, Sestito S, Polini B, Bandini L, et al. Delivery of Thyronamines (TAMs) to the Brain: A Preliminary Study. *Molecules*. 2021; 26 (6): 1616. DOI: 10.3390/molecules26061616.
  25. Rutigliano G, Bandini L, Sestito S, Chiellini G. 3-Iodothyronamine and Derivatives: New Allies Against Metabolic Syndrome? *Int J Mol Sci*. 2020; 21 (6): 2005. DOI: 10.3390/ijms21062005.
  26. Venditti P, Napolitano G, Stefano L Di, Chiellini G, Zucchi R, Scanlan TS, et al. Effects of the thyroid hormone derivatives 3-iodothyronamine and thyronamine on rat liver oxidative capacity. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 2011; 341 (1–2): 55–62. DOI: 10.1016/j.mce.2011.05.013.
  27. Martin JV, Sarkar PK. Nongenomic roles of thyroid hormones and their derivatives in adult brain: are these compounds putative neurotransmitters? *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2023; 14: 1210540. DOI: 10.3389/fendo.2023.1210540.
  28. Yan X, Fu X, Jia Y, Ma X, Tao J, Yang T, et al. Nrf2/Keap1/ARE Signaling Mediated an Antioxidative Protection of Human Placental Mesenchymal Stem Cells of Fetal Origin in Alveolar Epithelial Cells. *Oxid Med Cell Longev*. 2019; 2019: 2654910. DOI: 10.1155/2019/2654910.
  29. Farina M, Vieira LE, Buttari B, Profumo E, Saso L. The Nrf2 Pathway in Ischemic Stroke: A Review. *Molecules*. 2021; 26 (16): 5001. DOI: 10.3390/molecules26165001. PMID: 34443584. PMCID: PMC8399750.
  30. Ulasov AV, Rosenkranz AA, Georgiev GP, Sobolev AS. Nrf2/Keap1/ARE signaling: Towards specific regulation. *Life Sci*. 2022; 291: 120111. DOI: 10.1016/j.lfs.2021.120111.

## References

1. Buchan AM, Pelz DM. Neuroprotection in Acute Ischemic Stroke: A Brief Review. *Can J Neurol Sci*. 2022; 49 (6): 741–5. PMID: 34526172. DOI: 10.1017/cjn.2021.223.
2. Menon B, Ramalingam K, Kumar R. Evaluating the Role of Oxidative Stress in Acute Ischemic Stroke. *J Neurosci Rural Pract*. 2020; 11 (1): 156–9. DOI: 10.1055/s-0039-3402675.
3. Elsayed WM, Abdel-Gawad El-HA, Mesallam DIA, Tamer S. The relationship between oxidative stress and acute ischemic stroke severity and functional outcome. *The Egyptian Journal of Neurology, Psychiatry and Neurosurgery*. 2020; 56: 1–6. DOI: 10.1186/s41983-020-00206-y.
4. Carlsson MJ, Vollmer AS, Demuth P, Heylmann D, Reich D, Quarz C, et al. p53 triggers mitochondrial apoptosis following DNA damage-dependent replication stress by the hepatotoxin methyleugenol. *Cell Death Dis*. 2022; 13 (11): 1009. DOI: 10.1038/s41419-022-05446-9.
5. Khan M, Mukherjee S, Bank S, Maiti S. Role of Thyroid Hormone and Oxidant Stress in Cardiovascular Diseases. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*. 2021; 21 (7): 1282–8. DOI: 10.2174/1871530320666200917114501.
6. Glombik K, Detka J, Kurek A, Budziszewska B. Impaired brain energy metabolism: involvement in depression and hypothyroidism. *Front Neurosci*. 2020; 14: 586939. DOI: 10.3389/fnins.2020.586939.
7. Incerpi S, Gionfra F, Luca De R, Candelotti E, Vito De P, Percario ZA, et al. Extranuclear effects of thyroid hormones and analogs during development: An old mechanism with emerging roles. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2022; 13: 961744. DOI: 10.3389/fendo.2022.961744.
8. Rastoldo G, Tighilet B. Thyroid Axis and Vestibular Physiopathology: From Animal Model to Pathology. *Int J Mol Sci*. 2023; 24 (12): 9826. DOI: 10.3390/ijms24129826.
9. Chiellini G, Nesi G, Digiacommo M, Malvasi R, Espinoza S, Sabatini M, et al. Design, Synthesis, and Evaluation of Thyronamine Analogues as Novel Potent Mouse Trace Amine Associated Receptor 1 (mTAAR1) Agonists. *J Med Chem*. 2015; 58 (12): 5096–107. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.5b00526.
10. Olopade FE, Femi-Akinlosotu OM, Odiri E, Shokunbi MT. Differential effects of common carotid artery occlusion models of ischaemic stroke on sensorimotor function and infarct sizes in rats. *Arch Bas App Med*. 2021; 9: 135–144.
11. Gad SC, Cassidy CD, Aubert N, Spainhour B, Robbe H. Nonclinical vehicle use in studies by multiple routes in multiple species. *Int J Toxicol*. 2006; 25 (6): 499–521. DOI: 10.1080/10915810600961531. PMID: 17132609.
12. Filimonov DA, Yeresko AB, Belotserkovskaya MA, Trubnikova NN, Fedorova AA, Sautkina TYu. Thermoregulatory effects of thyroid hormones metabolites (tyronamine T0AM) in in-vivo experiment. *Bulletin of urgent and recovery surgery*. 2019; 4 (4): 214–22. Russian.
13. Kelmanson IV, Shokhina AG, Kotova DA, Pochechuev MS, Ivanova AD, Kostyuk AI, et al. In vivo dynamics of acidosis and oxidative stress in the acute phase of an ischemic stroke in a rodent model. *Redox Biol*. 2021; 48: 102178. DOI: 10.1016/j.redox.2021.102178. PMID: 34773835. PMCID: PMC8600061.
14. Yaseen Z, Chowdhury D, Shantaram M, Agarwal S. Prognostic significance of plasma homocysteine and malondialdehyde in patients with acute ischemic stroke. *Intern J Pharma Research and Health Sciences*. 2015; 3 (3): 727–36. DOI: 10.1186/s12883-021-02257-x.
15. Zhang JJ, Sanchez VDI, Chan JN, Hui ESK, Lau KK, Wang X, et al. Biomarkers for prognostic functional recovery poststroke: A narrative review. *Front Cell Dev Biol*. 2023; 10: 1062807. DOI: 10.3389/fcell.2022.1062807.
16. Crack PJ, Taylor JM, Flentjar NJ, Haan de J, Hertzog P, Iannello RC, et al. Increased infarct size and exacerbated apoptosis in the glutathione peroxidase-1 (Gpx-1) knockout mouse brain in response to ischemia/reperfusion injury. *J Neurochem*. 2001; 78 (6): 1389–99. DOI: 10.1046/j.1471-4159.2001.00535.x. PMID: 11579147.
17. Vaskova J, Kocan L, Vasko L, Perjesi P. Glutathione-Related Enzymes and Proteins: A Review. *Molecules*. 2023; 28 (3): 1447. DOI: 10.3390/molecules28031447.
18. Kamal FZ, Lefter R, Jaber H, Balmus IM, Ciobica A, Iordache AC. The Role of Potential Oxidative Biomarkers in the Prognosis of Acute Ischemic Stroke and the Exploration of Antioxidants as Possible Preventive and Treatment Options. *Int J Mol Sci*. 2023; 24 (7): 6389. DOI: 10.3390/ijms24076389.
19. Hoehn B, Yenari MA, Sapolsky RM, Steinberg GK. Glutathione peroxidase overexpression inhibits cytochrome C release and proapoptotic mediators to protect neurons from experimental stroke. *Stroke*. 2003; 34: 2489–94. DOI: 10.1161/01.STR.0000091268.25816.19.
20. Srikrishna R, Suresh DR. Biochemical Study of Antioxidant Profile

- in Acute Ischemic Stroke. *British Journal of Medical Practitioners*. 2009; 2 (1): 35–7.
21. Spranger M, Krempien S, Schwab S, Donneberg S, Hacke W. Superoxide dismutase activity in serum of patients with acute cerebral ischemic injury. Correlation with clinical course and infarct size. *Stroke*. 1997; 28 (12): 2425–8. DOI: 10.1161/01.str.28.12.2425.
  22. Akinlua I, Asaolu MF, Ojo OC, Oyebanji GO. Evaluation of Oxidative Stress and Antioxidant Level of Stroke Patients in Osun State, South-Western Nigeria. *Journal of Biosciences and Medicines*. 2019; 7 (5): 189–94. DOI: 10.4236/jbm.2019.75020.
  23. Rutigliano G, Zucchi R. Molecular Variants in Human Trace Amine-Associated Receptors and Their Implications in Mental and Metabolic Disorders. *Cell Mol Neurobiol*. 2020; 40 (2): 239–55. DOI: 10.1007/s10571-019-00743-y.
  24. Leo di N, Moscato S, Borso M, Sestito S, Polini B, Bandini L, et al. Delivery of Thyronamines (TAMs) to the Brain: A Preliminary Study. *Molecules*. 2021; 26 (6): 1616. DOI: 10.3390/molecules26061616.
  25. Rutigliano G, Bandini L, Sestito S, Chiellini G. 3-Iodothyronamine and Derivatives: New Allies Against Metabolic Syndrome? *Int J Mol Sci*. 2020; 21 (6): 2005. DOI: 10.3390/ijms21062005.
  26. Venditti P, Napolitano G, Stefano L Di, Chiellini G, Zucchi R, Scanlan TS, et al. Effects of the thyroid hormone derivatives 3-iodothyronamine and thyronamine on rat liver oxidative capacity. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 2011; 341 (1–2): 55–62. DOI: 10.1016/j.mce.2011.05.013.
  27. Martin JV, Sarkar PK. Nongenomic roles of thyroid hormones and their derivatives in adult brain: are these compounds putative neurotransmitters? *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2023; 14: 1210540. DOI: 10.3389/fendo.2023.1210540.
  28. Yan X, Fu X, Jia Y, Ma X, Tao J, Yang T, et al. Nrf2/Keap1/ARE Signaling Mediated an Antioxidative Protection of Human Placental Mesenchymal Stem Cells of Fetal Origin in Alveolar Epithelial Cells. *Oxid Med Cell Longev*. 2019; 2019: 2654910. DOI: 10.1155/2019/2654910.
  29. Farina M, Vieira LE, Buttari B, Profumo E, Saso L. The Nrf2 Pathway in Ischemic Stroke: A Review. *Molecules*. 2021; 26 (16): 5001. DOI: 10.3390/molecules26165001. PMID: 34443584. PMCID: PMC8399750.
  30. Ulasov AV, Rosenkranz AA, Georgiev GP, Sobolev AS. Nrf2/Keap1/ARE signaling: Towards specific regulation. *Life Sci*. 2022; 291: 120111. DOI: 10.1016/j.lfs.2021.120111.



## ВЛИЯНИЕ СИСТЕМАТИЧЕСКОЙ ХОЛОДОВОЙ НАГРУЗКИ НА СПЕКТРАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ТЕТА- И АЛЬФА-РИТМОВ ЭЭГ КУРСАНТОВ ВОЕННОГО ВУЗА

С. Н. Толстогузов<sup>1</sup>✉, Т. А. Фишер<sup>2</sup>, Ю. В. Найда<sup>1</sup>, О. Н. Лепунова<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Тюменский государственный университет, Тюмень, Россия

<sup>2</sup> Тюменское высшее военно-инженерное командное училище имени маршала инженерных войск А. И. Прошлякова, Министерство обороны, Тюмень, Российская Федерация

В настоящем исследовании рассмотрены особенности спектральных характеристик ЭЭГ в альфа- и тета-диапазонах у курсантов военного вуза, проходящих специальную подготовку по повышению холодовой устойчивости (закаливание). Целью работы было изучить влияние поэтапного воздействия дозированных низкотемпературных нагрузок (закаливания) курсантов военного вуза на спектральные характеристики ЭЭГ в альфа- и тета-диапазоне. Исследованы студенты гражданского вуза и курсанты военного вуза (всего 58 человек). Курсанты проходили специальную программу повышения холодовой устойчивости (закаливания). Регистрировали фоновую запись ЭЭГ в альфа- и тета-диапазонах. Статистическую обработку проводили методами непараметрического сравнения по критерию Манна–Уитни. Получены результаты, свидетельствующие о достоверных отличиях группы курсантов-иностранцев от контроля по спектральным показателям альфа- и тета-ритмов. Программа закаливания была эффективна в группе курсантов-россиян, что отразилось на стабильности церебрального гомеостаза при некоторой степени неустойчивости нейродинамических процессов в ЦНС. У курсантов-иностранцев систематические холодовые тренировки привели к выраженной дезинтеграции корково-подкорковых и внутрикортикальных взаимоотношений, а также формированию двухъядерной альфа-тета-структуры фоновой ЭЭГ.

**Ключевые слова:** ЭЭГ, альфа-ритм, тета-ритм, адаптация, холодовая устойчивость организма, курсанты

**Вклад авторов:** С. Н. Толстогузов — проведение исследований, анализ данных, написание статьи; Т. А. Фишер — анализ данных, написание статьи; Ю. В. Найда — проведение исследований; О. Н. Лепунова — анализ данных.

**Соблюдение этических стандартов:** исследование одобрено этическим комитетом ФГАОУ ВО Тюменский государственный университет (протокол № 11 от 19 февраля 2024 г.)

✉ **Для корреспонденции:** Сергей Николаевич Толстогузов  
ул. Володарского, д. 6, г. Тюмень, 625003, Россия; s.n.tolstoguzov@utmn.ru

**Статья получена:** 20.02.2024 **Статья принята к печати:** 21.03.2024 **Опубликована онлайн:** 31.03.2024

**DOI:** 10.47183/mes.2024.016

## IMPACT OF PERSISTENT COLD STRESS ON SPECTRAL CHARACTERISTICS OF EEG ALPHA AND THETA RHYTHMS IN MILITARY ACADEMY CADETS

Tolstoguzov SN<sup>1</sup>✉, Fisher TA<sup>2</sup>, Naida YuV<sup>1</sup>, Lepunova ON<sup>1</sup>

<sup>1</sup> University of Tyumen, Tyumen, Russia

<sup>2</sup> Proshlyakov Tyumen Higher Military Engineer Command School, Ministry of Defence of the Russian Federation, Tyumen, Russia

The study was focused on the features of spectral characteristics of the EEG alpha and theta ranges in the military academy cadets undergoing specific training to improve cold resistance (cold exposure training). The study was aimed to assess the impact of the military academy cadets' incremental exposure to the graduated cold stress (cold exposure training) on spectral characteristics of the EEG alpha and theta rhythms. Students of the civil higher educational institution and military academy cadets were assessed (58 individuals in total). Cadets underwent a specific program focused on improving cold resistance (cold exposure training). Background EEG in the alpha and theta frequency ranges was recorded. Statistical data processing involved nonparametric comparison using the Mann–Whitney U test. The results were obtained suggesting that there were significant differences in spectral characteristics of alpha and theta rhythms between the group of foreign cadets and the controls. The cold exposure training program was effective in the group of Russian cadets, which had an effect on the cerebral homeostasis stability with some degree of instability of neurodynamic processes in the CNS. In foreign cadets, regular cold exposure training resulted in the pronounced disintegration of cortical-subcortical and intracortical interactions, as well as in the formation of binary alpha-theta structure of background EEG.

**Keywords:** EEG, alpha rhythm, theta rhythm, adaptation, cold resistance of the body, military cadets

**Author contribution:** Tolstoguzov SN — research procedure, data analysis, manuscript writing; Fisher TA — data analysis, manuscript writing; Naida YuV — research procedure; Lepunova ON — data analysis.

**Compliance with the ethical standards:** the study was approved by the Ethics Committee of the University of Tyumen (protocol № 11 dated 19 February 2024). All patients submitted the informed consent to study participation.

✉ **Correspondence should be addressed:** Sergey N. Tolstoguzov  
Volodarskogo, 6, Tyumen, 625003, Russia; s.n.tolstoguzov@utmn.ru

**Received:** 20.02.2024 **Accepted:** 21.03.2024 **Published online:** 31.03.2024

**DOI:** 10.47183/mes.2024.016

Оценка влияния холодовых факторов среды на функциональное состояние человека, а также изучение реактивности регуляторных систем организма на холод — важные компоненты получения комплексной картины стресс-воздействий климата высоких широт на состояние здоровья человека, его благополучие и эффективность выполняемой им деятельности.

Значимыми элементами изучения холодового стресса выступают также феномен закаливания и понимание

физиологических механизмов перехода организма человека из состояния, не адаптированного к холоду, к уровню стабильной холодовой устойчивости. В этом аспекте важно рассмотрение цены адаптации или аллостатической нагрузки, которую человек «платит», приспособившись к острым или длительным воздействиям низких температур. Вызывают большой интерес исследования температурного гомеостаза не только российских студентов (молодых людей, родившихся и постоянно проживающих в

климатических условиях Западной Сибири), но и студентов-иностранцев, приехавших из регионов с тропическим и субтропическим климатом [1, 2]. На сегодняшний день географическая миграция молодежи для получения базового образования на территории РФ имеет тенденцию нарастать из стран Африки, Азии, Ближнего Востока [3]. При этом практически не описаны типы адаптации (акклиматизация, акклимация) к резким перепадам температур при смене географического региона. Вместе с тем недостаточно научных исследований описания функциональных состояний организма и уровня динамики заболеваемости у иностранцев, особенно у тех, которые обучаются в военных вузах, в сравнении со студентами, проживающими на территории РФ.

Чувствительным и, что более важно, информативным показателем адаптационных перестроек организма и компенсаторных процессов в центральной нервной системе служит биоэлектрическая активность головного мозга, регистрируемая при помощи ЭЭГ [4–8]. Влияние низких температур на формирование биоэлектрической активности мозга, особые паттерны ЭЭГ у лиц, постоянно или периодически подверженных холодовому воздействию, отмечены в целом ряде отечественных [9–11] и зарубежных исследований [10–12]. Так, у одной из групп испытуемых отмечали усиление суммарной мощности спектра альфа- и тета-волн в паттернах энцефалограммы под влиянием холода [7]. В другой работе, напротив, было зарегистрировано холодовое снижение мощности альфа-ритма [10]. В литературе представлены противоречивые данные о влиянии гипотермии и систематических закаливающих мероприятий на биоэлектрическую активность мозга, которые во многом зависят от того, какой аспект проблемы рассматривали (острая гипотермия или длительное воздействие, целенаправленное закаливание или неизбежное влияние холодových условий высоких широт, аборигенное или пришлое население изучается и пр.). При этом остается актуальным вопрос поиска ЭЭГ-маркеров успешности адаптации человека к воздействию низких температур.

Цель настоящей работы заключалась в изучении влияния поэтапного воздействия дозированных низкотемпературных нагрузок (закаливания) курсантов военного вуза на спектральные характеристики ЭЭГ в альфа- и тета-диапазоне.

## ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

В однократном (поперечном) исследовании приняли участие 58 испытуемых, разделенных на три группы. Первую группу из 18 человек (далее по тексту — контрольная группа, гражданские студенты, КГ) составили юноши, обучающиеся в Тюменском государственном университете, постоянно проживающие на территории Тюменской области, средний возраст —  $21,36 \pm 1,83$  лет. Во вторую группу из 29 человек (далее по тексту — экспериментальная группа закаливания 1, курсанты из разных регионов РФ, Г31) вошли курсанты Тюменского высшего военно-инженерного командного училища имени маршала инженерных войск А. И. Прошлякова, постоянно проживающие на территории Тюменской области, а также регионах Уральского или Сибирского федеральных округов РФ, средний возраст —  $20,58 \pm 1,29$  лет. Третью группу из 11 человек (далее по тексту — экспериментальная группа закаливания 2, курсанты-иностранцы, Г32) составили курсанты-иностранцы Тюменского высшего

военно-инженерного командного училища имени маршала инженерных войск А. И. Прошлякова, постоянно проживающие в странах с тропическим и субтропическим климатом (Никарагуа, Конго, Мозамбик, Гвинея, Гвинея-Бисау, Габон), темнокоричневая, средний возраст  $23,39 \pm 1,95$  лет.

Критерии включения: отношение к 1–2 группе диспансерного наблюдения; хорошая успеваемость в вузе (успешность обучения как критерий эффективности основного вида деятельности). Критерии исключения: наличие в анамнезе неврологических заболеваний и/или обострение любых нозологий в последние две недели перед исследованием.

Исследование проводили в середине ноября. Ему в течение 2,5 месяцев предшествовала тренировка повышения холодной устойчивости у курсантов обеих экспериментальных групп по программе поэтапного воздействия дозированных температурных нагрузок, направленных на совершенствование адаптационных возможностей военнослужащего. Программа включала в себя начальный уровень подготовки в развитии холодной устойчивости (регулярное обливание холодной (+5...+8 °C) водой на улице, занятия проводили 2–3 раза неделю в течение 3 недель) [13] и тренировочный (специальный) уровень (погружение в холодную воду (+2...+2,5 °C) в полной боевой экипировке, занятия проводили 1–2 раза в неделю в течение 2 месяцев) [14].

Регистрацию ЭЭГ осуществляли стационарно на аппаратно-программном комплексе «Нейрон-Спектр-4/ВГМ» («Нейрософт»; Россия). Электроды фиксировали по «10–20» в 16 активных отведениях двух полушарий, монополярно с ушными референтами. Фоновую запись вели в состоянии спокойного бодрствования с закрытыми глазами — в свето- и звукоизолированном помещении. Спектр регистрации — от 0,5 до 35 Гц. Сопротивление электродов < 20 кОм. Использовали частоту квантования 500 точек. Анализ фоновой записи ЭЭГ проводили по 20 эпохам анализа длительностью 10–15 с каждая, выделяя безартефактные участки. Математический анализ ЭЭГ проводили с использованием программы «Нейрон-Спектр» с преобразованием Фурье для частотных диапазонов  $\theta$  (4,0–8,0 Гц) и  $\alpha$  (8,0–14,0 Гц). Для описания функционального состояния головного мозга испытуемых использовали показатели полной мощности спектра (мкВ<sup>2</sup>), индексов ритма (Гц), интегральных индексов ЭЭГ альфа/тета.

Статистическую обработку проводили с использованием пакета программ SPSS Statistics 23. Данные представлены в виде медианы (Me), первого и третьего квартилей (Q1–Q3). Проверку нормальности распределения осуществляли по критерию Шапиро–Уилка. В силу того что распределение показателей не соответствовало нормальному, сравнение с контролем проводили непараметрическими методами по критерию Манна–Уитни для двух независимых групп.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Визуальный анализ ЭЭГ испытуемых позволил выделить основные варианты организации биоэлектрической активности мозга по классификации Е. А. Жирмунской [15] (рис. 1).

В контрольной группе доминировал I тип биоэлектрической активности (66% случаев) с организованной структурой альфа-активности и выраженным зональным градиентом основного ритма в передне-заднем направлении. II и III типы ЭЭГ были

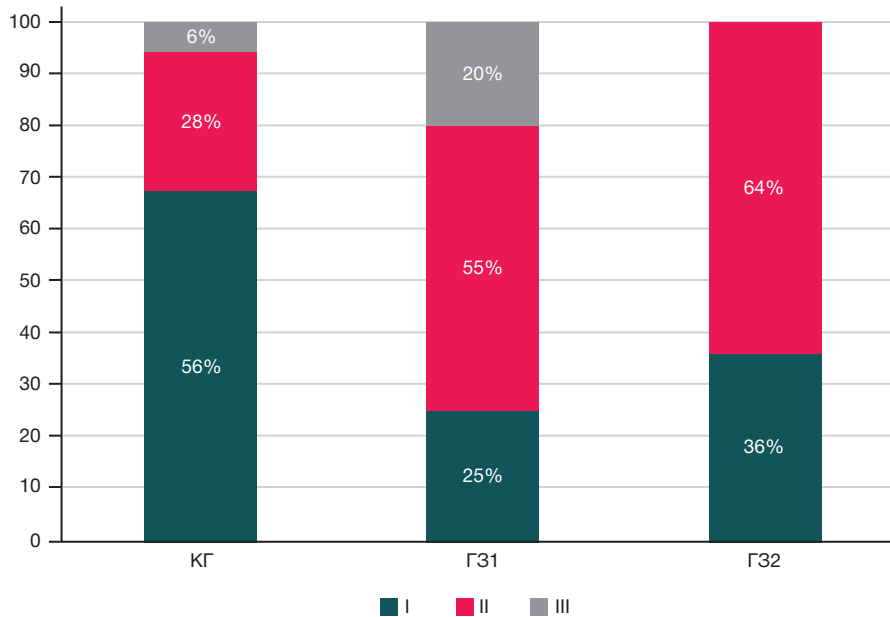


Рис. 1. Доля различных типов ЭЭГ в выборках испытуемых [1]. КГ — контрольная группа, Г31 — группа закаливания первая экспериментальная, Г32 — группа закаливания вторая экспериментальная

представлены реже — в 28 и 6% случаев соответственно. В первой и второй экспериментальных группах закаливания чаще всего (55 и 64% соответственно) был отмечен гиперсинхронный тип ЭЭГ с выраженной альфа-ритмикой, не структурированной в веретена. У молодых людей из первой экспериментальной группы закаливания также в 20% случаев встречался III десинхронный тип ЭЭГ с резким уменьшением количества альфа-волн и заменой их на колебания в тета- или бета-диапазонах.

Спектральный анализ полной мощности ЭЭГ в тета-диапазоне выявил значительно более высокие показатели второй экспериментальной группы закаливания по сравнению с контролем в отведениях правого полушария (рис. 2).

Так, испытуемые Г32 достоверно превосходили КГ по тета-активности в отведениях: правом переднелобном  $Fp_2$  ( $U = 26$ ;  $Z = -3,28$ ;  $p < 0,001$ ), правом лобном  $F_4$  ( $U = 29$ ;  $Z = -3,14$ ;  $p = 0,002$ ), правом центральном  $C_4$  ( $U = 31$ ;  $Z = -3,05$ ;  $p = 0,002$ ), правом передневисочном  $F_8$  ( $U = 49$ ;  $Z = -2,24$ ;  $p = 0,024$ ), правом височном  $T_4$  ( $U = 10$ ;  $Z = -4,00$ ;  $p < 0,001$ ), правом теменном  $P_4$  ( $U = 24$ ;  $Z = -3,37$ ;  $p < 0,001$ ) и правом затылочном  $O_2$  ( $U = 45$ ;  $Z = -2,42$ ;  $p = 0,015$ ). Молодые люди из Г31, напротив, имели достоверно более низкие значения полной мощности спектра в тета-диапазоне по сравнению с контролем в отведениях: левом и правом переднелобных  $Fp_1$  ( $U = 119,5$ ;  $Z = -3,09$ ;  $p = 0,002$ ),  $Fp_2$  ( $U = 120$ ;  $Z = -3,07$ ;  $p = 0,002$ ), левом центральном  $C_3$  ( $U = 165$ ;  $Z = -2,10$ ;  $p = 0,035$ ), правом передневисочном  $F_8$  ( $U = 161$ ;  $Z = -2,17$ ;  $p = 0,029$ ), левом и правом височных  $T_3$  ( $U = 142$ ;  $Z = -2,60$ ;  $p = 0,009$ ),  $T_4$  ( $U = 151$ ;  $Z = -2,39$ ;  $p = 0,016$ ), левом и правом задневисочных  $T_5$  ( $U = 112$ ;  $Z = -3,26$ ;  $p = 0,001$ ),  $T_6$  ( $U = 173$ ;  $Z = -1,92$ ;  $p = 0,050$ ).

В альфа-полосе полная мощность спектра также была наиболее значительной в Г32 и достоверно превосходила КГ в отведениях: правом переднелобном  $Fp_2$  ( $U = 23$ ;  $Z = -3,41$ ;  $p < 0,001$ ), правом лобном  $F_4$  ( $U = 24$ ;  $Z = -3,37$ ;  $p < 0,001$ ), правом центральном  $C_4$  ( $U = 46$ ;  $Z = -2,38$ ;  $p = 0,017$ ), правом передневисочном  $F_8$  ( $U = 33$ ;  $Z = -2,96$ ;  $p = 0,003$ ), левом и правом височных  $T_3$  ( $U = 54$ ;  $Z = -1,95$ ;  $p = 0,050$ ),  $T_4$  ( $U = 13$ ;  $Z = -3,86$ ;  $p < 0,001$ ) (рис. 3).

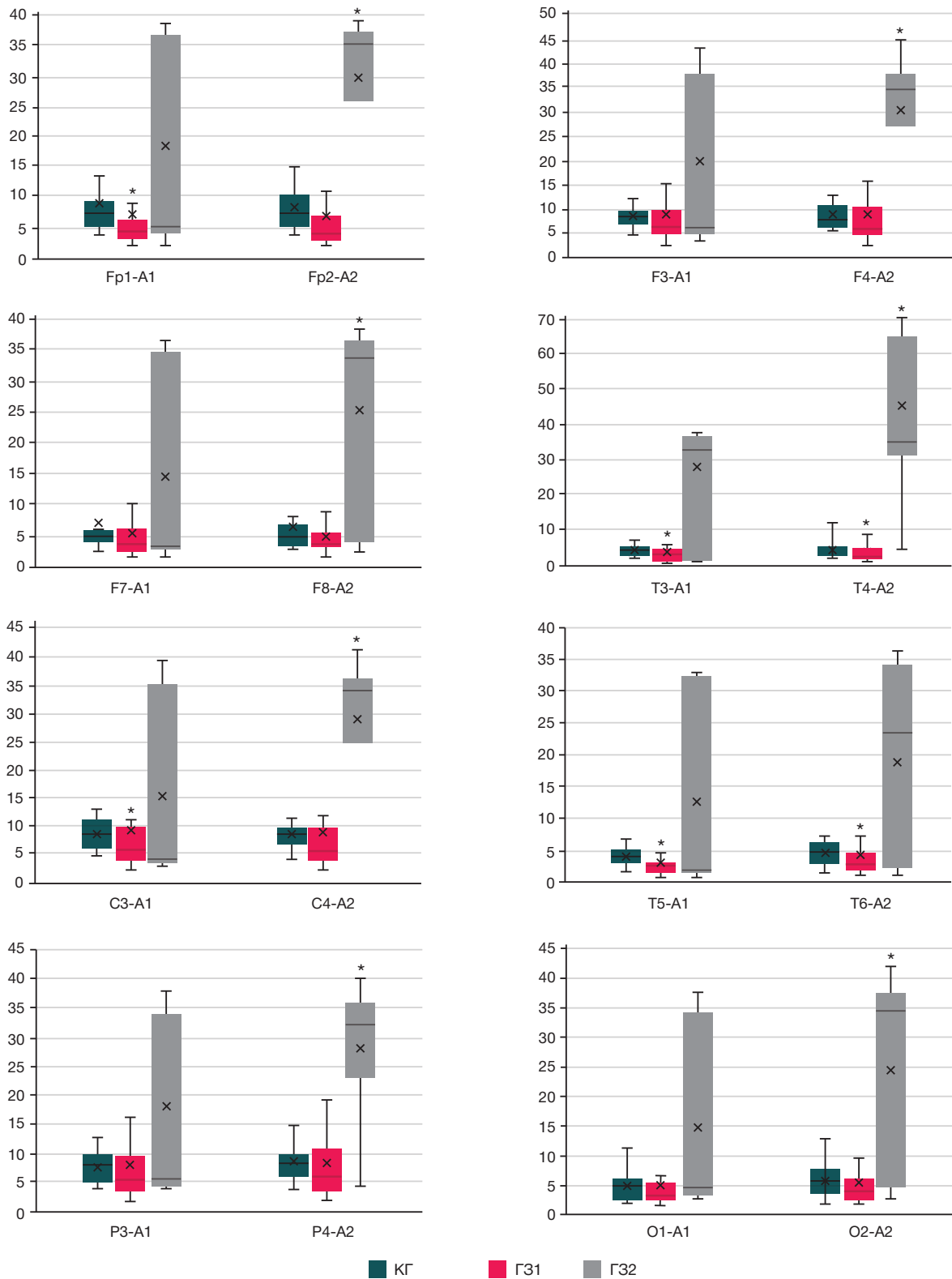
Полная мощность спектра в альфа-диапазоне у испытуемых из Г31 была достоверно ниже контроля по левому височному  $T_3$  ( $U = 170$ ;  $Z = -1,98$ ;  $p = 0,042$ ) и левому задневисочному  $T_5$  ( $U = 171$ ;  $Z = -1,92$ ;  $p = 0,050$ ) отведениям.

Практически по всей конвексительной поверхности, за исключением  $C_3$ ,  $F_8$  и  $T_5$ , во второй экспериментальной группе закаливания тета-индекс достоверно превосходил значения контрольной группы в отведениях: левом и правом переднелобных  $Fp_1$  ( $U = 28$ ;  $Z = -3,19$ ;  $p = 0,001$ ),  $Fp_2$  ( $U = 7$ ;  $Z = -4,13$ ;  $p < 0,001$ ), левом и правом лобных  $F_3$  ( $U = 53$ ;  $Z = -2,06$ ;  $p = 0,038$ ),  $F_4$  ( $U = 44$ ;  $Z = -2,47$ ;  $p = 0,013$ ), правом центральном  $C_4$  ( $U = 20$ ;  $Z = -3,55$ ;  $p < 0,001$ ), правом передневисочном  $F_8$  ( $U = 39,5$ ;  $Z = -2,67$ ;  $p = 0,007$ ), левом и правом височных  $T_3$  ( $U = 42$ ;  $Z = -2,56$ ;  $p = 0,010$ ),  $T_4$  ( $U = 8$ ;  $Z = -4,09$ ;  $p > 0,001$ ), правом задневисочном  $T_6$  ( $U = 26,5$ ;  $Z = -3,25$ ;  $p = 0,001$ ), левом и правом теменных  $P_3$  ( $U = 3$ ;  $Z = -4,31$ ;  $p < 0,001$ ),  $P_4$  ( $U = 0$ ;  $Z = -4,44$ ;  $p < 0,001$ ), левом и правом затылочных  $O_1$  ( $U = 45$ ;  $Z = -2,42$ ;  $p = 0,015$ ),  $O_2$  ( $U = 0$ ;  $Z = -4,44$ ;  $p < 0,001$ ) (табл. 1).

Выраженность тета-осцилляций в первой экспериментальной группе закаливания не отличалась от контрольной группы.

Альфа-индекс ЭЭГ у испытуемых Г32 превышал значения контроля во фронтальных отделах мозга в отведениях: левом и правом переднелобных  $Fp_1$  ( $U = 50$ ;  $Z = -2,17$ ;  $p = 0,029$ ),  $Fp_2$  ( $U = 35$ ;  $Z = -2,87$ ;  $p = 0,004$ ), а также правом передневисочном  $F_8$  ( $U = 41$ ;  $Z = -2,58$ ;  $p = 0,009$ ). При этом индекс альфа-ритма в Г32 был достоверно ниже контроля в центральных и каудальных областях по отведениям: левому центральному  $C_3$  ( $U = 51,5$ ;  $Z = 2,13$ ;  $p = 0,033$ ), левому и правому теменным  $P_3$  ( $U = 47$ ;  $Z = 2,33$ ;  $p = 0,019$ ),  $P_4$  ( $U = 13$ ;  $Z = 3,86$ ;  $p < 0,001$ ) и правому затылочному  $O_2$  ( $U = 45$ ;  $Z = 2,43$ ;  $p = 0,015$ ). В целом альфа-индекс во второй контрольной группе закаливания не имел лобно-затылочного градиента.

В первой экспериментальной группе закаливания, как и в контрольной группе, альфа-индекс имел зональную специфику и нарастал от фронтальных к каудальным отделам. У испытуемых Г31 показатели индекса альфа-ритма превосходили контроль лишь по



**Рис. 2.** Показатели полной мощности спектра (мкВ<sup>2</sup>) в тета-диапазоне (4–8 Гц) по 16 основным отведениям. Границы боксов соответствуют квартилям Q25% и Q75%. Линии внутри бокса — медианы, крестики в боксе — средние значения, верхнее и нижнее отклонения — максимальные и минимальные значения. \* — достоверность отличий с контрольной группой ( $p < 0,05$ ) по методу Манна–Уитни; КГ — контрольная группа; Г31 — группа закаливания первая экспериментальная; Г32 — группа закаливания вторая экспериментальная

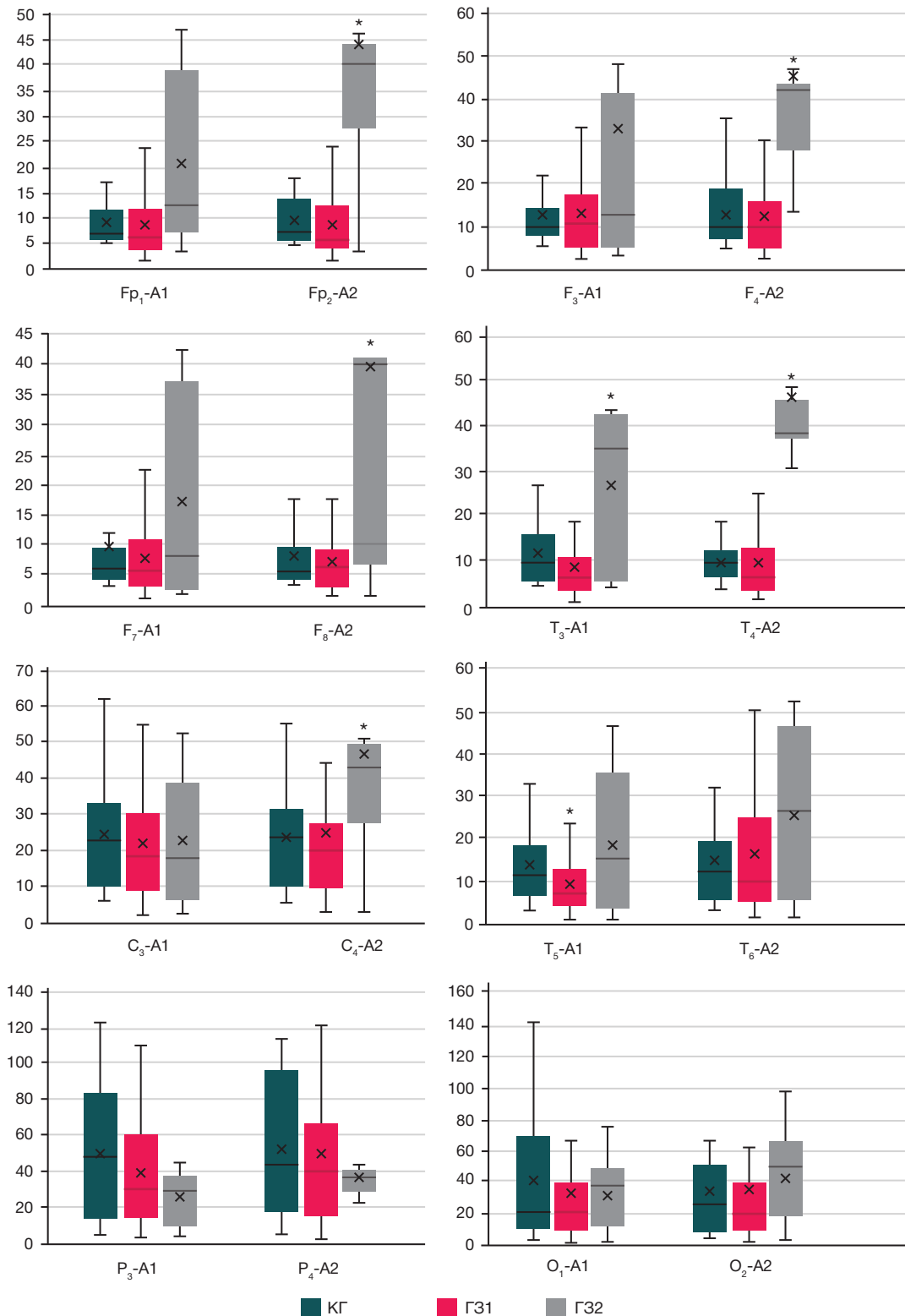
левому переднелобному  $F_{p1}$  ( $U = 166$ ;  $Z = 2,07$ ;  $p = 0,037$ ) и правому фронтальному  $F_8$  ( $U = 162$ ;  $Z = 2,02$ ;  $p = 0,042$ ) отведениям.

Далее был рассчитан индекс стабильности корково-подкорковых нейродинамических процессов как интегральное соотношение альфа/тета ритмов по

показателям полной мощности спектра и индекса ритма (табл. 2).

Самые высокие значения устойчивости функционального состояния ЦНС были зафиксированы в первой экспериментальной группе закаливания, тогда как самые низкие и достоверно отличающиеся от





**Рис. 3.** Показатели полной мощности спектра (мкВ2) в альфа-диапазоне (8-14 Гц) по 16 основным отведениям. Границы боксов соответствуют квартилям Q25% и Q75%. Линии внутри бокса — медианы, крестики в боксе — средние значения, верхнее и нижнее отклонения — максимальные и минимальные значения. \* — достоверность отличий с контрольной группой ( $p < 0,05$ ) по методу Манна-Уитни. КГ — контрольная группа, Г31 — группа закаливания первая экспериментальная, Г32 — группа закаливания вторая экспериментальная

контрольной группы отмечены нами у молодых людей второй экспериментальной группы закаливания.

### ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Визуальный анализ ЭЭГ, несмотря на определенную условность классификации, отмеченную в ряде

исследований, тем не менее позволяет получить комплексную картину формирования биоэлектрической активности мозга испытуемых и функционального состояния головного мозга [16, 17].

По нашим данным, в контрольной группе, состоящей из гражданских молодых людей, превалировал I тип ЭЭГ с выраженным основным ритмом мозга, четкой

Таблица 1. Индексы ритмов (%) ЭЭГ по основным отведениям в тета- и альфа-диапазонах; Медиана (квартили Q25%; Q75%)

Отведение	Индекс ритма, %	КГ, n = 18	ГЗ1, n = 29	ГЗ2, n = 11
Fp <sub>1</sub>	θ (4,0–8,0 Гц)	11,35 (7,95; 12,50)	12,70 (10,40; 17,80)	18,60 (14,95; 23,65)*
	α (8,0–14,0 Гц)	10,10 (7,17; 18,52)	17,73 (11,20; 24,00)*	25,80 (14,95; 33,33)*
Fp <sub>2</sub>	θ (4,0–8,0 Гц)	9,80 (7,20; 13,57)	11,30 (9,10; 16,90)	23,10 (21,80; 23,80)*
	α (8,0–14,0 Гц)	8,90 (7,62; 18,65)	17,60 (9,90; 26,00)	27,20 (25,15; 27,50)*
F <sub>3</sub>	θ (4,0–8,0 Гц)	16,05 (15,12; 20,67)	19,10 (14,80; 23,50)	21,10 (16,40; 25,05)*
	α (8,0–14,0 Гц)	23,50 (17,72; 28,70)	26,40 (16,00; 35,10)	26,50 (21,05; 35,05)
F <sub>4</sub>	θ (4,0–8,0 Гц)	15,10 (13,10; 21,17)	17,60 (15,40; 22,80)	23,20 (22,60; 23,50)*
	α (8,0–14,0 Гц)	22,95 (18,37; 26,70)	28,00 (16,80; 35,50)	26,70 (24,75; 29,05)
F <sub>7</sub>	θ (4,0–8,0 Гц)	15,05 (12,30; 17,97)	15,40 (12,20; 20,20)	17,90 (14,55; 23,45)
	α (8,0–14,0 Гц)	19,85 (14,65; 27,65)	22,90 (14,50; 28,30)	26,60 (15,90; 31,95)
F <sub>8</sub>	θ (4,0–8,0 Гц)	12,20 (9,27; 17,77)	15,00 (9,90; 20,60)	23,70 (18,95; 24,20)*
	α (8,0–14,0 Гц)	16,45 (10,57; 22,72)	21,60 (17,40; 31,80)	27,90 (26,05; 28,90)*
T <sub>3</sub>	θ (4,0–8,0 Гц)	13,90 (12,12; 15,92)	14,60 (11,11; 17,90)	24,20 (13,95; 25,00)*
	α (8,0–14,0 Гц)	30,75 (22,97; 43,37)	30,20 (20,00; 38,70)	28,20 (27,50; 30,80)
T <sub>4</sub>	θ (4,0–8,0 Гц)	12,85 (10,27; 16,72)	13,40 (10,10; 16,80)	23,70 (23,45; 29,50)*
	α (8,0–14,0 Гц)	26,35 (20,97; 37,45)	28,90 (18,90; 43,00)	26,80 (18,85; 27,55)
C <sub>3</sub>	θ (4,0–8,0 Гц)	14,80 (13,15; 17,45)	15,30 (11,60; 18,10)	18,30 (13,55; 21,35)
	α (8,0–14,0 Гц)	37,40 (26,22; 48,75)	45,00 (31,10; 47,80)	27,20 (14,50; 33,45)*
C <sub>4</sub>	θ (4,0–8,0 Гц)	14,45 (12,12; 16,67)	13,60 (10,80; 17,70)	23,00 (22,25; 24,20)*
	α (8,0–14,0 Гц)	37,95 (23,92; 50,72)	40,90 (31,30; 50,20)	29,00 (26,90; 31,60)
T <sub>5</sub>	θ (4,0–8,0 Гц)	11,95 (10,32; 14,90)	11,80 (9,60; 15,60)	13,00 (11,00; 20,25)
	α (8,0–14,0 Гц)	39,70 (29,45; 48,55)	37,60 (25,60; 45,20)	29,20 (22,25; 37,00)
T <sub>6</sub>	θ (4,0–8,0 Гц)	10,90 (8,95; 12,90)	11,10 (8,30; 17,10)	21,00 (14,45; 23,85)*
	α (8,0–14,0 Гц)	35,25 (22,92; 50,65)	41,30 (27,50; 54,30)	30,20 (22,55; 31,45)
P <sub>3</sub>	θ (4,0–8,0 Гц)	8,65 (7,57; 12,00)	10,10 (7,90; 13,20)	23,40 (21,50; 27,00)*
	α (8,0–14,0 Гц)	55,90 (30,62; 67,15)	54,30 (41,40; 64,80)	29,00 (18,40; 35,95)*
P <sub>4</sub>	θ (4,0–8,0 Гц)	9,60 (8,12; 11,47)	10,80 (7,50; 13,70)	33,50 (23,85; 34,75)*
	α (8,0–14,0 Гц)	54,95 (42,15; 63,05)	49,30 (40,50; 68,10)	21,30 (18,35; 27,35)*
O <sub>1</sub>	θ (4,0–8,0 Гц)	7,45 (6,45; 10,72)	9,30 (7,00; 12,90)	16,10 (10,95; 18,80)*
	α (8,0–14,0 Гц)	57,30 (41,47; 66,77)	53,90 (40,50; 66,80)	30,10 (24,45; 45,85)
O <sub>2</sub>	θ (4,0–8,0 Гц)	9,15 (7,37; 11,22)	9,90 (6,70; 13,50)	19,30 (16,60; 22,75)*
	α (8,0–14,0 Гц)	48,45 (32,57; 63,42)	45,10 (38,70; 64,60)	31,80 (24,20; 38,55)*

Примечание: \* — достоверность отличий с контрольной группой ( $p < 0,05$ ) по методу Манна-Уитни. КГ — контрольная группа, ГЗ1 — группа закаливания первая экспериментальная, ГЗ2 — группа закаливания вторая экспериментальная.

его зональной градацией по индексу и мощности, модулированный в веретена. Можно предположить, что у большинства представителей контрольной группы наблюдали оптимальное функциональное состояние ЦНС при сбалансированном взаимодействии активирующих мезэнцефальных и синхронизирующих диэнцефальных мозговых структур. В двух экспериментальных группах курсантов чаще встречали II гиперсинхронный (моноритмичный) тип ЭЭГ, что свидетельствовало

о наличии некоторого напряжения адаптационных механизмов, дезорганизации ритмик и перераспределении лимбико-диэнцефальных, таламокортикальных и внутрикорковых взаимодействий в головном мозге испытуемых. Увеличение в наших экспериментальных выборках доли людей с моноритмичным типом ЭЭГ, а также присутствие III десинхронного (плоского) типа в ГЗ1 могло быть следствием незавершенного адаптационного процесса организма курсантов (как российских, так и

Таблица 2. Интегральные индексы ЭЭГ (альфа/тета), усредненные по всем отведениям. Медиана (квартили Q25%; Q75%)

Группы испытуемых	Полная мощность спектра (мкВ <sup>2</sup> )	Индекс ритма (%)
КГ	1,85 (1,41; 2,63)	2,71 (1,88; 3,23)
ГЗ1	2,41 (1,19; 3,14)	2,56 (1,38; 3,87)
ГЗ2	1,14 (1,05; 1,73) $p < 0,047$	1,13 (1,07; 1,55) $p < 0,001$

Примечание:  $p$  — степень достоверности отличий с контрольной группой по методу Манна-Уитни. КГ — контрольная группа, ГЗ1 — группа закаливания первая экспериментальная, ГЗ2 — группа закаливания вторая экспериментальная.

иностранцев) к регулярным холодным тренировкам в рамках специальной программы подготовки.

Исследователями было отмечено, что в процессе холодовой адаптации и при закаливании ведущую роль играет ЦНС, что отражается на картине биоритмов мозга [1]. В другой работе также указывают, что при длительном холодном воздействии (впрочем, как и при остром) у человека могут формироваться специфические паттерны ЭЭГ, рассматриваемые как адаптивные [7].

Ряд исследований демонстрируют высокую чувствительность показателей мощности спектра ЭЭГ в тета- и альфа-диапазоне к стресс-воздействиям на организм, которые по сути служат маркерами успешности приспособительных реакций к различным неблагоприятным факторам среды [18–20].

В нашей работе курсанты-иностранцы показали в правой гемисфере существенно более высокие значения полной мощности спектра в тета- и альфа-полосе по сравнению с контролем, что могло свидетельствовать о повышенной активации симпатического отдела вегетативной нервной системы. Известно, что правое полушарие модулирует симпатический тонус [7], а автономная нервная система интегрирует функции внутренних органов посредством активации вегетативных центров головного мозга [21]. В то же время повышение полной мощности тета-ритма отражает снижение тормозного контроля корковых центров на стволовые и подкорковые структуры [22], а взаимоотношение между вегетативной нервной системой и вышележащими нервными центрами играет ключевую роль в формировании адапционного ответа на холодное воздействие в процессе закаливания [23].

Важным показателем стресс-воздействия служат представленность (индекс) и фронтальная асимметрия альфа-ритма [24]. В нашем исследовании альфа-ритм имел выраженную асимметрию показателей полной мощности спектра и индекса ритма по правому полушарию во фронтальных и передневисочных отведениях в группе курсантов иностранцев (Г32). Считается, что проявления паттернов фронтальной асимметрии альфа-осцилляций при усилении биоэлектрической активности правого полушария связаны с реакциями системы избегания (avoidance system) и поведенческими стереотипами агрессивно-оборонительного характера, тогда как альфа-активация левой гемисферы отражает работу системы приближения (approach system) и ориентировочно-исследовательское поведение [25].

Встречаются исследовательские и теоретические работы, в которых в качестве биомаркеров стресса рассматривают не сами характеристики спектра ЭЭГ, а их взаимосвязь, определяемую как индексы ритмов [26, 27]. Взаимодействие основных спектральных составляющих биоэлектрической активности мозга может служить маркером эффективности механизмов гомеостатической и адаптивной регуляции [28, 29]. Один из таких индексов, характеризующих

адаптационные процессы и дезадаптационные расстройства, представляет собой соотношение спектральных показателей альфа/тета-осцилляций.

В наших группах испытуемых по индексу альфа/тета функциональное « $\alpha$ -ядро» было сформировано в выборках гражданских студентов и курсантов-россиян, тогда как курсанты-иностранцы имели признаки разрушения альфа-ядра другими составляющими спектра ЭЭГ, в частности, тета-диапазона. Такая картина могла свидетельствовать о дестабилизации нейродинамических процессов в ЦНС с нарушением «церебрального гомеостаза» и незавершенностью адапционных настроек организма курсантов-иностранцев под влиянием программы подготовки к экстремальным холодным факторам. При субдоминировании альфа- и тета-составляющих в Г32 сформировалась двухъядерная альфа-тета-структура биоритмов мозга, характерная для дезадаптационных процессов с возможными дальнейшими сценариями: переходу к адаптированному и устойчивому к холоду (закаленному) состоянию и формированию на ЭЭГ « $\alpha$ -ядра», либо переходу от начальных стадий нарушения адаптивных процессов к формированию устойчивого патологического состояния [30].

## ВЫВОДЫ

По совокупности спектральных характеристик ЭЭГ в альфа- и тета-диапазонах, а также их взаимодействию при формировании « $\alpha$ -ядра» фоновой биоэлектрической активности мозга можно предположить, что специальная программа поэтапного воздействия дозированных температурных нагрузок для курсантов военного вуза у молодых людей-россиян дала необходимый эффект закаливания, что отразилось на стабильности церебрального гомеостаза при некоторой степени неустойчивости нейродинамических процессов в ЦНС. У курсантов-иностранцев систематические холодные тренировки привели к выраженной дезинтеграции корково-подкорковых и внутрикортикальных взаимоотношений, а также формированию двухъядерной альфа-тета-структуры фоновой ЭЭГ, что указывало на незавершенность адапционных процессов и высокую стрессорную нагрузку на организм. Опираясь на полученные результаты, мы подготовили ряд рекомендаций. Во-первых, группе иностранных курсантов начальный уровень развития холодовой устойчивости целесообразно продлевать с 3 недель до 3–6 месяцев с целью более мягкой адаптации к дозированным (увеличить период акклимации) кратковременным холодным нагрузкам. Во-вторых, полученные результаты в дальнейших исследованиях важно соотнести с данными ЭЭГ иностранных курсантов, которые не занимаются закаливанием и находятся в той же ситуации приспособления организма (акклиматизации) к климатогеографическим условиям Западной Сибири.

## Литература

1. Горбунов М. М., Коршунова Н. В., Юречко О. В. Основные физиологические механизмы и адаптивные реакции при закаливании организма в условиях холодного климата. Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2020; 77: 107–116. DOI: 10.36604/1998-5029-2020-77-107-116.
2. Геда С. М., Торшин В. И., Северин А. Е., Мансур Н. Эффекты

локального охлаждения кисти руки у уроженцев жарких климатических регионов на терморегуляцию и параметры ритмограммы. Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина. 2014; 2: 5–11.

3. Соколова Ю. А. Формирование социокультурной адаптации иностранных студентов в рамках практико-ориентированного

- проекта «Мы в России». Вестник Томского государственного педагогического университета. 2019; 204 (7): 130–9.
4. Гуляев С. А. Исследование зрительного гнозиса с помощью анализа ЭЭГ-микросостояний. Медицина экстремальных ситуаций. 2022; 24 (3): 19–26. DOI: 10.47183/mes.2022.024.
  5. Гуляев С. А., Ханухова Л. М., Гармаш А. А. Нейрофизиологический метод исследования изменения активности сети пассивной работы головного мозга. Медицина экстремальных ситуаций. 2023; 25 (2): 69–76. DOI: 10.47183/mes.2023.009.
  6. Гуляев С. А., Ханухова Л. М., Гармаш А. А. Особенности биоэлектрической активности ретроспленальной коры головного мозга. Медицина экстремальных ситуаций. 2023; 3: 129–36. DOI: 10.47183/mes.2023.028.
  7. Кривоногова Е. В., Демин Д. Б., Кривоногова О. В., Поскотинова Л. В. Варианты изменения показателей сердечно-сосудистой системы и биоэлектрической активности головного мозга в ответ на холод у молодых людей. Экология человека. 2020; 11: 20–6. DOI: 10.33396/1728-0869-2020-11-20-26.
  8. Сороко С. И., Бекшаев С. С., Рожков В. П. ЭЭГ корреляты генотипических особенностей возрастного развития мозга у детей аборигенного и пришлого населения северо-востока России. Российский физиологический журнал И. М. Сеченова. 2012; 98 (1): 3–26.
  9. Грибанов А. В., Джос Ю. С., Рысина Н. Н. Изменения параметров биоэлектрической активности головного мозга у школьников-северян 16–17 лет в различных условиях естественной освещенности. Экология человека. 2013; 6: 42–8.
  10. Rho G, Callara AL, Bernardi G, Scilingo EP, Greco A. EEG cortical activity and connectivity correlates of early sympathetic response during cold pressor test. Scientific Reports. 2023; 13 (1): 1338. DOI: 10.1038/s41598-023-27480-z.
  11. Tiago-Costa E, Quelhas-Costa E, Santos-Baptista J. Changes in EEG amplitude (Alpha and Beta waves) with Thermal environment. Dyna (Medellin, Colombia). 2016; 83 (197): 87–93. DOI: 10.15446/dyna.v83n197.57590.
  12. Tayeb Z, Dragomir A, Lee JH, Abbasi NI, Dean E, Bandla A, et al. Distinct spatio-temporal and spectral brain patterns for different thermal stimuli perception. Scientific Reports. 2022; 12 (1): 919.
  13. Дейков И. А., Володин В. Н. Значение развития холодовой устойчивости для курсантов инженерного вуза. В сборнике: Стратегия формирования здорового образа жизни населения: экосистемный подход. Материалы XXI Международной научно-практической конференции, посвященной памяти д. п. н., профессора В. Н. Зуева; 9–10 ноября 2023 г.; Тюмень, 2023: 543–6.
  14. Фишер Т. А., Бобрешова С. С., Яковлев Д. С., Володин В. Н., Сабиров А. Н., авторы. Способ повышения индивидуальных адаптационных возможностей организма в развитии холодовой устойчивости. Патент РФ №2801957. 21.08.2023.
  15. Жирмунская Е. А., Лосев В. С. Системы описания и классификация электроэнцефалограмм человека. М.: Наука, 1984; 79 с.
  16. Демин Д. Б. Мозговая активность у подростков с различным уровнем риска интернет-зависимости. Экология человека. 2021; 6: 21–7. DOI: 10.33396/1728-0869-2021-6-21-27.
  17. Толстогузов С. Н., Фишер Т. А. Особенности биоэлектрической активности головного мозга студентов-мужчин 18–22 лет с интернет-зависимостью. Экология человека. 2023; 30 (8): 601–10. DOI: 10.17816/humeco568123.
  18. Муртазина Е. П., Гинзбург-Шик Ю. А. Спектральные характеристики тета- и альфа-ритмов ЭЭГ в покое у групп испытуемых с различной результативностью совместной деятельности в диадах. Журнал высшей нервной деятельности имени И. П. Павлова. 2023; 73 (1): 24–37. DOI: 10.31857/S0044467723010112.
  19. Al-Ezzi A, Kamel N, Faye I, Gunasel E. Review of EEG, ERP, and Brain Connectivity Estimators as Predictive Biomarkers of Social Anxiety Disorder. Frontiers in Psychology. 2020; 11: 730. DOI: 10.3389/fpsyg.2020.00730.
  20. Palacios-García I, Silva J, Villena-González M, Campos-Arteaga G, Artigas-Vergara C, Luarte N, et al. Increase in Beta Power Reflects Attentional Top-Down Modulation After Psychosocial Stress Induction. Frontiers in Human Neuroscience. 2021; 15: 630813. DOI: 10.3389/fnhum.2021.630813.
  21. Демин Д. Б. Значимость уровня гипотермии в нейрофизиологических реакциях организма человека на экспериментальное общее охлаждение. Авиакосмическая и экологическая медицина. 2020; 54 (5): 57–64. DOI: 10.21687/0233-528X-2020-54-5-57-64.
  22. Guo CC, Sturm VE, Zhou J, Gennatas ED, Trujillo AJ, Hua AY, et al. Dominant hemisphere lateralization of cortical parasympathetic control as revealed by frontotemporal dementia. Proceedings of the National Academy of Sciences USA. 2016; 113 (17): E2430–9. DOI: 10.1073/pnas.1509184113.
  23. Кривоногова Е. В., Кривоногова О. В., Поскотинова Л. В. Изменение ЭЭГ-ритмов и вариабельности ритма сердца в ответ на холод в зависимости от параметров произвольного внимания у молодых людей. Экспериментальная психология. 2022; 15 (1): 56–71. DOI: 10.17759/exppsy.2022150104.
  24. Palmiero M, Piccardi L. Frontal EEG Asymmetry of Mood: A Mini-Review. Frontiers in Behavioral Neuroscience. 2017; 11: 1–8. DOI: 10.3389/fnbeh.2017.00224.
  25. Smith EE, Reznik SJ, Stewart JL, Allen JJB. Assessing and conceptualizing frontal EEG asymmetry: An updated primer on recording, processing, analyzing, and interpreting frontal alpha asymmetry. International Journal of Psychophysiology. 2017; 111: 98–114. DOI: 10.1016/j.ijpsycho.2016.11.005.
  26. Пашков А. А., Дахтин И. С., Харисова Н. С. Электроэнцефалографические биомаркеры экспериментально индуцированного стресса. Вестник ЮУрГУ. Серия «Психология». 2017; 10 (4): 68–82. DOI: 10.14529/psy170407.
  27. Putman P, Verkuil B, Arias-Garcia E, Pantazi I, van Schie C. EEG theta/beta ratio as a potential biomarker for attentional control and resilience against deleterious effects of stress on attention. Cognitive, Affective and Behavioral Neuroscience. 2014; 14: 782–91. DOI: 10.3758/s13415-013-0238-7.
  28. Святогор И. А., Моховикова И. А., Бекшаев С. С., Ноздрачев А. Д. Оценка нейрофизиологических механизмов дезадаптационных расстройств по паттернам ЭЭГ. Журнал высшей нервной деятельности имени И. П. Павлова. 2005; 55 (2): 178–88.
  29. Сороко С. И., Бекшаев С. С., Сидоров Ю. А. Основные типы механизмов саморегуляции мозга. Л.: Наука, 1990; 152 с.
  30. Бехтерева Н. П. Здоровый и больной мозг человека. Л.: Наука, 1980; 262 с.

## References

1. Gorbunov MM, Korshunova NV, Yurechko OV. Basic physiological mechanisms and adaptation reactions in the cold training of the organism in cold climate areas. Bulletin Physiology and Pathology of Respiration. 2020; 77: 107–16. DOI: 10.36604/1998-5029-2020-77-107-116. Russian.
2. Geda SM, Torshin VI, Severin AE, Mansur N. Effect of local hand cooling on thermoregulation and rhythm of cardiogram of students from hot climate. RUDN Journal of Medicine. 2014; 2: 5–11. Russian.
3. Sokolova YuA. Formation of socio-cultural adaptation of foreign students within the framework of the practice-oriented project "We are in Russia". Tomsk State Pedagogical University Bulletin. 2019; 204 (7): 130–9. Russian.
4. Gulyaev SA. Studying visual gnosis through eeg microstate analysis. Extreme Medicine. 2022; 24 (3): 19–26. DOI: 10.47183/mes.2022.024. Russian.
5. Gulyaev SA, Khanukhova LM, Garmash AA. Neurophysiological method for studying changes in the brain's default mode network activity. Extreme Medicine. 2023; 25 (2): 69–76. DOI: 10.47183/mes.2023.009. Russian.
6. Gulyaev SA, Khanukhova LM, Garmash AA. Features of bioelectric activity of the retrosplenial cortex. Extreme Medicine.



- 2023; 3: 129–36. DOI: 10.47183/mes.2023.028. Russian.
7. Krivonogova EV, Demin DB, Krivonogova OV, Poskotinova LV. Changes in cardiovascular indices and bioelectric activity of the brain in response to cold exposure in young men. *Human Ecology*. 2020; 11: 20–6. DOI: 10.33396/1728-0869-2020-11-20-26. Russian.
  8. Soroko SI, Bekshaev SS, Rozhkov VP. EEG correlates of genophenotypical features of the brain development in children of the native and newcomers' population of the Russian North-East. *Ross Fiziol Zhurnal Im IM Sechenova*. 2012; 98 (1): 3–26. Russian.
  9. Gribanov AV, Dzhos YuS, Rysina NN. Changes of settings of brain bioelectrical activity in northern schoolchildren aged 16–17 in different ambient light conditions. *Human Ecology*. 2013; 6: 42–8. Russian.
  10. Rho G, Callara AL, Bernardi G, Scilingo EP, Greco A. EEG cortical activity and connectivity correlates of early sympathetic response during cold pressor test. *Scientific Reports*. 2023; 13 (1): 1338. DOI: 10.1038/s41598-023-27480-z.
  11. Tiago-Costa E, Quelhas-Costa E, Santos-Baptista J. Changes in EEG amplitude (Alpha and Beta waves) with Thermal environment. *Dyna (Medellin, Colombia)*. 2016; 83 (197): 87–93. DOI: 10.15446/dyna.v83n197.57590.
  12. Tayeb Z, Dragomir A, Lee JH, Abbasi NI, Dean E, Bandla A, et al. Distinct spatio-temporal and spectral brain patterns for different thermal stimuli perception. *Scientific Reports*. 2022; 12 (1): 919.
  13. Deikov IA, Volodin VN. The importance of developing cold resistance for cadets Engineering University. In: *Strategiya formirovaniya zdorovogo obraza zhizni naseleniya: ekosistemnyy podkhod. Materialy XXI Mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii, posvyashchennoy pamyati d. p. n., professora VN Zueva*; 2023 Nov 9–10; Tyumen, 2023: 543–6. Russian.
  14. Fisher TA, Bobreshova SS, Yakovlev DS, Volodin VN, Sabirov AN, inventors. Method to increase the individual adaptive capabilities of the body in the development of cold resistance. Patent RF №2801957. 21.08.2023. Russian.
  15. Zhirmunskaya EA, Losev VS. *Sistemy opisaniya i klassifikatsiya elektroentsefogramm cheloveka*. M.: Nauka, 1984; p. 79. Russian.
  16. Demin DB. Brain activity in adolescents with different internet addiction risks. *Human Ecology*. 2021; 6: 21–7. DOI: 10.33396/1728-0869-2021-6-21-27. Russian.
  17. Tolstoguzov SS, Fisher TA. Features of bioelectric brain activity of 18–22 years old male students with internet addiction. *Human Ecology*. 2023; 30 (8): 601–10. DOI: 10.17816/humeco568123. Russian.
  18. Murtazina EP, Ginzburg-Shic YuA. Theta and alpha bands spectral power of resting-state EEG in groups with different efficiency of joint activity in diads. *Zhurnal vysshey nervnoy deyatel'nosti imeni IP Pavlova*. 2023; 73 (1): 24–37. DOI: 10.31857/S0044467723010112. Russian.
  19. Al-Ezzi A, Kamel N, Faye I, Gunaseli E. Review of EEG, ERP, and Brain Connectivity Estimators as Predictive Biomarkers of Social Anxiety Disorder. *Frontiers in Psychology*. 2020; 11: 730. DOI: 10.3389/fpsyg.2020.00730.
  20. Palacios-García I, Silva J, Villena-González M, Campos-Arteaga G, Artigas-Vergara C, Luarte N, et al. Increase in Beta Power Reflects Attentional Top-Down Modulation After Psychosocial Stress Induction. *Frontiers in Human Neuroscience*. 2021; 15: 630813. DOI: 10.3389/fnhum.2021.630813.
  21. Demin DB. Znachimost' urovnya gipotermii v neyrofiziologicheskikh reaktsiyakh organizma cheloveka na eksperimental'noe obshchee okhlazhdenie. *Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina*. 2020; 54 (5): 57–64. DOI: 10.21687/0233-528X-2020-54-5-57-64. Russian.
  22. Guo CC, Sturm VE, Zhou J, Gennatas ED, Trujillo AJ, Hua AY, et al. Dominant hemisphere lateralization of cortical parasympathetic control as revealed by frontotemporal dementia. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. 2016; 113 (17): E2430–9. DOI: 10.1073/pnas.1509184113.
  23. Krivonogova EV, Krivonogova OV, Poskotinova LV. Changes in EEG Rhythms and Heart Rate Variability in Response to Cold, Depending on the Parameters of Voluntary Attention in Young People. *Experimental Psychology*. 2022; 15 (1): 56–71. DOI: 10.17759/exppsy.2022150104. Russian.
  24. Palmiero M, Piccardi L. Frontal EEG Asymmetry of Mood: A Mini-Review. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*. 2017; 11: 1–8. DOI: 10.3389/fnbeh.2017.00224.
  25. Smith EE, Reznik SJ, Stewart JL, Allen JJB. Assessing and conceptualizing frontal EEG asymmetry: An updated primer on recording, processing, analyzing, and interpreting frontal alpha asymmetry. *International Journal of Psychophysiology*. 2017; 111: 98–114. DOI: 10.1016/j.ijpsycho.2016.11.005.
  26. Pashkov AA, Dakhtin IS, Kharisova NS. Electroen-cephalographic Biomarkers of Experimentally Induced Stress. *Bulletin of the South Ural State University. Ser. Psychology*. 2017; 10 (4): 68–82. DOI: 10.14529/psy170407. Russian.
  27. Putman P, Verkuil B, Arias-Garcia E, Pantazi I, van Schie C. EEG theta/beta ratio as a potential biomarker for attentional control and resilience against deleterious effects of stress on attention. *Cognitive, Affective and Behavioral Neuroscience*. 2014; 14: 782–91. DOI: 10.3758/s13415-013-0238-7.
  28. Svyatogor IA, Mokhovikova IA, Bekshayev SS, Nozdrachev AD. EEG pattern as an instrument for evaluation of neurophysiological mechanisms underlying adaptation disorders. *Zhurnal vysshey nervnoy deyatel'nosti imeni IP Pavlova*. 2005; 55 (2): 178–88. Russian.
  29. Soroko SI, Bekshaev SS, Sidorov YuA. *Osnovnye tipy mekhanizmov samoregulyatsii mozga*. L.: Nauka, 1990; p. 152. Russian.
  30. Bekhtereva NP. *Zdorovyy i bol'noy mozg cheloveka*. L.: Nauka, 1980; p. 262. Russian.

## ВЗАИМОСВЯЗЬ УРОВНЕЙ ГИСТАМИНА, ДИАМИНОКСИДАЗЫ И СУБСТАНЦИИ P В СЫВОРОТКЕ КРОВИ У ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКОЙ КРАПИВНИЦЕЙ

Н. В. Микрюкова<sup>1</sup>✉, Н. М. Калинина<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А. М. Никифорова МЧС России, г. Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup> Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова Минздрава России, г. Санкт-Петербург, Россия

Возникновение и прогрессирование различных заболеваний, в том числе хронической крапивницы, связаны со стрессом. Ось кишечник-мозг-кожа используется для объяснения корреляций между состоянием нервной системы, желудочно-кишечного тракта, а также системным и местным воспалением в коже. В контексте оси кишечник-мозг-кожа мы обобщили воспалительные и иммунные механизмы хронической крапивницы и стресса. Целью нашего исследования было показать взаимосвязь между нейротрансмиттером субстанцией P и диаминоксидазой, ферментом, разрушающим гистамин в кишечнике у пациентов, страдающих хронической крапивницей. В исследование было включено 165 взрослых людей от 18 до 68 лет, 97 пациентов страдали хронической крапивницей, группу сравнения составили 68 условно здоровых лиц. Методом ИФА (Cloud-Clone Corp; Китай) одновременно оценивали уровни субстанции P, диаминоксидазы и гистамина в сыворотке крови. Была выявлена прямая заметная корреляционная связь ( $p = 0,5$ ;  $p < 0,05$ ) между субстанцией P и диаминоксидазой у пациентов, страдающих хронической крапивницей, и в группе сравнения, что подтвердило наличие оси кишечник-мозг-кожа. В статье представлены теоретическая основа и новые цели для лечения хронической крапивницы. Обсуждена возможность предотвратить и лечить эти патологические состояния путем модуляции микробиоты кишечника, определены место диеты и изменения образа жизни, способствующие улучшению состояния здоровья в целом.

**Ключевые слова:** субстанция P, диаминоксидаза, гистамин, хроническая крапивница, стресс, ось кишечник-мозг-кожа

**Финансирование:** исследование выполнено при финансовой поддержке «ВЦЭРМ им. А. М. Никифорова» МЧС России в рамках НИР «Клинико-лабораторная диагностика хронической крапивницы у взрослых».

**Вклад авторов:** авторы декларируют соответствие своего авторства международным критериям ICMJE. Н. В. Микрюкова — сбор, анализ данных, написание текста; Н. М. Калинина — редактирование, внесение принципиальных изменений, окончательное утверждение версии статьи.

**Соблюдение этических стандартов:** от испытуемых было получено информированное согласие на участие в исследовании, которое было одобрено Комитетом по этике ФГБУ ВЦЭРМ имени А. М. Никифорова МЧС России (протокол №6/21 от 24 июня 2021 г.).

✉ **Для корреспонденции:** Наталья Васильевна Микрюкова  
ул. Оптиков, д. 54, г. Санкт-Петербург, 197345, Россия; natalya@mikryukov.info

**Статья получена:** 02.12.2023 **Статья принята к печати:** 16.02.2024 **Опубликована онлайн:** 14.03.2024

**DOI:** 10.47183/mes.2024.004

## CORRELATIONS BETWEEN SERUM LEVELS OF HISTAMINE, DIAMINE OXIDASE, SUBSTANCE P IN PATIENTS WITH CHRONIC URTICARIA

Mikryukova NV<sup>1</sup>✉, Kalinina NM<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Nikiforov's All-Russian Center for Emergency and Radiation Medicine, EMERCOM of Russia, Saint Petersburg, Russia

<sup>2</sup> Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, Saint Petersburg, Russia

The onset and progression of various disorders, including chronic urticaria, are associated with stress. The gut-brain-skin axis is used to describe correlations among the nervous system, gastrointestinal tract states and systemic and skin inflammation. We have summarized inflammatory and immune mechanisms underlying chronic urticaria and stress in the context of the gut-brain-skin axis. The study was aimed to show the relationships between substance P, the neurotransmitter, and diamine oxidase, the enzyme disrupting histamine in the gut of patients suffering from chronic urticaria. A total of 165 adults aged 18–68 were enrolled; 97 patients had chronic urticaria, the comparison group was formed of 68 nominally healthy individuals. ELISA (Cloud-Clone Corp; China) was used to simultaneously estimate serum levels of substance P, diamine oxidase, and histamine. We revealed a significant positive correlation ( $p = 0.5$ ;  $p < 0.05$ ) between substance P and diamine oxidase in patients with chronic urticaria and in the comparison group, which confirmed the existence of the gut-brain-skin axis. The paper provides theoretical background and new targets for treatment of chronic urticaria. The possibility of prevention and treatment of these disorders by modulation of gut microbiota is discussed, the place of diet and the lifestyle modification contributing to improvement of general health are determined.

**Keywords:** substance P, diamine oxidase, histamine, chronic urticaria, stress, gut-brain-skin axis

**Funding:** the study was supported by the Nikiforov's All-Russian Center for Emergency and Radiation Medicine, EMERCOM of Russia, within the framework of the research project "Clinical and laboratory diagnosis of chronic urticaria in adults".

**Author contribution:** the authors declare compliance of their authorship with the international ICMJE criteria. Mikryukova NV — data acquisition and analysis, manuscript writing; Kalinina NM — editing, introduction of fundamental changes, final approval of the version of the article.

**Compliance with ethical standards:** the subjects submitted the informed consent to participation in the study approved by the Ethics Committee of the Nikiforov's All-Russian Center for Emergency and Radiation Medicine, EMERCOM of Russia (protocol № 6/21 dated 24 June 2021).

✉ **Correspondence should be addressed:** Natalya V. Mikryukova  
Optikov, 54, Saint Petersburg, 197345, Russia; natalya@mikryukov.info

**Received:** 02.12.2023 **Accepted:** 16.02.2024 **Published online:** 14.03.2024

**DOI:** 10.47183/mes.2024.004

Быстрый темп жизни в современном обществе, последние события, начиная с пандемии новой коронавирусной инфекции, вызывают серьезную тревогу и стресс. Это приводит к множеству адаптивных физиологических изменений сердечно-сосудистой, эндокринной, нервной

систем, что существенно нарушает аллостаз в организме человека. Суть аллостаза заключается в том, что физиологические системы всегда колеблются, чтобы адаптироваться к окружающей среде [1]. В зависимости от продолжительности и интенсивности физической и

психологический стресс может быть острым или хроническим. Острый стресс связан с внезапным, кратковременным, единичным, неповторяющимся состоянием, таким как дорожно-транспортное происшествие, хирургическое вмешательство [2]. Хронический стресс — результат длительного и часто повторяющегося воздействия психогенных или физиологических стрессоров. Это вызывает эндокринные и поведенческие реакции, которые регулируются различными нейробиологическими системами. Известна тесная связь между стрессовыми жизненными событиями и заболеваниями сердечно-сосудистой, эндокринной, нервной, дыхательной систем, онкологическими заболеваниями, патологией желудочно-кишечного тракта и кожи [3].

Для обозначения двусторонней связи между нервной и другими системами, например, желудочно-кишечным трактом, кожей, был принят термин «ось». Наиболее изучена ось кишечник-мозг. Концепция оси кишечник-мозг включает не только классические пути вегетативной нервной системы, симпатические и парасимпатические, но также эндокринные взаимодействия (ось гипоталамус-гипофиз-надпочечники), связи внутри мозга, существующие между когнитивными и эмоциональными функциями [4]. В коммуникацию вовлекаются энтеральная нервная система, метаболические пути [5]. Тучные клетки — важные эффекторные клетки оси кишечник-мозг. Под влиянием стресса они высвобождают широкий спектр нейротрансмиттеров и провоспалительных цитокинов, которые могут влиять на физиологию желудочно-кишечного тракта [6]. Активация блуждающего нерва цитокинами стимулирует противовоспалительные реакции нейронов, так как ацетилхолин, основной нейротрансмиттер блуждающего нерва, ослабляет высвобождение таких цитокинов, как фактор некроза опухоли-альфа (TNF $\alpha$ ), интерлейкин 1 $\beta$  (IL1 $\beta$ ), IL6 и IL18. Иммуные клетки вырабатывают различные нейротрансмиттеры, воздействуя на серотонинергические системы, регулируют настроение и поведение. Лейкоциты, например, синтезируют и высвобождают кортикотропин и эндорфины в ответ на бактериальные липополисахариды [4]. Стресс и печаль модулируют голод и пищевые предпочтения. Калорийная пища может улучшить самочувствие. Еда также служит важным фактором влияния на кишечный микробиом [7].

Микробиом играет важную роль в здоровье человека, гомеостазе, иммунной системе и патогенезе заболеваний [7]. Нарушение связи между микробиомом и организмом хозяина активно изучали при заболеваниях желудочно-кишечного тракта. Исследователями было показано, что хронический стресс активирует каспазу-1, влияя на состав микробиома кишечника, что приводит к снижению относительной численности *Akkermansia spp.* и *Blautia spp.* и увеличению соотношения *Firmicutes/Bacteroidetes* [8], *Escherichia coli* и *Bacteroides fragilis* [9]. Рецептор IL1 типа I и его лиганды экспрессируются в областях мозга, отвечающих за реакцию на стресс и передачу сигналов IL1 $\beta$ , что имеет основополагающее значение в опосредовании нейроповеденческих и нейроэндокринных реакций на стресс и адаптацию. Различные стрессоры активируют воспаление через рецепторы NLRP3 (NOD-, LRR- and pyrin domain-containing protein 3) или P2X7 (Purinergic ligand-gated ion channel 7 receptor), что приводит к созреванию каспазы-1, которая вызывает высвобождение IL1 $\beta$  и IL18. мРНК каспазы-1 и NLRP3 повышены в клетках крови пациентов с депрессией [8]. Наиболее изученными психическими расстройствами, связанными

с осью кишечник-мозг, являются депрессия и тревога. Было доказано, что подавление предшественника триптофана ассоциировано с микробиомом кишечника. Учитывая выявленное противомикробное и противовоспалительное действие антидепрессантов, приводящее к восстановлению микробиоты кишечника, было предложено лечить депрессивные и тревожные состояния, манипулируя микробиомом и осью кишечник-мозг [4]. В недавней работе была оценена взаимосвязь между выраженностью нарушений в микробиоме кишечника и тяжестью когнитивных нарушений при расстройстве аутистического спектра у детей [10]. В другом исследовании показано, что изменение состава кишечной микробиоты может способствовать развитию нейродегенеративного процесса [11].

Диета играет важную роль в определении состава микробиоты кишечника. Продуцируемые ею метаболиты не только модулируют иммунный ответ слизистой, но и воздействуют на легкие и мозг. Микроаспирация бактерий или перемещение сенсibilизированных иммунных клеток через лимфу и кровь также могут влиять на иммунный ответ других органов. Дисбиоз кишечника связан с рядом заболеваний легких, включая астму и муковисцидоз. Двухнаправленные связи между кишечником и легкими (ось кишечник-легкие) иллюстрируются кишечными нарушениями, наблюдаемыми при заболеваниях легких. Как было показано в исследовании, иммунные клетки слизистых оболочек могут мигрировать через лимфатическую систему, что определяет иммунный ответ в различных органах (желудочно-кишечный тракт, легкие и др.). Т- и В-клетки из Пейеровых бляшек могут перемещаться в кровотоки и мигрировать как в кишечник, так и во внекишечные участки (включая бронхиальный эпителий и лимфоидные ткани) [12]. Было показано, что иммунные клетки (Т- и В-клетки, секретирующие sIgA, обеспечивающие иммунитет слизистой), которые находятся в собственной пластинке кишечника и брыжеечных лимфатических узлах, нейтрализуют большинство транслоцирующих бактерий, однако фрагменты погибших бактерий перемещаются из брыжеечной лимфатической системы в системный кровоток. Эти бактериальные фрагменты и метаболиты могут модулировать иммунный ответ в легких [13]. Возможно, подобный патофизиологический механизм существует и по отношению к другим системам организма человека.

Появляются новые исследования микробиома кожи и его связи с кишечником [14]. Существуют работы, описывающие ось кишечник-мозг-кожа [15]. Так, были описаны взаимосвязи микробиоты кишечника, эмоциональных состояний и системного и местного воспаления в коже. Дисбиоз кишечника способствовал Th17-опосредованному воспалению кожи через сигнальный путь IL23, IL17, увеличивая продукцию IL22 и интерферона гамма (IFN $\gamma$ ), что приводило к гиперпролиферации кератиноцитов [16]. Реакции кожи, вызванные стрессом, в первую очередь, включают секрецию цитокинов (например, IL6, IL1, IFN $\gamma$ ) и активацию периферического кортикотропин-рилизинг-гормона кожи, продуцируемого себоцитами, кератиноцитами и тучными клетками [17]. Нервная, эндокринная и иммунная системы имеют много общих медиаторов (например, нейротрансмиттеров, нейропептидов, гормонов, цитокинов), которые во время стресса могут модулировать активность иммунной системы [18, 19]. Периферические нервы в коже, высвобождая

**Таблица.** Корреляционные взаимосвязи у пациентов, включенных в исследование по хронической крапивнице, между показателями Гистамин — Диаминоксидаза, Субстанция Р — Диаминоксидаза

Показатель	Гистамин — Диаминоксидаза	Субстанция Р — Диаминоксидаза
Корреляционные взаимосвязи в группе сравнения (n = 68)	-0,4	0,5
Корреляционные взаимосвязи в группе пациентов с хронической крапивницей (n = 97)	-0,4	0,5
Корреляционные взаимосвязи у всех людей, включенных в исследование (n = 165)	-0,4	0,5

**Примечание:**  $\rho$  — степень корреляции.

нейропептиды (субстанцию Р (SP), нейротрофический фактор головного мозга и фактор роста нервов), опосредуют нейрогенное воспаление. Таким образом, SP представляет собой провоспалительный нейропептид, связанный со стрессом. Биологическое действие SP в основном опосредовано рецепторами нейрокина (NK)-1. Путь рецептора SP/NK-1 может активироваться в ответ на стрессовую стимуляцию как периферической, так и центральной нервной системы. В исследовании было показано, что преимущественно NK-1 экспрессируется на тучных клетках, что указывает на важную роль активации NK-1-рецептора в дегрануляции тучных клеток, вызванной стрессом [20]. Другие исследователи показали, что SP может участвовать в опосредованной кортикотропин-рилизинг-гормоном дегрануляции тучных клеток во время стресса [21]. Было также показано, что SP может повышать вирулентность микробиома кожи за счет изменения цитоскелета бактерий, что может быть еще одним механизмом, способствующим его роли в нейрогенном воспалении [22]. При депрессии наблюдали высокие уровни SP, что позволяет предположить, что патогенез депрессии связан с SP/NK-1 [20].

Высокий уровень интереса к проблеме свидетельствует о ее актуальности, поэтому целью данной работы было показать взаимосвязь между нейротрансмисмитером SP и диаминоксидазой, ферментом, разрушающим гистамин в кишечнике у пациентов, страдающих хронической крапивницей.

## ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

В нашем исследовании были изучены субстанция Р, диаминоксидаза и гистамин у пациентов, страдающих хронической крапивницей. Методом иммуноферментного анализа (Cloud-Clone Corp; Китай) одновременно оценивали все три показателя в сыворотке крови пациентов с хронической крапивницей и в группе сравнения. В исследование было включено 165 взрослых людей 18–68 лет. Из них 97 пациентов с хронической крапивницей находились на амбулаторном лечении в ФГБУ ВЦЭРМ имени А. М. Никитина МЧС России с 2018 по 2023 г. Критерии включения: наличие рецидивирующего течения крапивницы и/или ангиоотечков на протяжении 6-ти и более недель. Диагноз хронической крапивницы был установлен в соответствии с Федеральными клиническими рекомендациями по диагностике и лечению крапивницы [23]. Группу сравнения составили 68 условно здоровых лиц, сопоставимых по полу и возрасту с основной группой, без проявлений крапивницы и аллергических заболеваний.

У каждого участника исследования был собран анамнез заболевания и жизни, большое внимание уделяли триггерам хронической крапивницы, имеющейся

сопутствующей патологии. Триггером у 46 из 97 пациентов, страдающих хронической крапивницей, была пищевая непереносимость, 27 пациентов описывали стресс в качестве триггера данного заболевания.

Для статистической обработки данных была использована программа R для Windows, были оценены взаимосвязи исследуемых субстанции Р, диаминоксидазы и гистамина с помощью коэффициента ранговой корреляции Спирмена. Для более точной оценки силы корреляционной связи была применена шкала Чеддока. Статистически значимыми различия сравниваемых показателей считали при  $p$ -value < 0,05.

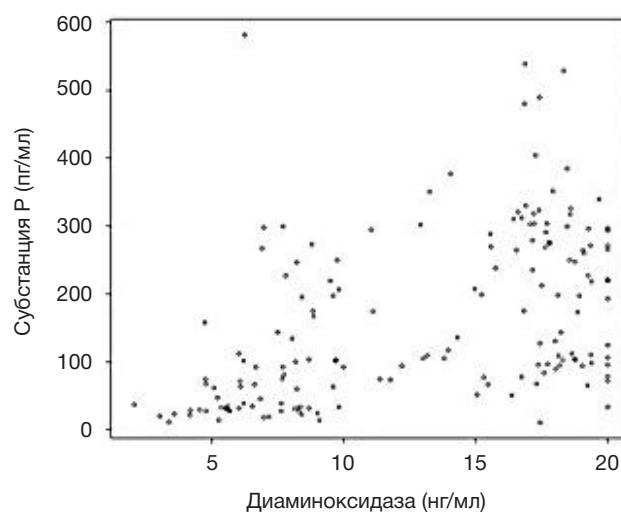
## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Были оценены взаимосвязи исследуемых субстанции Р, диаминоксидазы и гистамина с помощью коэффициента ранговой корреляции Спирмена. Статистически значимыми ( $p$  < 0,05) оказались взаимосвязи диаминоксидазы с гистамином и диаминоксидазы и субстанции Р (таблица).

При проведении корреляционного анализа была получена умеренная обратная взаимосвязь между гистамином и диаминоксидазой, ферментом, деградирующим гистамин. Обращает внимание прямая заметная корреляционная связь между субстанцией Р и диаминоксидазой (рисунок).

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Нейропептид субстанция Р может образовывать практически прямую связь между кожей и мозгом. На фермент диаминоксидазу, синтезируемый апикальными клетками кишечника, могут воздействовать различные



**Рис.** Диаграмма рассеяния, отражающая зависимость субстанции Р и диаминоксидазы



механизмы — от генетического подавления активности до влияния микробиома [24]. В последнее время диаминооксидазу предлагают в качестве маркера целостности слизистой оболочки [25].

В литературе была найдена лишь одна работа, включающая одновременное исследование субстанции P и диаминооксидазы [26]. В 2023 г. были опубликованы результаты экспериментального исследования на крысиной модели, авторы которого изучали синдром раздраженного кишечника (СРК), вызванный хроническим стрессом. Была отмечена высокая экспрессия SP и диаминооксидазы при СРК. В последние годы считают, что СРК индуцируется комбинацией факторов, включая изменения висцеральной чувствительности, нарушение желудочно-кишечной функции и оси кишечник-мозг, в том числе изменение микробиома [27]. Диаминооксидаза как фермент, продуцируемый в ворсинках слизистой оболочки кишечника, отражает повреждение и репарацию эпителия, который выделяется в кровь или в полость кишечника после повреждения и некроза слизистой оболочки кишечника. Уровень диаминооксидазы в сыворотке крови в норме очень низкий, но при росте воспалительного процесса он повышается, поскольку происходит высвобождение фермента в кровь в больших количествах. В нашем исследовании была отмечена тенденция к повышению уровня диаминооксидазы и субстанции P в сыворотке крови при обострении хронической крапивницы по отношению к группе сравнения. Однако у пациентов с крапивницей вне обострения мы выявили статистически достоверное повышение диаминооксидазы и субстанции P, что подтверждает сохранение воспалительного процесса в ремиссии заболевания и требует дальнейшего изучения.

## Выводы

В нашем исследовании была подтверждена взаимосвязь между нейротрансмиттером субстанцией P и диаминооксидазой, ферментом, деградирующим гистамин в кишечнике, как у пациентов, страдающих хронической крапивницей, так и в группе сравнения. Это подтвердило существующую гипотезу оси кишечник-мозг-кожа. Однако патогенез хронической крапивницы представляет собой многофакторный комплекс изменений в иммунной системе и передаче сигналов оси кишечник-мозг-кожа. Существующие в настоящее время терапевтические подходы в лечении крапивницы четко определены, но не всегда успешны. При дефиците диаминооксидазы сейчас рекомендации в основном касаются диеты и использования пищевых добавок. Однако диета не всегда эффективна, возможно, в будущем диетическое лечение будет основано в том числе и на особенностях микробиома человека. Другими целями, представляющими интерес, являются воздействия на нейротрансмиттеры, которые, возможно, станут основой будущих методов лечения вместе с модуляцией микробиома после индивидуального профилирования. Было рекомендовано использовать все методы, направленные на коррекцию стресса и поддержание аллостаза, что включает не только диету, но также адекватный и качественный сон, позитивное социальное взаимодействие. Влияние на все звенья оси кишечник-мозг-кожа, способствующие аллостазу, могут помочь процессу выздоровления, поскольку присущая мозгу адаптивная пластичность может влиять на другие системы более эффективно [28].

## Литература

- McEwen BS. Allostasis and allostatic load: implications for neuropsychopharmacology. *Neuropsychopharmacology*. 2000; 22 (2): 108–24.
- Musazzi L, Tornese P, Sala N, Popoli M. What acute stress protocols can tell us about PTSD and stress-related neuropsychiatric disorders. *Front Pharmacol*. 2018; 12 (9): 758. DOI: 10.3389/fphar.2018.00758. PMID: 30050444.
- Malagelada JR. The brain-gut team. *Dig Dis*. 2020; 38 (4): 293–8. DOI: 10.1159/000505810. PMID: 32114574.
- Chen P, Zhang L, Feng Y, Liu YF, Si TL, Su Z, et al. Brain-gut axis and psychiatric disorders: A perspective from bibliometric and visual analysis. *Front Immunol*. 2022; 16 (13): 1047007. DOI: 10.3389/fimmu.2022.1047007. PMID: 36466907.
- Шаповалова Н. С. Ось кишечник-мозг и ее роль в развитии функциональных гастроинтестинальных расстройств. *Children's Medicine of the North-West*. 2021; 9 (4): 33–50.
- Chen Y, Lyga J. Brain-skin connection: stress, inflammation and skin aging. *Inflamm Allergy Drug Targets*. 2014; 13 (3): 177–90. DOI: 10.2174/1871528113666140522104422. PMID: 24853682.
- Carabotti M, Scirocco A, Maselli MA, Severi C. The gut-brain axis: interactions between enteric microbiota, central and enteric nervous systems. *Ann Gastroenterol*. 2015; 28: 203–9.
- Wong ML, Inerra A, Lewis MD, Mastronardi CA, Leong L, Choo J, et al. Inflammasome signaling affects anxiety- and depressive-like behavior and gut microbiome composition. *Mol Psychiatry*. 2016; 21 (6): 797–805.
- Dejea CM, Fathi P, Craig JM, Boleij A, Taddese R, Geis AL, et al. Patients with familial adenomatous polyposis harbor colonic biofilms containing tumorigenic bacteria. *Science*. 2018; 359 (6375): 592–7.
- Благонравова А. С., Галова Е. А., Широкова И. Ю., Галова Д. А. Ось «кишечник-мозг» — результаты клинического исследования. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. 2023; 6: 5–13. DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-214-6-5-13.
- Брсибян Л. А., Полуэктова Е. А., Полуэктов М. Г. Состояние микробиома кишечника как фактор развития болезни Паркинсона. *Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика*. 2023; 15 (1): 90–6. DOI: 10.14412/2074-2711-2023-1-90-96.
- Matsuno K, Ueta H, Shu Z, Xue-Dong X, Sawanobori Y, Kitazawa Y, et al. The microstructure of secondary lymphoid organs that support immune cell trafficking. *Arch Histol Cytol*. 2010; 73: 1–21. DOI: 10.1679/aohc.73.1.
- Thye AY, Bah YR, Law JW, Tan LT, He YW, Wong SH, et al. Gut-Skin Axis: Unravelling the Connection between the Gut Microbiome and Psoriasis. *Biomedicines*. 2022; 10 (5): 1037. DOI: 10.3390/biomedicines10051037. PMID: 35625774.
- Sinha S, Lin G, Ferenczi K. The skin microbiome and the gut-skin axis. *Clin Dermatol*. 2021; 39 (5): 829–39. DOI: 10.1016.
- Wang X, Li Y, Wu L, Xiao S, Ji Y, Tan Y, et al. Dysregulation of the gut-brain-skin axis and key overlapping inflammatory and immune mechanisms of psoriasis and depression. *Biomed Pharmacother*. 2021; 137: 111065. DOI: 10.1016/j.biopha.2020.111065.
- Ferraretto A, Donetti E, García-Mena J, Pacheco-López G. Editorial: The gut-skin-brain axis in human health and disease. *Front Nutr*. 2023; 16 (10): 1155614. DOI: 10.3389/fnut.2023.1155614. PMID: 36875850.
- Slominski A, Wortsman J. Neuroendocrinology of the skin. *Endocrine reviews*. 2000; 21 (5): 457–87.
- Marek-Jozefowicz L, Czajkowski R, Borkowska A, Nedoszytko B, Żmijewski MA, Cubała WJ, et al. Axis in psoriasis-psychological, psychiatric, hormonal, and dermatological aspects. *Int J Mol*

- Sci. 2022; 23 (2): 669. DOI: 10.3390/ijms23020669. PMID: 35054853.
19. Andrzej TS, Michal AZ, Przemyslaw MP, Jerzy PS, Ralf P, How UV. Light touches the brain and endocrine system through skin, and why, *endocrinology*. 2018; 159 (5): 1992–2007. DOI: 10.1210/en.2017-03230.
  20. Remröd C, Lonne-Rahm S, Nordlind K. Study of substance P and its receptor neurokinin-1 in psoriasis and their relation to chronic stress and pruritus. *Arch Dermatol Res*. 2007; 299 (2): 85–91. DOI: 10.1007/s00403-007-0745-x.
  21. Asadi S, Alysandratos KD, Angelidou A, Miniati A, Sismanopoulos N, Vasiadi M, et al. Substance P (SP) induces expression of functional corticotropin-releasing hormone receptor-1 (CRHR-1) in human mast cells. *J Invest Dermatol*. 2012; 132 (2): 324–9. DOI: 10.1038/jid.2011.334.
  22. Mijouin L, Hillion M, Ramdani Y, Jaouen T, Duclairoir-Poc C, Follet-Gueye ML, et al. Effects of a skin neuropeptide (substance p) on cutaneous microflora. *PLoS One*. 2013; 8 (11): 78773.
  23. Данилычева И. В., Ильина Н. И., Лусс Л. В. и др. Федеральные клинические рекомендации. Крапивница. Российский аллергологический журнал. 2018; 15 (5): 47–62.
  24. Smolinska S, Jutel M, Cramer R, O'Mahony L. Histamine and gut mucosal immune regulation. *Allergy*. 2013; 69 (3): 273–81. DOI: 10.1111/all.12330.
  25. Yusuke H, Hiroshi N, Minoru M, Tsutomu C. Clinical significance of serum diamine oxidase activity in inflammatory bowel disease: Importance of evaluation of small intestinal permeability. *Inflammatory Bowel Diseases*. 2011; 17 (2): 23–5. DOI: 10.1002/ibd.21588.
  26. Xu Y, Yao R, Zhao W, et al. Spirocyclopiperazinium salt compound DXL-A-24 improves visceral sensation and gut microbiota in a rat model of irritable bowel syndrome. *Heliyon*. 2023; 9 (6): 16544. DOI: 10.1016/j.heliyon.2023.e16544.
  27. Raskov H, Burcharth J, Pommergaard HC, Rosenberg J. Irritable bowel syndrome, the microbiota and the gut-brain axis. *Gut Microbes*. 2016; 7 (5): 365–83. DOI: 10.1080/19490976.2016.1218585.
  28. McEwen BS. The untapped power of allostasis promoted by healthy lifestyles. *World Psychiatry*. 2020; 19 (1): 57–8. DOI: 10.1002/wps.20720. PMID: 31922670.

## References

1. McEwen BS. Allostasis and allostatic load: implications for neuropsychopharmacology. *Neuropsychopharmacology*. 2000; 22 (2): 108–24.
2. Musazzi L, Tornese P, Sala N, Popoli M. What acute stress protocols can tell us about PTSD and stress-related neuropsychiatric disorders: A perspective from bibliometric and visual analysis. *Front Immunol*. 2022; 16 (13): 1047007. DOI: 10.3389/fimmu.2022.1047007. PMID: 36466907.
3. Shapovalova NS. The role of the gut-brain axis in functional gastrointestinal disorders. *Children's Medicine of the North-West*. 2021; 9 (4): 33–50. Russian.
4. Chen Y, Lyga J. Brain-skin connection: stress, inflammation and skin aging. *Inflamm Allergy Drug Targets*. 2014; 13 (3): 177–90. DOI: 10.2174/1871528113666140522104422. PMID: 24853682.
5. Carabotti M, Scirocco A, Maselli MA, Severi C. The gut-brain axis: interactions between enteric microbiota, central and enteric nervous systems. *Ann Gastroenterol*. 2015; 28: 203–9.
6. Wong ML, Inserra A, Lewis MD, Mastronardi CA, Leong L, Choo J, et al. Inflammasome signaling affects anxiety- and depressive-like behavior and gut microbiome composition. *Mol Psychiatry*. 2016; 21 (6): 797–805.
7. Dejea CM, Fathi P, Craig JM, Boleij A, Taddese R, Geis AL, et al. Patients with familial adenomatous polyposis harbor colonic biofilms containing tumorigenic bacteria. *Science*. 2018; 359 (6375): 592–7.
8. Blagonravova AS, Galova EA, Shirokova IYu, Galova DA. The gut-brain axis — clinical study results. *Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2023; 6: 5–13. DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-214-6-5-13. Russian.
9. Brsikyan LA, Poluektova EA, Poluektov MG. The gut microbiome as a factor in the development of Parkinson's disease. *Neurology, Neuropsychiatry, Psychosomatics*. 2023; 15 (1): 90–6. DOI: 10.14412/2074-2711-2023-1-90-96. Russian.
10. Matsuno K, Ueta H, Shu Z, Xue-Dong X, Sawanobori Y, Kitazawa Y, et al. The microstructure of secondary lymphoid organs that support immune cell trafficking. *Arch Histol Cytol*. 2010; 73: 1–21. DOI: 10.1679/aohc.73.1.
11. Thye AY, Bah YR, Law JW, Tan LT, He YW, Wong SH, et al. Gut-Skin Axis: Unravelling the Connection between the Gut Microbiome and Psoriasis. *Biomedicine*. 2022; 10 (5): 1037. DOI: 10.3390/biomedicine10051037. PMID: 35625774.
12. Sinha S, Lin G, Ferenczi K. The skin microbiome and the gut-skin axis. *Clin Dermatol*. 2021; 39 (5): 829–39. DOI: 10.1016.
13. Wang X, Li Y, Wu L, Xiao S, Ji Y, Tan Y, et al. Dysregulation of the gut-brain-skin axis and key overlapping inflammatory and immune mechanisms of psoriasis and depression. *Biomed Pharmacother*. 2021; 137: 111065. DOI: 10.1016/j.biopha.2020.111065.
14. Ferraretto A, Donetti E, Garcia-Mena J, Pacheco-López G. Editorial: The gut-skin-brain axis in human health and disease. *Front Nutr*. 2023; 16 (10): 1155614. DOI: 10.3389/fnut.2023.1155614. PMID: 36875850.
15. Slominski A, Wortsman J. Neuroendocrinology of the skin. *Endocrine reviews*. 2000; 21 (5): 457–87.
16. Marek-Jozefowicz L, Czajkowski R, Borkowska A, Nedoszytko B, Żmijewski MA, Cubała WJ, et al. Axis in psoriasis-psychological, psychiatric, hormonal, and dermatological aspects. *Int J Mol Sci*. 2022; 23 (2): 669. DOI: 10.3390/ijms23020669. PMID: 35054853.
17. Andrzej TS, Michal AZ, Przemyslaw MP, Jerzy PS, Ralf P, How UV. Light touches the brain and endocrine system through skin, and why, *endocrinology*. 2018; 159 (5): 1992–2007. DOI: 10.1210/en.2017-03230.
18. Remröd C, Lonne-Rahm S, Nordlind K. Study of substance P and its receptor neurokinin-1 in psoriasis and their relation to chronic stress and pruritus. *Arch Dermatol Res*. 2007; 299 (2): 85–91. DOI: 10.1007/s00403-007-0745-x.
19. Asadi S, Alysandratos KD, Angelidou A, Miniati A, Sismanopoulos N, Vasiadi M, et al. Substance P (SP) induces expression of functional corticotropin-releasing hormone receptor-1 (CRHR-1) in human mast cells. *J Invest Dermatol*. 2012; 132 (2): 324–9. DOI: 10.1038/jid.2011.334.
20. Mijouin L, Hillion M, Ramdani Y, Jaouen T, Duclairoir-Poc C, Follet-Gueye ML, et al. Effects of a skin neuropeptide (substance p) on cutaneous microflora. *PLoS One*. 2013; 8 (11): 78773.
21. Danilicheva IV, Ilna NI, Luss LV, et al. Federal Clinical Recommendations. Urticaria. *Russian Journal of Allergy*. 2018; 15 (5): 47–62. Russian.
22. Smolinska S, Jutel M, Cramer R, O'Mahony L. Histamine and gut mucosal immune regulation. *Allergy*. 2013; 69 (3): 273–81. DOI: 10.1111/all.12330.
23. Yusuke H, Hiroshi N, Minoru M, Tsutomu C. Clinical significance of serum diamine oxidase activity in inflammatory bowel disease: Importance of evaluation of small intestinal permeability. *Inflammatory Bowel Diseases*. 2011; 17 (2): 23–5. DOI: 10.1002/ibd.21588.
24. Xu Y, Yao R, Zhao W, et al. Spirocyclopiperazinium salt compound DXL-A-24 improves visceral sensation and gut microbiota in a rat model of irritable bowel syndrome. *Heliyon*. 2023; 9 (6): 16544. DOI: 10.1016/j.heliyon.2023.e16544.
25. Raskov H, Burcharth J, Pommergaard HC, Rosenberg J. Irritable bowel syndrome, the microbiota and the gut-brain axis. *Gut Microbes*. 2016; 7 (5): 365–83. DOI: 10.1080/19490976.2016.1218585.
26. McEwen BS. The untapped power of allostasis promoted by healthy lifestyles. *World Psychiatry*. 2020; 19 (1): 57–8. DOI: 10.1002/wps.20720. PMID: 31922670.

## ЛАЗЕРОТЕРАПИЯ И РАЗГРУЗОЧНАЯ ЛЕЧЕБНАЯ ГИМНАСТИКА В ЛЕЧЕНИИ НАРУШЕНИЙ ЛИПИДНОГО ОБМЕНА

А. А. Ачилов<sup>1,2</sup>, А. В. Баранов<sup>1</sup>, С. В. Горнов<sup>2</sup>, Д. У. Усмонзода<sup>4</sup>, Ш. А. Ачилова<sup>5</sup>, М. Д. Пулатова<sup>6</sup>, Ал. А. Ачилов<sup>3</sup>, И. А. Мамедьярова<sup>7</sup>, М. И. Лазечко<sup>1</sup> ✉

<sup>1</sup> Научно-практический центр лазерной медицины имени О. К. Скобелкина Федерального медико-биологического агентства России, Москва, Россия

<sup>2</sup> Российский биотехнологический университет, Москва, Россия

<sup>3</sup> Национальный медицинский исследовательский центр высоких медицинских технологий имени А. А. Вишневого Минобороны России, Красногорск, Россия

<sup>4</sup> Диагностический клинический центр № 1 Департамента здравоохранения г. Москвы, Москва, Россия

<sup>5</sup> ООО «СКОЛМЕД», п. Заречье, Москва, Россия

<sup>6</sup> Городская поликлиника № 134 Департамента здравоохранения г. Москвы, Москва, Россия

<sup>7</sup> Азербайджанский медицинский университет, Баку, Азербайджан

В клинической практике встречаются больные с нарушениями липидного обмена (НЛО), резистентные к гиполипидемической терапии (ГТ), у которых прием оптимальных доз этих препаратов не приводит к снижению уровня холестерина и его фракций до целевого уровня, а повышение дозы препаратов способствует появлению побочных эффектов. Для оптимизации лечения таких больных было обследовано 58 больных ишемической болезнью сердца с НЛО, резистивных к ГТ. Исходно больные в зависимости от метода лечения были разделены на две сопоставимые группы: в основной 29 больных получали лазеротерапию и разгрузочную лечебную гимнастику; в контрольной — 29 больных продолжали принимать базовое медикаментозное лечение. Полученные результаты свидетельствуют о достоверном гиполипидемическом действии проведенного лечения в основной группе: отмечены достоверное снижение общего холестерина на  $-27,7\%$  ( $p < 0,01$ ) и холестерина липопротеидов низкой плотности на  $-34,7\%$  ( $p < 0,01$ ), достоверное повышение холестерина липопротеидов высокой плотности на  $28,1\%$  ( $p < 0,01$ ), достоверное снижение коэффициента атерогенности на  $-50,2\%$  ( $p < 0,01$ ) и триглицеридов на  $-49,6\%$  ( $p < 0,01$ ). В то же время в контрольной группе достоверной положительной динамики липидограммы не наблюдали. У больных основной группы толерантность к физической нагрузке достоверно повышалась, а в контрольной группе изменялась недостоверно.

**Ключевые слова:** ишемическая болезнь сердца, нарушение липидного обмена, резистентность к гиполипидемической лекарственной терапии, холестерин, липопротеиды высокой плотности, липопротеиды низкой плотности, триглицериды, лазеротерапия, лечебная гимнастика

**Вклад авторов:** А. А. Ачилов — разработка методики, сбор и статистическая обработка материала, написание статьи; А. В. Баранов — концепция исследования, научное руководство, коррекция рукописи; С. В. Горнов — концепция исследования, научное руководство, сбор литературы, написание статьи; Д. У. Усмонзода — сбор материала и литературы, написание статьи; Ш. А. Ачилова, М. Д. Пулатова, Ал. А. Ачилов, И. А. Мамедьярова — сбор материала и литературы; М. И. Лазечко — сбор литературы, дизайн исследования и коррекция рукописи.

**Соблюдение этических стандартов:** исследование одобрено этическим комитетом ФГБУ НПЦ ЛМ имени О. К. Скобелкина ФМБА России (протокол № 2/23 от 18 декабря 2023).

✉ **Для корреспонденции:** Марьяна Игоревна Лазечко  
ул. Студенческая, д. 40, г. Москва, 121165, Россия; lazechko.m@goslasmed.ru

**Статья получена:** 19.12.2023 **Статья принята к печати:** 24.02.2024 **Опубликована онлайн:** 25.03.2024

**DOI:** 10.47183/mes.2024.009

## LASER THERAPY AND UNLOADING THERAPEUTIC GYMNASTICS IN THE TREATMENT OF DYSLIPOPROTEINEMIA

Achilov AA<sup>1,2</sup>, Baranov AV<sup>1</sup>, Gornov SV<sup>2</sup>, Usmonzoda DU<sup>4</sup>, Achilova SA<sup>5</sup>, Pulatova MD<sup>6</sup>, Achilov AIA<sup>3</sup>, Mamedyarova IA<sup>7</sup>, Lazechko MI<sup>1</sup> ✉

<sup>1</sup> The Skobelkin Research and Practical Centre for Laser Medicine of the Federal Medical-Biological Agency, Moscow, Russia

<sup>2</sup> Russian Biotechnological University, Institute of Medical Continuous Education, Moscow, Russia

<sup>3</sup> Vishnevsky Central Military Clinical Hospital of the Russian Federation Defence, Moscow, Russia

<sup>4</sup> Diagnostic Clinical Center № 1 of the Moscow City Health Department, Branch 3, Moscow, Russia

<sup>5</sup> SCOLMED LLC, Zarechye, Moscow, Russia

<sup>6</sup> Municipal Polyclinic № 134 of the Moscow City Health Department, Moscow, Russia

<sup>7</sup> Azerbaijan Medical University, Baku, Azerbaijan

Based on clinical practice, some patients with lipid metabolism disorders (LMD) are resistant to lipid-lowering therapy (LLT) — in such patients, taking optimal doses of LLT drugs does not reduce levels of cholesterol and its fractions to target levels and using LLT at higher doses is associated with increased odds of adverse events. To optimize the treatment, 58 patients with ischemic heart disease with LMD resistant to LLT were examined. The patients were divided into two groups: in the main group, 29 patients received laser therapy and unloading therapeutic gymnastics; in the control group, 29 patients continued to take their usual medications. The obtained results showed a significant lipid-lowering effect of the treatment in the main group: we observed a significant decrease in total cholesterol (by 27.7%,  $p < 0.01$ ) as well as low-density lipoprotein cholesterol (by 34.7%,  $p < 0.01$ ), a significant increase in high-density lipoprotein cholesterol (28.1%,  $p < 0.01$ ), a significant decrease of atherogenic coefficient (by 50.2%,  $p < 0.01$ ) and in the levels of triglycerides (by 49.6%,  $p < 0.01$ ). At the same time, no significant positive changes in lipid profile were observed in the control group. In patients of the main group, tolerance to physical activity increased significantly, with statistically insignificant changes in the control group accordingly.

**Keywords:** Ischemic heart disease, lipid metabolism disorders, resistance to lipid-lowering pharmacotherapy, total triglycerides, low-level laser therapy, unloading therapeutic gymnastics, cholesterol, high-density lipoprotein cholesterol, low-density lipoprotein cholesterol

**Author contribution:** Achilov AA — methodology development, collection and statistical processing of data, manuscript writing; Baranov AV — study concept, scientific supervision, manuscript editing; Gornov SV — study concept, scientific supervision, literature review, manuscript writing; Usmonzoda DU — data collection, literature review, manuscript writing; Achilova SA, Pulatova MD, Achilov AIA, Mamedyarova IA — data collection, literature review; Lazechko MI — literature review, study design, manuscript editing.

**Compliance with ethical standards:** the study was approved by the Ethics Committee of the Skobelkin Research and Practical Centre for Laser Medicine of the Federal Medical-Biological Agency (protocol № 2/23 dated 18 December 2023). All patients submitted the informed consent to study participation.

✉ **Correspondence should be addressed:** Maryana I. Lazechko  
Studentcheskaya, 40, Moscow, 121165, Russia; lazechko.m@goslasmed.ru

**Received:** 19.12.2023 **Accepted:** 24.02.2024 **Published online:** 25.03.2024

**DOI:** 10.47183/mes.2024.009

Болезни сердечно-сосудистой системы (ССС) — важная проблема всего человечества. В лечении больных ишемической болезнью сердца (ИБС), наряду с фармакотерапией (ФТ), широко используют хирургические технологии: стентирование и аортокоронарное шунтирование. Все эти методы лечения оказывают положительный эффект до определенного времени, затем он постепенно утрачивается вследствие прогрессирования атеросклероза и ИБС [1–3].

В последние годы достигнуты значительные успехи в области ФТ нарушений липидного обмена (НЛО) у больных ИБС. При этом в большинстве случаев ФТ дает хороший эффект, и достигается целевой уровень холестерина (ХС) и его фракций [4–15]. Известно, что гиполипидемические препараты (ГП) назначают на постоянный прием, а длительное применение этих средств может вызывать побочные эффекты в виде поражения клеток печени (повышение уровня трансаминаз: аланин- и аспартатаминотрансферазы). К другим побочным эффектам относят развитие миопатии, миалгии, возможны диарея, тошнота, неприятные ощущения в области печени, запоры, бессонница, головные боли и т. д. [16]. Снижение дозы или попытка отмены ГП ведет к повышению уровня ХС и его атерогенных фракций. В клинической практике встречаются больные ИБС с НЛО, резистентные к гиполипидемической терапии (ГТ), у которых прием оптимальных доз ГП не приводит к снижению уровня ХС и его фракций до целевого уровня [16–19].

Вышеизложенное наводит на мысль, что пусковой механизм развития атеросклероза и ИБС еще до конца не изучен и требует углубленного исследования. Существующие методы лечения полноценно не воздействуют на все этиопатогенетические механизмы развития атеросклероза и ИБС, что способствует прогрессированию болезни.

В ранее выполненных работах было показано, что лекарственные препараты улучшают периферическое кровообращение в покое до нормальных значений, однако резервный кровоток полноценно не восстанавливается. Считается, что подобная структурная перестройка сосудов имеет необратимый характер и служит важнейшим фактором прогрессирования патологии ССС. Известно, что при лечении атеросклероза, ИБС и НЛО основной упор делают на ФТ. Для полноценного восстановления резерва ССС, разгрузки работы сердца наряду с лекарственной терапией целесообразно использовать другие немедикаментозные способы лечения больных [1–3].

Известно, что лазерная терапия (ЛТ) [20–24] и особенно ЛТ в сочетании с разгрузочной лечебной гимнастикой (РЛГ) [25] в лечении сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) могут оказывать достоверный положительный эффект. По механизмам положительного эффекта ЛТ опубликованы множество работ [20–24]. Причем внутривенное лазерное облучение крови (ВЛОК) в красном диапазоне чаще используют для достижения системного эффекта, а инфракрасный диапазон — для местного эффекта. При комбинированном использовании этих двух диапазонов положительные эффекты суммируются.

Наши наблюдения показали, что в краткосрочном периоде при курсовом лечении ЛТ действительно оказывает положительный эффект. Однако через 4 месяца после курса ЛТ достигнутый положительный эффект нивелируется и лабораторные показатели возвращаются к исходным показателям до ЛТ. Следует отметить, что антиангинальная терапия и ЛТ в отдельности, и в сочетании увеличивают кровоток и снижают периферическое

сосудистое сопротивление в покое, однако резервный кровоток полноценно не восстанавливается. Это доказывает, что данные методы лечения никогда полноценно не восстанавливают резервную обменную поверхность капилляров. К тому же для сохранения эффекта лазеротерапии минимум два или три раза в год больные должны получать курс ЛТ. При этом они испытывают определенные неудобства, трудности и порой недоверие, так как такие больные пожизненно нуждаются в лечении. Поэтому пациенты после первого или повторных курсов лечения перестают ходить на повторные курсы ЛТ.

Главный фактор восстановления резерва ССС — правильный подбор двигательного режима для пациента. Во всех клинических рекомендациях по немедикаментозному лечению атеросклероза и ИБС большое значение уделяют физической активности больных. Риск развития ССЗ у лиц, ведущих малоподвижный образ жизни, на 20–50% выше, чем у физически активных людей [16]. Причем у больных с ССЗ толерантность к физической нагрузке (ТКФН) значительно снижена из-за ограничения резерва ССС.

Ограниченная резервная обменная поверхность капилляров рационально корректируется только при использовании РЛГ. Преимущество разгрузочных упражнений, в отличие от нагрузочных, заключается в том, что последние вызывают повышение частоты сердечных сокращений, АД, частоты дыхания, активацию симпатно-адреналовой системы, что нежелательно для кардиологических больных, а разгрузочные упражнения оказывают нормализующий эффект. Тяжелые и/или пожилые больные, которым нагрузочные упражнения противопоказаны из-за ограничения сердечно-сосудистого резерва и/или тяжести состояния, могут легко выполнять разгрузочные упражнения, что расширяет показания к применению РЛГ. Эти упражнения выполняют ежедневно систематически, и достигнутый эффект сохраняется длительно [1–3]. При этом качество жизни больных существенно улучшается, количество принимаемых препаратов уменьшается, о чем мы будем говорить в следующих публикациях при длительном наблюдении.

Следующее преимущество РЛГ заключается в том, что значительную часть насосной функции сердца берет на себя мышечная система. Одновременно восстанавливается и сохраняется резервная обменная поверхность капилляров за счет ангионеогенеза, увеличивается резервный кровоток, существенно снижается периферическое сосудистое сопротивление. В этих условиях снижается нагрузка на сердце [1–3]. Данная методика эффективна даже в тех случаях, когда у больных развивается резистентность к ФТ. Следовательно, методика может быть использована для больных ИБС с НЛО, у которых, несмотря на прием ГП, в силу различных обстоятельств не удается снизить уровень липидного спектра крови до оптимального уровня.

В связи с этим разработка и научное обоснование новых способов лечения при распространенных соматических заболеваниях составляют одно из важных и перспективных направлений современной медицины [26–28]. Особое значение эта проблема приобретает при патологиях ССС и в первую очередь при атеросклерозе и ИБС, особенно при развитии резистентности к ФТ [28–32]. Применение инвазивных методов лечения зачастую оказывается неоправданным, а при наличии выраженных мультифокальных атеросклеротических поражений сосудов — неэффективным.



Таблица 1. Распределение больных ИБС с НЛО, рефрактерных к ГТ по полу, возрасту в ОГ и КГ

	Группы больных			
	Основная группа		Контрольная группа	
	Абсолютное количество	%	Абсолютное количество	%
Мужчины	27	93,1	27	93,1
Женщины	2	6,9	2	6,9
Всего	29	100	29	100
Средний возраст	56,5 ± 2,1		54,9 ± 2,0	

Таким образом, проблема применения ЛТ и РЛГ в комплексной программе физической реабилитации больных ИБС сохраняет в себе еще много неразрешенных вопросов, требующих дополнительного изучения, на часть из которых призвано ответить настоящее исследование.

Цель исследования — разработка эффективных способов применения лазерного облучения красного и инфракрасного диапазонов и РЛГ в восстановительном лечении больных ИБС с НЛО, резистентных к гипополипидемической лекарственной терапии на фоне поддерживающей ФТ.

#### ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

В исследование было включено 58 больных ИБС со стабильной стенокардией напряжения II ФК и с НЛО, резистентных к ГТ. Все больные были работоспособного возраста от 40 до 60 лет, из них мужчин 93,1% и женщин — 6,9%, с длительностью заболевания от 2 до 6 лет. В исследование не включали больных с ожирением, СД II типа, артериальной гипертензией, с хроническими заболеваниями почек и хронической почечной недостаточностью. Распределение больных ИБС с НЛО, резистентных к ГТ по полу, возрасту в основной (ОГ) и контрольной группе (КГ), приведены в табл. 1.

Все больные в зависимости от метода лечения методом рандомизации были разделены на две сопоставимые по клинико-функциональным характеристикам и поддерживающей фармакотерапии (ПФТ) группы: ОГ — 29 больных, которые получали комплекс, состоящий из комбинированной ЛТ (ВЛОК и накожные воздействия лазерным излучением инфракрасного диапазона) и кинезотерапии в виде РЛГ на фоне ПФТ; КГ — 29 больных, которые получали только ПФТ. В обеих группах в случае появления побочных эффектов дозу ГТ снижали до исчезновения побочных эффектов. В обеих группах больные получали розувастатин по 12 человек (41,4% случаев) и аторвастатин — по 17 человек (58,6%). Суточная доза статинов в таблетках для приема внутрь в ОГ составляла  $38,8 \pm 2,83$  мг и в КГ —  $39,0 \pm 2,41$  мг.

Методы обследования больных включали стандартное клиническо-лабораторное обследование.

Перед началом лечения больным проводили лабораторное обследование, включающее развернутый анализ липидного спектра — уровень общего холестерина (ОХС), холестерина липопротеидов низкой плотности (ХС ЛПНП), высокой плотности (ХС ЛПВП), триглицеридов (ТГ). Расчетным путем определяли коэффициент атерогенности (КА). Кровь для исследования забирали из периферических (локтевых) вен одноразовыми шприцами. После забора в пробирку с 0,5 мл 3,8% цитрата натрия добавляли цельную кровь (4,5 мл) и тщательно перемешивали. Затем кровь центрифугировали при 3000 об./мин в течение 15 мин. Плазму отбирали в чистую пробирку и хранили

в холодильнике при температуре 20 °С для дальнейшего исследования. Основные фракции липидов плазмы (ТГ, ОХС, ХС ЛПВП) определяли ферментативным методом на биохимическом анализаторе Humalyser-2000 (Human GmbH; Германия) с помощью набора реактивов фирмы Human: холестерин, с АЛФ (Human GmbH; Германия); триглицериды, с АЛФ (Human GmbH; Германия); холестерин ЛПВП, без осаждения (Human GmbH; Германия). Содержание ХС ЛНП рассчитывали по формуле Фривальда (Friedwald W.), 1972, при условии, что концентрация ТГ в плазме крови не превышает 4,5 ммоль/л:

$$\text{ХС ЛНП, моль/л} = \text{ОХС} - \text{ХС ЛВП} - (\text{ТГ} : 2,2),$$

согласно Российским рекомендациям ВНОК, третий пересмотр, 2007 г. Результаты выражали в ммоль/л.

Велоэргометрическую пробу (ВЭМ) проводили на велоэргометре (Elema; Швеция) по общепринятой методике непрерывной, ступенчато-возрастающей нагрузки Д. М. Аронова.

ВЛОК и накожную ЛТ проводили на лазерном терапевтическом аппарате «Мустанг-2000» (НПЛЦ «Техника»; Россия). Применяли сочетанную ЛТ, состоявшую из ВЛОК и наружной инфракрасной ЛТ, проводимых поочередно через день из расчета три процедуры в неделю. Общий курс лечения состоял из 15 процедур (восемь — ВЛОК с экспозицией 15 мин и семь — инфракрасной ЛТ с экспозицией 6 мин). Длительность лечения составляла 1,5 месяца. Для ВЛОК использовали полупроводниковую красную лазерную излучающую головку с длиной волны 0,63 мкм, мощность излучения на выходе световода — 2 мВт. Для накожного облучения использовали полупроводниковые инфракрасные лазерные излучающие головки с длиной волны излучения 0,89 мкм. Доза инфракрасного воздействия составляла 0,6 Дж/см<sup>2</sup>. Накожную ЛТ проводили по следующим зонам: проекция аорты — второе межреберье справа по парастеральной линии — 1 мин; проекция легочной артерии — второе межреберье слева по парастеральной линии 1 мин; проекция абсолютной тупости сердца — 1 мин; грудной отдел позвоночника — шесть зон — по три зоны справа и слева по парастеральной линии — по 30 с.

РЛГ проводили по запатентованной методике под контролем АД, пульса и клинического состояния больного [1, 3]. При этом физическую нагрузку применяли дробно до момента повышения АД и пульса. Первое разгрузочное упражнение пациент осуществлял путем плавных наклонов вперед в сидячем положении на стуле, со скоростью до пяти наклонов в минуту, плюс перерыв 15 с, затем эти упражнения повторялись. Общее количество наклонов в первый день было ограничено до 100 раз, при этом каждый последующий день количество наклонов увеличивали до 50 раз, доводя общее количество наклонов до 150–200 раз в сутки. Во время выполнения

**Таблица 2.** Исходные показатели липидного обмена и ТКФН у здоровых и больных ИБС, резистентных к ГТ ( $M \pm m$ ) на фоне поддерживающей медикаментозной терапии

Показатели	Здоровые	Исходные данные основной группы	Исходные данные контрольной группы	$p^2$
ОХС, мМоль/л	5,26 ± 0,12	8,06 ± 0,11**	8,01 ± 0,10**	Нд
ХС ЛПВП, мМоль/л	1,85 ± 0,06	1,14 ± 0,05**	1,15 ± 0,05**	Нд
ХС ЛПНП, мМоль/л	3,13 ± 0,16	5,31 ± 0,14**	5,25 ± 0,14**	Нд
КА	1,84 ± 0,07	6,47 ± 0,44**	6,40 ± 0,38**	Нд
ТГ, мМоль/л	1,14 ± 0,11	3,59 ± 0,21**	3,52 ± 0,19**	Нд
ТКФН, кгм/мин	658,0 ± 35,4	408,6 ± 27,1**	424,1 ± 30,8**	Нд

**Примечания:** \*\* — достоверность различий исходных показателей ОГ и КГ по сравнению с нормой ( $p^1 < 0,01$ ); Нд — различие исходных показателей ОГ и КГ недостоверны ( $p^2$ ); ОХС — общий холестерин; ХС ЛПВП — холестерин липопротеинов высокой плотности; ХС ЛПНП — холестерин липопротеинов низкой плотности; КА — коэффициент атерогенности, ТГ — триглицериды; ТКФН — толерантность к физической нагрузке.

наклонов руки пациента находились на коленных суставах. При этом он одновременно осуществлял сгибание и разгибание рук с элементами отведения верхних конечностей. Когда пациент выпрямлялся, он одновременно втягивал переднюю брюшную стенку и таким образом способствовал движению диафрагмы, дыхательных мышц и мышц тазовой области. Вместе с этим пациент плавно опрокидывал шею и голову вперед и назад с периодическим поворотом направо и налево. Общее суточное количество упражнений осуществляли дробно до пяти заходов в день. Далее больному назначали выполнять сгибание и разгибание нижних конечностей (не отрывая ног от постели) дробно в положении лежа с вышеописанной частотой. Общее их количество доводили от 50 до 100 раз в сутки. Затем больному назначали приседание — он наклонялся вперед, руками упирался на соответствующие коленные суставы, плавно приседал и в обратном порядке поднимался. Приседание выполняли дробно. Общее количество приседаний — от 10 до 50 раз в день.

Полученные в процессе исследования количественные показатели были подвергнуты статистической обработке на персональном компьютере с помощью программ Microsoft Excel, SPSS Statistics. Определяли значения среднего арифметического ( $M$ ), стандартного отклонения ( $\delta$ ), а также ошибку среднего арифметического ( $m$ ). Достоверность различий, полученных данных в разных группах больных и в процессе лечения, оценивали при помощи  $t$ -критерия Стьюдента. За достоверные принимали отличия при  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исходно в ОГ и КГ, несмотря на прием ГТ, выявлены признаки дислипидемии: гиперхолестеринемия, повышение уровня

ХС ЛПНП и снижение уровня ХС ЛПВП, повышение КА и триглицеридемия. По данным ВЭМ пробы на исходном этапе, в ОГ и КГ выявлено достоверное снижение ТКФН по сравнению с нормой, что свидетельствует о снижении резервных возможностей ССС (табл. 2).

Сравнительная оценка исходных показателей липидного спектра крови и ТКФН у больных ОГ и КГ показала, что различие уровней ОХС, ХС ЛПВП, ХС ЛПНП, КА и ТГ, а также ТКФН были статистически недостоверны (табл. 2). Следовательно, ОГ и КГ по этим показателям исходно были сопоставимы.

Таким образом, обследованные больные ОГ и КГ имели достоверные НЛО, резистентные к гиполлипидемической ФТ, и снижение ТКФН, что свидетельствует о снижении резерва ССС.

Анализ проведенного исследования (табл. 3) свидетельствовал о выраженном гиполлипидемическом действии проведенного лечения у больных ОГ, получавших лечение ВЛОК и наружную ЛТ в инфракрасном диапазоне, а также физическую реабилитацию в виде РЛГ. В этой группе отмечены достоверное снижение уровня ОХС на 27,7% ( $p < 0,01$ ) и ХС ЛПНП на -34,7% ( $p < 0,01$ ), достоверное повышение уровня ХС ЛПВП на 28,1% ( $p < 0,01$ ), достоверное снижение КА на -50,2% ( $p < 0,01$ ) и уровня ТГ на -49,6% ( $p < 0,01$ ). Эти положительные сдвиги в ОГ сопровождалось достоверным повышением ТКФН. В то же время в КГ положительной динамики липидограммы и ТКФН не наблюдали (табл. 3).

Таким образом, применение лечебного комплекса, включающего ЛТ при накожном и внутривенном применении в сочетании с физической реабилитацией с помощью РЛГ у больных ИБС с НЛО, рефрактерных к гиполлипидемической ФТ, способствует выраженной коррекции нарушений липидного спектра крови и

**Таблица 3.** Динамика показателей липидного обмена и ТКФН у больных ИБС, резистентных к гиполлипидемической ФТ в ОГ и КГ ( $M \pm m$ )

Показатели ОГ	Исходные данные ОГ	Показатели ОГ после ЛТ и РЛГ	Исходные данные КГ	Показатели КГ на фоне ФТ	$p$
ОХС, мМоль/л	8,06 ± 0,11	5,83 ± 0,10**	8,01 ± 0,10	7,87 ± 0,12	Нд
ХС ЛПВП, мМоль/л	1,14 ± 0,05	1,46 ± 0,04**	1,15 ± 0,05	1,21 ± 0,05	Нд
ХС ЛПНП, мМоль/л	5,31 ± 0,14	3,47 ± 0,14**	5,25 ± 0,14	5,22 ± 0,13	Нд
КА	6,47 ± 0,44	3,22 ± 0,19**	6,40 ± 0,38	6,26 ± 0,37	Нд
ТГ, мМоль/л	3,59 ± 0,21	1,81 ± 0,11**	3,52 ± 0,19	3,54 ± 0,20	Нд
ТКФН, кгм/мин	408,6 ± 27,1	501,7 ± 27,6**	424,1 ± 30,8	439,7 ± 31,7	Нд

**Примечания:** \*\* —  $p < 0,01$ ; Нд — различие значений до и после лечения недостоверны; ОХС — общий холестерин, мМоль/л; ХС ЛПВП — холестерин липопротеинов высокой плотности, мМоль/л; ХС ЛПНП — холестерин липопротеинов низкой плотности, мМоль/л; ТГ — триглицериды, мМоль/л; КА — коэффициент атерогенности; ТКФН — толерантность к физической нагрузке.

повышению ТКФН. Разработанный лечебный комплекс, включающий ВЛОК и наружную инфракрасную ЛТ в сочетании с физической реабилитацией с помощью РЛГ, рекомендуется назначать больным ИБС с НЛО, резистентным к гиполипидемической ФТ.

#### ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Считается, что длительное повышение содержания атерогенных липидов в крови способствует прогрессированию атеросклеротического поражения сосудов, а снижение может тормозить развитие патологического процесса, улучшать течение и прогноз заболевания. Исследованные больные ОГ и КГ имели достоверные нарушения липидного спектра крови, резистентные к гиполипидемической ФТ, и снижение ТКФН, что свидетельствует о снижении резерва ССС. Данный факт подтверждает, что больные с ИБС с НЛО, резистентные к гиполипидемической ФТ на клеточно-тканевом и микроциркуляторном уровнях, имеют также виды нарушений, не устранимые только медикаментозной терапией. Для полноценной их коррекции наряду с комплексной медикаментозной терапией целесообразно включить РЛГ на фоне ЛТ.

Известно, что обмен веществ между кровью и клетками и тканями органов и систем происходит на уровне кровеносных капилляров. В ранее выполненных исследованиях было показано, что поражение микроциркуляции при атеросклерозе и ИБС имеет системный характер. Установлено, что при атеросклерозе и ИБС количество функционирующих капилляров достоверно ниже по сравнению с нормой, т. е. общая обменная поверхность капилляров существенно уменьшена [33].

Основу резерва ССС составляет капиллярная сеть. В норме в состоянии покоя функционирует около 20% капиллярной сети, а 80% капилляров находятся в состоянии резерва. Это означает, что сердце в силу своей насосной функции поддерживает кровоснабжение только 20% обменной поверхности капилляров. А для сохранения работоспособности 80% обменной поверхности капилляров необходим правильный режим двигательной активности [1–3].

Когда происходит значительное уменьшение общей обменной поверхности капилляров, в крови повышается не только уровень холестерина, но и других веществ, в том числе может возникать повышение уровня инсулина и сахара крови (сахарный диабет II типа), повышаются вязкость и свертываемость крови, артериальное давление, периферическое сосудистое сопротивление и др. В этих условиях из-за ограничения общей обменной поверхности капилляров холестерин недостаточно доходит до клеток и его уровень в крови повышается [1, 3].

Считается, что в повышении уровня холестерина и дислипидемии важную роль играет уменьшение общей обменной поверхности капилляров за счет уменьшения количества не только резервных капилляров (80%), но и функционирующих капилляров (общая обменная поверхность капилляров уменьшается в 3 или 4 раза). При этом липопротеиды низкой плотности, которые должны проходить через ограниченную обменную поверхность капилляров, в течение суток не успевают пройти и отдать свой холестерин клеткам, и их уровень в крови повышается. Холестерин — строительный материал для средней оболочки мембраны клеток. Недостаточное поступление холестерина к клеткам

замедляет рост и развитие молодых и стволовых клеток. Следовательно, регенераторные процессы замедляются. Когда липопротеиды низкой плотности проходят через капиллярную сеть, они отдают свой холестерин клеткам и превращаются в холестерин высокой плотности. Холестерины высокой плотности подходят к печени, используются для выработки желчных кислот и в составе желчи поступают в двенадцатипестную кишку, участвуя в переваривании и кругообороте пищи в нашем организме. Следовательно, у больных с атеросклерозом и ИБС с проявлениями дислипидемии, с одной стороны, образуется меньше холестерина высокой плотности, и с другой стороны, они используются для выработки желчных кислот и в составе желчи выводятся в двенадцатипестную кишку. Поэтому при атеросклерозе и ИБС уровень атерогенных холестерина повышен, а уровень антиатерогенных холестерина понижен. Следовательно, восстановление и сохранение резервной и общей обменной поверхности капилляров за счет применения разгрузочных движений имеет важное патогенетическое значение при атеросклерозе и ИБС, при нарушениях липидного обмена, сахарном диабете 2-го типа, артериальной гипертензии, недостаточности кровообращения и др. [1–3].

Мы считаем, что не следует перегружать печень ГП в больших дозах, которые при длительном приеме могут вызвать поражение печеночных клеток и другие побочные эффекты, а также требуют биохимического контроля за функциями печеночных клеток, так как имеется новая, простая, физиологичная методика регуляции обмена веществ и липидного спектра крови, которую можно включить в комплексную терапию на фоне поддерживающей ФТ. В настоящее время многие больные имеют различные сопутствующие хронические заболевания, и врачи разных специальностей независимо друг от друга по стандартам медицинской помощи могут назначать 3 или 4 различные группы препаратов для длительного приема, причем количество принимаемых лекарственных препаратов иногда доходит до 10–12 таблеток в сутки, что приводит к полипрагмазии. Настоящая разработанная нами методика лечения может значительно уменьшить фармакологическую нагрузку на печень.

Следовательно, ежедневно выполняя РЛГ, мы восстанавливаем и сохраняем общую и резервную обменную поверхность капилляров, разгружаем работу сердца, длительно сохраняем достигнутый положительный эффект при НЛО, резистентных к ГТ у больных ИБС [1, 3]. При этом холестерин в достаточном количестве доходит до клеток и уровень холестерина и его атерогенных фракций в крови уменьшается, а уровень антиатерогенных фракций увеличивается. Происходят ускорение восстановительно-регенераторных процессов и замедление процессов поражения [1, 3]. Доказательством этого служит проведенное нами исследование. Таким образом, нами разработан и предложен еще один эффективный способ регуляции обмена холестерина и коррекции дислипидемии.

#### ВЫВОДЫ

При включении в комплексное лечение больных ИБС с НЛО, резистентных к гиполипидемической ФТ, ЛТ в сочетании с РЛГ происходит коррекция нарушений липидного спектра крови. Это выражается в достоверном снижении уровня общего холестерина и липопротеидов низкой плотности,

повышении уровня липопротеидов высокой плотности, достоверном снижении коэффициента атерогенности и триглицеридов. Эти положительные сдвиги благоприятно

влияют на функциональное состояние больных, о чем свидетельствует повышение ТКФН, что указывает на восстановление резерва ССС.

## Литература

1. Ачилов А. А., автор. Способ профилактики, лечения и регрессии гипертонической болезни, атеросклероза, ишемической болезни сердца, недостаточности кровообращения. Патент РФ № 2245700. 10.02.2005.
2. Ачилов А. А., Баранов А. В., Ачилова Ш. А., Лебедева О. Д., Корнев А. И., Айрапетова Т. Л. Оптимизация комплексного лечения больных с тяжелой степенью артериальной гипертензии. Клиническая геронтология. 2021; 27 (1–2): 76–83.
3. Ачилов А. А., автор. Способ разгрузки работы сердца, увеличения кровотока, восстановления и сохранения общей и резервной обменной поверхности капилляров в различных областях организма на уровне регионарной гемодинамики. Евразийский патент № 004621 от 24.06.2004.
4. Карпов Ю. А. Как реализовать курс на усиление контроля холестерина липопротеидов низкой плотности в снижении сердечно-сосудистого риска? Атмосфера. Новости кардиологии. 2021; 1: 3–12.
5. Карпов Ю. А. Эффективность и безопасность достижения новых низких целевых уровней холестерина липопротеидов низкой плотности: роль комбинированной терапии. Атмосфера. Новости кардиологии. 2021; 2: 3–11.
6. Карпов Ю. А., Барбараш О. Л., Бощенко А. А., Кашталап В. В., Кухарчук В. В. и др. Евразийские клинические рекомендации по диагностике и лечению стабильной ишемической болезни сердца (2020–2021). Евразийский кардиологический журнал. 2021; № 3 (36): 54–93.
7. Giugliano RP, Pedersen TR, Park JG, et al. Clinical efficacy and safety of achieving very low LDL-cholesterol concentrations with the PCSK9 inhibitor evolocumab: a prespecified secondary analysis of the FOURIER trial. The Lancet. 2017; 390 (10106): 1962–71. DOI: 10.1016/S0140-6736(17)32290-0.
8. Bhatt DL, Steg PG, Miller M, et al. Cardiovascular risk reduction with icosapent ethyl for hypertriglyceridemia. New England Journal of Medicine. 2019; 380 (1): 11–22. DOI: 10.1056/NEJMoa1812792.
9. Cholesterol Treatment Trialists' Collaboration. Efficacy and safety of statin therapy in older people: a meta-analysis of individual participant data from 28 randomised controlled trials. The Lancet. 2019; 393 (10170): 407–15. DOI: 10.1016/S0140-6736(18)31942-1.
10. Rohit D, Shankar J. Comparative Study of Atorvastatin and Rosuvastatin in Combination with Fenofibrate in mixed Hyperlipidemia. Int J Pharmacol and Clin Sci. 2016; 5 (1): 25–31.
11. Lee J, Egolom U, Parihar H, et al. Effect of Ezetimibe Added to High-Intensity Statin Therapy on Low-Density Lipoprotein Cholesterol Levels: A Meta-Analysis. Cardiol Res. 2021; 12 (2): 98–108. DOI: 10.14740/cr1224.
12. Ray KK, Reeskamp LF, Laufs U, et al. Combination lipid-lowering therapy as first-line strategy in very high-risk patients. Eur Heart J. 2022; 43 (8): 830–3. DOI: 10.1093/eurheartj/ehab718.
13. Burnett H, Fahrback K, Cichewicz A, et al. Comparative efficacy of non-statin lipidlowering therapies in patients with hypercholesterolemia at increased cardiovascular risk: a network meta-analysis. Curr Med Res Opin. 2022; 38 (5): 777–84. DOI: 10.1080/03007995.2022.2049164.
14. Khan SA, Naz A, Qamar Masood M, Shah R. Meta-Analysis of Inclisiran for the Treatment of Hypercholesterolemia. Am J Cardiol. 2020; 134: 69–73. DOI: 10.1016/j.amjcard.2020.08.018.
15. Lloyd-Jones DM, Morris PB, Ballantyne CM, et al. 2022 ACC Expert Consensus Decision Pathway on the Role of Nonstatin Therapies for LDL-Cholesterol Lowering in the Management of Atherosclerotic Cardiovascular Disease Risk: A Report of the American College of Cardiology Solution Set Oversight Committee. J Am Coll Cardiol. 2022; 80 (14): 1366–418. DOI: 10.1016/j.jacc.2022.07.006.
16. Кухарчук В. В., Ежов М. В., Сергиенко И. В., Арабидзе Г. Г., Бубнова М. Г. и др. Диагностика и коррекция нарушений липидного обмена с целью профилактики и лечения атеросклероза. Российские рекомендации, VII пересмотр. Атеросклероз и дислипидемии. 2020; 1 (38): 7–40.
17. Moriarty PM, Thompson PD, Cannon CP, et al. Efficacy and safety of alirocumab vs ezetimibe in statin-intolerant patients, with a statin rechallenge arm: the ODYSSEY ALTERNATIVE randomized trial. Journal of clinical lipidology. 2015; 9 (6): 758–69. DOI: 10.1016/j.jacl.2015.08.006.
18. Nissen SE, Stroes E, Dent-Acosta RE, et al. Efficacy and tolerability of evolocumab vs ezetimibe in patients with muscle-related statin intolerance: the GAUSS-3 randomized clinical trial. Jama. 2016; 315 (15): 1580–90. DOI: 10.1001/jama.2016.3608.
19. Schreml J, Gouni-Berthold I. Role of anti-PCSK9 antibodies in the treatment of patients with statin intolerance. Current medicinal chemistry. 2018; 25 (13): 1538–48. DOI: 10.2174/0929867324666170616111647.
20. Амиров Н. Б. Механизмы терапевтического лазерного воздействия в клинике внутренних болезней (обзор литературы). Иероглиф. 2002; 5 (20): 27–34.
21. Амиров Н. Б., Абдрахманова А. И., Ахунова С. Ю., Галеев А. А., Сердюк И. Л. Ишемическая болезнь сердца в общей врачебной практике: Диагностика, и комплексная медикаментозно-лазерная терапия. Казань: Казанский государственный медицинский университет, 2006; 144 с.
22. Амиров Н. Б. Низкоинтенсивное лазерное излучение при лечении ишемической болезни сердца. Фундаментальные исследования. 2008; 5: 14–6.
23. Амиров Н. Б., Абдрахманова А. И. Современные представления о механизмах лазерного воздействия. Вестник современной клинической медицины. 2015; 8 (5): 7–12.
24. Абдрахманова А. И., Амиров Н. Б. Применение лазерной терапии в лечении ишемической болезни сердца. Вестник современной клинической медицины. 2019; 12 (6): 77–82. DOI: 10.20969/VSKM.2019.12(6).77-82.
25. Ачилов А. А., Баранов А. В., Ачилова Ш. А., Карандашов В. И., Гладыко О. В. Применение низкоэнергетической лазеротерапии и разгрузочной лечебной гимнастики в комплексном лечении тяжелой степени артериальной гипертензии. Лазерная медицина. 2018; 22 (4): 6–10.
26. Бобровницкий И. П., Нагорнев С. Н., Яковлев М. Ю., Уянаева А. И., Худов В. В. и др. Методология персонализированной немедикаментозной профилактики распространенных метеозависимых заболеваний системы кровообращения как основа активного здорового долголетия у населения России. Вестник восстановительной медицины. 2017; 1 (77): 72–8.
27. Разумов А. Н. О достижении национальных целей развития российской федерации на период до 2024 г. в части влияния санаторно-курортного оздоровления, восстановительного лечения и медицинской науки на здоровье сбережение населения. Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физической культуры. 2019; 96 (2–2): 5–9.
28. Разумов А. Н. Восстановительная медицина как качественно новый уровень современного здравоохранения. Лечебное дело: научно-практический терапевтический журнал. 2018; 1 (59): 55–63.
29. Оганов Р. Г., Масленникова Г. Я., Имаева А. Э. Профилактика неинфекционных заболеваний в деятельности партнерства северного измерения по здравоохранению и социальному благополучию: настоящее и будущее. Профилактическая медицина. 2019; 22 (1): 5–11.
30. Разумов А. Н., Котенко К. В., Корчажкина Н. Б. Стратегия и современные технологии оздоровления населения



- Российской Федерации. Главврач. 2016; 10: 6–25.
31. Оганов Р. Г. Значение эпидемиологических исследований и доказательной медицины для клинической практики. Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2015; 14 (4): 4–7.
  32. Кобалава Ж. Д., Конради А. О., Недогода С. В. Артериальная гипертензия у взрослых. Клинические рекомендации 2020. Российский кардиологический журнал. 2020; 25 (3): 149–218.
  33. Ачилов А. А., Алмазов И. И., Куликова Т. В., Борисова Г. А., Сидоренко Б. А. Состояние микроциркуляторного русла, гемоперфузии и кислородного режима ткани у больных ишемической болезнью сердца со стенокардией. Тер. Архив. 1984; 6: 39–43.

## References

1. Achilov AA, inventor. Method for preventing, treating and regressing hypertonic disease, atherosclerosis, ischemic cardiac disease, circulatory insufficiency. Russian Federation patent № 2245700. 10.02.2005. Russian.
2. Achilov AA, Baranov AV, Achilova ShA, Lebedeva OD, Kornev OD, Airapetova TL. Optimization of complex treatment of patients with severe arterial hypertension. Clin Gerontol. 2021; 27 (1–2): 76–83. Russian.
3. Achilov AA, inventor. Method for preventing, treating and regressing hypertonic disease, atherosclerosis, ischemic cardiac disease, circulatory insufficiency. Evraziyskiy patent № 004621 от 24.06.2004. Russian.
4. Karpov YuA. How to enhance control of low-density lipoprotein cholesterol in reducing cardiovascular risk? Atmosfera. Novosti kardiologii. 2021; 1: 3–12. Russian.
5. Karpov YuA. Efficacy and safety of achieving novel low-density lipoprotein cholesterol target levels: the role of combination therapy. Atmosfera. Novosti kardiologii. 2021; 2: 3–11. Russian.
6. Karpov YuA, Barbarash OL, Boschenko AA, Kashtalov VV, Kukharchuk VV, et al. Eurasian Guidelines for the diagnostics and management of stable coronary artery disease (2020–2021). Eurasian heart journal. 2021; № 3 (36): 54–93. Russian.
7. Giugliano RP, Pedersen TR, Park JG, et al. Clinical efficacy and safety of achieving very low LDL-cholesterol concentrations with the PCSK9 inhibitor evolocumab: a prespecified secondary analysis of the FOURIER trial. The Lancet. 2017; 390 (10106): 1962–71. DOI: 10.1016/S0140-6736(17)32290-0.
8. Bhatt DL, Steg PG, Miller M, et al. Cardiovascular risk reduction with icosapent ethyl for hypertriglyceridemia. New England Journal of Medicine. 2019; 380 (1): 11–22. DOI: 10.1056/NEJMoa1812792.
9. Cholesterol Treatment Trialists' Collaboration. Efficacy and safety of statin therapy in older people: a meta-analysis of individual participant data from 28 randomised controlled trials. The Lancet. 2019; 393 (10170): 407–15. DOI: 10.1016/S0140-6736(18)31942-1.
10. Rohit D, Shankar J. Comparative Study of Atorvastatin and Rosuvastatin in Combination with Fenofibrate in mixed Hyperlipidemia. Int J Pharmacol and Clin Sci. 2016; 5 (1): 25–31.
11. Lee J, Egolom U, Parihar H, et al. Effect of Ezetimibe Added to High-Intensity Statin Therapy on Low-Density Lipoprotein Cholesterol Levels: A Meta-Analysis. Cardiol Res. 2021; 12 (2): 98–108. DOI: 10.14740/cr1224.
12. Ray KK, Reeskamp LF, Laufs U, et al. Combination lipid-lowering therapy as first-line strategy in very high-risk patients. Eur Heart J. 2022; 43 (8): 830–3. DOI: 10.1093/eurheartj/ehab718.
13. Burnett H, Fahrback K, Cichewicz A, et al. Comparative efficacy of non-statin lipidlowering therapies in patients with hypercholesterolemia at increased cardiovascular risk: a network meta-analysis. Curr Med Res Opin. 2022; 38 (5): 777–84. DOI: 10.1080/03007995.2022.2049164.
14. Khan SA, Naz A, Qamar Masood M, Shah R. Meta-Analysis of Inclisiran for the Treatment of Hypercholesterolemia. Am J Cardiol. 2020; 134: 69–73. DOI: 10.1016/j.amjcard.2020.08.018.
15. Lloyd-Jones DM, Morris PB, Ballantyne CM, et al. 2022 ACC Expert Consensus Decision Pathway on the Role of Nonstatin Therapies for LDL-Cholesterol Lowering in the Management of Atherosclerotic Cardiovascular Disease Risk: A Report of the American College of Cardiology Solution Set Oversight Committee. J Am Coll Cardiol. 2022; 80 (14): 1366–418. DOI: 10.1016/j.jacc.2022.07.006.
16. Kukharchuk VV, Ezhov MV, Sergienko IV, Arabidze GG, Bubnova MG, et al. Diagnostics and correction of lipid metabolism disorders in order to prevent and treat of atherosclerosis Russian recommendations VII revision. The Journal of Atherosclerosis and Dyslipidemias. 2020; 1 (38): 7–40. Russian.
17. Moriarty PM, Thompson PD, Cannon CP, et al. Efficacy and safety of alirocumab vs ezetimibe in statin-intolerant patients, with a statin rechallenge arm: the ODYSSEY ALTERNATIVE randomized trial. Journal of clinical lipidology. 2015; 9 (6): 758–69. DOI: 10.1016/j.jacl.2015.08.006.
18. Nissen SE, Stroes E, Dent-Acosta RE, et al. Efficacy and tolerability of evolocumab vs ezetimibe in patients with muscle-related statin intolerance: the GAUSS-3 randomized clinical trial. Jama. 2016; 315 (15): 1580–90. DOI: 10.1001/jama.2016.3608.
19. Schreml J, Gouni-Berthold I. Role of anti-PCSK9 antibodies in the treatment of patients with statin intolerance. Current medicinal chemistry. 2018; 25 (13): 1538–48. DOI: 10.2174/0929867324666170616111647.
20. Amirov NB. Mekhanizmy terapevticheskogo lazernogo vozdeystviya v klinike vnutrennikh bolezney (obzor literatury). Ieroglif. 2002; 5 (20): 27–34. Russian.
21. Amirov NB, Abdrakhmanova AI, Akhunova SYu, Galeev AA, Serdyuk IL. Ishemicheskaya bolezni' serdtsa v obschey vrachebnoy praktike: Diagnostika, i kompleksnaya medikamentozno-lazernaya terapiya. Kazan': Kazanskiy gosudarstvennyy meditsinskiy universitet, 2006; 144 p. Russian.
22. Amirov NB. Nizkointensivnoe lazernoe izluchenie pri lechenii ishemicheskoy bolezni serdtsa. Fundamental'nye issledovaniya. 2008; 5: 14–6. Russian.
23. Amirov NB, Abdrakhmanova AI. Modern concepts on the mechanisms of low level laser therapy. Bulletin of Contemporary Clinical Medicine. 2015; 8 (5): 7–12. Russian.
24. Abdrakhmanova AI, Amirov NB. Laser therapy in ischemic heart disease treatment. The Bulletin of Contemporary Clinical Medicine. 2019; 12 (6): 77–82. DOI: 10.20969/VSKM.2019.12(6).77-82. Russian.
25. Achilov AA, Baranov AV, Achilova ShA, Karandashov VI, Gladko OV. Low-level laser therapy and unloading curative gymnastics in the complex treatment of severe arterial hypertension. Laser Medicine. 2018; 22 (4): 6–10. Russian.
26. Bobrovnikskii IP, Nagomev SN, Yakovlev MYu, Uyanaeva AI, Khudov VV, et al. Methodology of personalized non-pharmacological prevention weather sensitivity common diseases of the circulatory system as the basis for an active healthy longevity. Bulletin of Rehabilitation Medicine. 2017; 1 (77): 72–8. Russian.
27. Razumov AN. O dostizhenii natsional'nykh tseley razvitiya rossiyskoy federatsii na period do 2024 g. v chasti vliyaniya sanatorno-kurortnogo ozdorovleniya, vosstanovitel'nogo lecheniya i meditsinskoy nauki na zdorov'e sberezhenie naseleniya. Problems of Balneology, Physiotherapy and Exercise Therapy. 2019; 96 (2–2): 5–9. Russian.
28. Razumov AN. Recovery medicine as a qualitative new level of modern healthcare. Lechebnoe delo: nauchno-prakticheskiy terapevticheskiy zhurnal. 2018; 1 (59): 55–63. Russian.
29. Oganov RG, Maslennikova Gla, Imaeva AE. Prevention of noncommunicable diseases in the activities of the Northern Dimension Partnership in Health and Social Well-being: present and future. Profilakticheskaya Meditsina. 2019; 22 (1): 5–11. Russian.
30. Razumov AN, Kotenko KV, Korchazhkina NB. Strategy and modern technology improvement of the population of the Russian Federation. Chief Medical Officer. 2016; 10: 6–25. Russian.
31. Oganov RG. Importance of the epidemiologic studies and evidence-based medicine for clinical practice. Cardiovascular Therapy and Prevention. 2015; 14 (4): 4–7. Russian.
32. Kobalava ZhD, Konradi AO, Nedogoda SV. Arterial hypertension in adults. Clinical guidelines 2020. Russian Journal of Cardiology. 2020; 25 (3): 149–218. Russian.
33. Achilov AA, Almazov II, Kulikova TV, Borisova GA, Sidorenko BA. Sostoyanie mikrotsirkulyatornogo rusla, gemoperfuzii i kislorodnogo rezhima tkani u bol'nykh ishemicheskoy bolezni'yu serdtsa so stenokardiy. Ter. Arkhiv. 1984; 6: 39–43. Russian.

## РЕЗУЛЬТАТЫ УЛЬТРАЗВУКОВОГО СКРИНИНГА ДИСПЛАЗИИ ТАЗОБЕДРЕННЫХ СУСТАВОВ У ДЕТЕЙ ГРУДНОГО ВОЗРАСТА

К. В. Митряшов<sup>1</sup>, И. В. Митряшов<sup>2</sup>✉<sup>1</sup> Университет «Синергия», Москва, Россия<sup>2</sup> Приморский краевой онкологический диспансер, Владивосток, Россия

Дисплазия тазобедренного сустава (ДТБС) — врожденное недоразвитие тазобедренного сустава (ТБС), наиболее распространенное ортопедическое заболевание новорожденных, встречающееся с частотой 5–20%. Поздно выявленная ДТБС — основная причина развития коксартроза в молодом возрасте. Целью исследования было провести анализ результатов ультразвукового скрининга ДТБС у детей грудного возраста. В исследование вошли 860 доношенных детей возрастом 1–3 месяцев (446 мальчиков (51,9%) и 414 девочек (48,1%)). Всем новорожденным выполняли ультразвуковой скрининг ТБС в возрасте 1 месяц и контрольное исследование в 3 месяца (методика по Графу). Для сравнения данных использовали критерий ( $\chi^2$ ) и  $p < 0,05$ . В первый месяц жизни у 685 (79,7%) новорожденных суставы были нормальной или транзиторной формы, у 161 (18,7%) выявлена физиологическая незрелость и у 14 (1,6%) — патология ТБС, у девочек незрелость и патология ДТБС встречалась чаще — в 113 (26,3%) случаев, чем у мальчиков — 62 (13,9%). Выявлена связь между тазовым предлежанием плода и вероятностью развития ДТБС ( $p < 0,001$ ). К трем месяцам у большинства детей с УЗИ-признаками ДТБС произошло спонтанное улучшение, показатели нормальных ДТБС выросли с 79,8 до 94,5%. УЗИ-скрининг — эффективный метод, который позволяет выявлять ДТБС с первых дней жизни ребенка. Факторами риска развития ДТБС остаются женский пол и ягодичное предлежание, вне зависимости от числа родов. У большинства детей улучшение происходит спонтанно или при назначении расслабляющего массажа.

**Ключевые слова:** дисплазия тазобедренных суставов, ультразвуковой скрининг новорожденных, сонография тазобедренных суставов, врожденный вывих бедра

**Благодарности:** д. м. н., профессору школы медицины ДВФУ В. В. Усову за научное руководство и наставничество в научной работе.

**Вклад авторов:** К. В. Митряшов — разработка концепции и дизайна исследования, сбор материала, анализ полученных данных, подготовка текста, редактирование; И. В. Митряшов — сбор материала, статистическая обработка данных, анализ полученных данных, подготовка текста.

**Соблюдение этических стандартов:** исследование проводили в соответствии с Приказом МЗ РФ от 28.04.2007 № 307 «О стандарте диспансерного (профилактического) наблюдения ребенка в течение первого года жизни». На проведение УЗИ родители дали добровольное информированное согласие. Разрешение этического комитета не требовалось.

✉ **Для корреспонденции:** Константин Владимирович Митряшов  
Ленинградский пр-т, д. 80, г. Москва, 125190, Россия; mark498@yandex.ru

**Статья получена:** 15.02.2024 **Статья принята к печати:** 19.03.2024 **Опубликована онлайн:** 31.03.2024

**DOI:** 10.47183/mes.2024.013

## RESULTS OF ULTRASOUND SCREENING FOR HIP DYSPLASIA IN INFANTS

Mityashov KV<sup>1</sup>, Mityashov IV<sup>2</sup> ✉<sup>1</sup> Synergy University, Moscow, Russia<sup>2</sup> Primorsky Regional Oncology Center, Vladivostok, Russia

Hip dysplasia (HD) represents the congenital underdevelopment of the hip joint (HJ) being the most common orthopedic problem of newborns having the prevalence of 5–20%. Late HD detection is the main cause of coxarthrosis in young adulthood. The study was aimed to assess the results of ultrasound screening for HD in infants. The study involved 860 full-term infants aged 1–3 months (446 boys (51.9%) and 414 girls (48.1%)). All newborns underwent ultrasound imaging of the hip joint at the age of 1 month and the follow-up examination at the age of 3 months (Graf method). The  $\chi^2$  test and  $p < 0.05$  were used to compare the data. In their first year of life, 685 newborns (79.7%) had joints of normal or transitory shape, 161 (18.7%) showed physiological immaturity and 14 (1.6%) showed the HJ abnormality; the HJ immaturity and abnormality were more prevalent in girls (113 cases (26.3%)) than in boys (62 cases (13.9%)). The relationship between the breech presentation and the likelihood of developing HD was revealed ( $p < 0.001$ ). Spontaneous improvement by the age of 3 months took place in the majority of infants having the ultrasound signs of HD, the rate of normal HJ increased from 79.8 to 94.5%. Ultrasound screening is an effective method allowing one to detect HD starting from the first days of the child's life. The risk factors of HD are still female sex and breech presentation, regardless of the number of births. Spontaneous improvement following prescription of relaxing massage occurs in the majority of children.

**Keywords:** hip dysplasia, ultrasound screening of newborns, hip sonography, congenital hip dislocation

**Acknowledgements:** the authors would like to thank V.V. Usov, Dr Sci. (Med), Professor at the Medical School of the Far Eastern Federal University, for academic supervision and mentorship in research work.

**Author contribution:** Mityashov KV — developing the study concept and design, data acquisition, analysis of the results, manuscript writing, editing; Mityashov IV — data acquisition, statistical data processing, analysis of the results, manuscript writing.

**Compliance with the ethical standards:** the study was conducted in accordance with the Order of the Ministry of Health of the Russian Federation dated 28.04.2007 No. 307 "On the Standard of Dispensary (Preventive) Observation of a Child during His/Her First Year of Life". Parents submitted the informed consent to ultrasound. No approval by the Ethics Committee was required.

✉ **Correspondence should be addressed:** Konstantin V. Mityashov  
Leningradsky prospect, 80, Moscow, 125190, Russia; mark498@yandex.ru

**Received:** 15.02.2024 **Accepted:** 19.03.2024 **Published online:** 31.03.2024

**DOI:** 10.47183/mes.2024.013

Дисплазия тазобедренного сустава (ДТБС) — врожденное недоразвитие тазобедренного сустава (ТБС), при котором деформация суставных концов костей проявляется в изменении формы и глубины вертлужной впадины, шеечно-диафизарного угла и проксимального отдела бедренной кости. ДТБС относится к числу наиболее распространенных ортопедических заболеваний новорожденных и составляет от 12 до 22% всех дисплазий скелетно-мышечной системы. Частота данной патологии в различных популяциях колеблется от 50 до 200 случаев на 1000 новорожденных (5–20%) [1]. Дефекты развития тазобедренного сустава после поздней диагностики или неадекватного консервативного лечения ДТБС — основная причина развития диспластического коксартроза в молодом возрасте (10–60% случаев) [2]. Существует проблема уточнения и конкретизации эпидемиологических данных по этому заболеванию, связанная с отсутствием официальных универсальных критериев и классификационной концепции ДТБС [3]. При физиологической незрелости ТБС у части детей после 3 месяцев сохраняются явления дисплазии (сустав 2 Б по Графу) без децентрации головки бедра и каких-либо клинических проявлений. В отношении лечебной тактики у этих пациентов продолжается дискуссия [4, 5].

Цель данного исследования — проанализировать результаты ортопедического скрининга детей грудного возраста с использованием ультразвуковой диагностики.

## ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Основу нашего исследования составили наблюдения за 860 детьми в возрасте от 1 до 3 месяцев, прикрепленных к детской городской поликлинике № 5 г. Владивостока, которым в период с декабря 2021 по август 2023 г. в рамках диспансерного обследования выполняли ультразвуковую скрининг ТБС в возрасте 1 месяц (использовали методику по Графу). Повторный осмотр детского травматолога-ортопеда и контрольное УЗИ (использовали УЗИ-сканер экспертного класса Mindray DC-70 Pro (Mindray; Китай)) ТБС было выполнено в возрасте 3 месяцев. Из начальной группы в 860 человек в возрасте 3 месяцев был осмотрен 791 ребенок, остальные были с территории прикрепления к поликлинике. Критерии включения: в исследование включили доношенных детей (срок беременности — от 38 до 42 недель) обоюбого пола — 446 мальчиков (51,9%) и 414 девочек (48,1%). Критерии исключения: исключены дети с гестационным возрастом менее 37 недель и дети от переношенной беременности более 42 недель. У 822 детей (95,6%) было головное, у 38 (4,4%) — тазовое предлежание (разделение больных на группы по типу ягодичного предлежания не выполняли). Было отмечено, что ягодичное предлежание у девочек встречалось чаще 25 (6,0%), чем у мальчиков 13 (2,9%). Роды были первыми в 335 (38,9%) случаях, вторые — 393 (45,7%), третьи и более — в 132 (15,4%) наблюдений. Данные представлены в абсолютных цифрах и процентах. Для сравнения данных использовали критерий Пирсона ( $\chi^2$ ). Статистически значимыми признавали различия при  $p < 0,05$ . Для обработки данных использовали универсальный статистический пакет STADIA — 8.0 (А. П. Кулаичев; Россия).

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

При исследовании оценивали гиперэхогенные костные структуры (костная часть крыши вертлужной впадины,

наружный костный выступ, наружный отдел подвздошной кости, бедренная кость) и гипоэхогенные структуры (головка бедренной кости, лимбус, Y-образный хрящ). Взаимоотношение элементов сустава определяли по углу костной крыши (угол  $\alpha$ ) и углу хрящевой крыши (угол  $\beta$ ). В зависимости от величины углов и положения головки бедренной кости по Р. Графу выделяют четыре типа ТБС [3, 6]:

- 1 а — зрелый ТБС (угол  $\alpha > 60^\circ$ , угол  $\beta < 55^\circ$ );
- 1 б — транзиторная форма (угол  $\alpha > 60^\circ$ , угол  $\beta > 55^\circ$ );
- 2 а — физиологическая незрелость до 3 месяцев (угол  $\alpha = 59\text{--}50^\circ$ , угол  $\beta > 55^\circ$ );
- 2 б — ДТБС (неглубокая вертлужная впадина, угол  $\alpha = 59\text{--}50^\circ$ , угол  $\beta > 55^\circ$ ) у детей старше 3 месяцев;
- 2 с — тяжелая ДТБС, предвывих (угол  $\alpha = 43\text{--}49^\circ$ , угол  $\beta 56\text{--}77^\circ$ );
- тип D — тяжелая ДТБС, начальная степень децентрации;
- 3 а, б — нецентрированный ТБС (подвывих) (угол  $\alpha < 43^\circ$ , угол  $\beta < 43^\circ$ );
- 4 — тяжелый вывих ТБС.

В проведенном исследовании в первый месяц жизни у 685 (79,7%) новорожденных был тип сустава 1 а, б (зрелый или транзиторный ТБС), у 161 (18,7%) детей отмечена физиологическая незрелость, тип сустава 2 а (сглаженность костного края, расширение и укорочение лимбуса, мелкое, уплощенное дно вертлужной впадины). Патология была обнаружена у 14 (1,6%) новорожденных. В 10 случаях выявлен тип сустава 2 с (децентрация головки бедра только при проведении функциональных проб, предвывих, отдельно стабильные и нестабильные суставы не выделяли), в трех случаях (в дальнейшем подтвержденных клиническими и рентгенографическими данными) был установлен подвывих ТБС — тип сустава 3 а, б (децентрированный сустав). У одного ребенка был выявлен врожденный вывих бедра — тип сустава 4. Данный пациент был направлен на стационарное лечение и выбыл из дальнейшего исследования.

Следует отметить, что у девочек незрелость и патология ДТБС встречалась чаще — 113 (27,3%) случаев, чем у мальчиков — 62 (13,9%) случая. У детей, рожденных в тазовом предлежании, незрелость ДТБС была выявлена в 18 случаях (47,3%), при головном предлежании — в 157 (13,9%) случаях соответственно. Была обнаружена статистически значимая связь между женским полом ребенка, тазовым предлежанием плода и вероятностью развития ДТБС ( $p < 0,001$ ). В то же время не была отмечена зависимость частоты обнаружения ДТБС среди первородящих и повторнородящих ( $p = 0,495$ ) (табл. 1).

В зависимости от показателей ультразвуковой диагностики ТБС выбирали рекомендованный алгоритм ведения ребенка [6]. Детям с типом суставов 2 а, б и 3 а, б (175 (20,3%) пациентов) проводили курс массажа, а при наличии приводящей контрактуры и децентрации головки бедренной кости использовали фиксирующие ортезы. В возрасте 3 месяцев выполнили контрольное исследование ТБС. Патология (тип сустава 2 б, 3 а, б): сглаженность костного края, расширение и укорочение лимбуса, мелкое, уплощенное дно вертлужной впадины, децентрация головки бедренной кости, угол  $\alpha < 59^\circ$ , угол  $\beta > 55^\circ$  — сохранялась у 48 (6,1%) детей (табл. 2).

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Полученные нами данные согласуются с литературными источниками: нефизиологическое расположение плода в матке из-за прижатия ног ребенка (тазовое предлежание),

Таблица 1. Результаты УЗИ в возрасте 1 месяца

Признак	Тип ТБС (по Графу)			Критерий $\chi^2$ и уровень значимости (число степеней свободы 2)
	1 a, b	2 a, b	2 c; 3 a, b; 4	
Пол (бас., / %)				
Мальчики (n = 446)	384 (86,1)	59 (13,2)	3 (0,7)	$\chi^2 = 24,957, p < 0,001$ , связь значима
Девочки (n = 414)	301 (72,7)	102 (24,6)	11 (2,7)	
Предлежание (бас., / %)				
Головное (n = 822)	665 (80,4)	147 (17,9)	10 (1,7)	$\chi^2 = 29,955, p < 0,001$ , связь значима
Тазовое (n = 38)	20 (52,7)	14 (36,8)	4 (10,5)	
Роды (бас., / %)				
Первые (n = 335)	260 (77,6)	69 (20,6)	6 (1,8)	$\chi^2 = 1,408, p = 0,495$ , связь не значима
Повторные (n = 525)	425 (81,0)	92 (17,5)	8 (1,5)	
Всего	685 (79,7)	161 (18,7)	14 (1,6)	860 (100)

особенно в условиях маловодия, служит прогностическим признаком и увеличивает вероятность развития ДТБС [1, 6, 7]. Подтвердился тот факт, что ДТБС чаще встречается у девочек. Это можно объяснить воздействием дополнительных эстрогенов, продуцируемых плодом женского пола, что усиливает расслабление связочного аппарата. В то же время нами не выявлено связи развития ДТБС с числом родов.

У большинства детей с УЗИ признаками ДТБС улучшение происходит спонтанно или при назначении расслабляющего массажа [8, 9]. Так, по данным нашего исследования, к возрасту 3 месяца тип сустава 1 а (норма) был выявлен у 743 детей. За два месяца произошло увеличение группы детей с нормальными тазобедренными суставами: с 79,7% при первом исследовании до 93,9% при контроле в 3 месяца. Назначение длительной иммобилизации таким детям может вызвать некроз головки бедренной кости, а интенсивных курсов массажа — усилить нестабильность сустава.

По степени выраженности симптомов и прогнозу ДТБС подразделяют на предвывих, подвывих и вывих бедра. Врожденный вывих бедра наблюдают у 0,1–0,4% новорожденных, а предвывих и подвывих — в 10 раз чаще [10, 11]. В проведенном исследовании врожденный вывих бедра был диагностирован у 1 (0,1%) новорожденных. Не исключена вероятность того, что детей с врожденным вывихом бедра сразу из родильного отделения переводят в специализированное ортопедическое отделение, поэтому они не попали в нашу статистику.

Диагностика ДТБС основывается на совокупности ряда клинических симптомов — провокационный Barlow-тест, симптом вправления «щелчка» Маркса (Ortolani), асимметрия бедренных и ягодичных складок, ограничение отведения бедра, укорочение нижней конечности, избыточные ротационные движения. У детей раннего возраста, за исключением клинических тестов нестабильности и укорочения конечности, диагностическая информативность выявляемых симптомов составляет 50–80%, так как нередко они встречаются у детей без

недоразвития ТБС. У новорожденных не всегда удается заметить разность в длине конечности, а выполнение провокационных тестов требует хорошего навыка. Высокой информативностью обладает лучевая диагностика, но из-за того, что костная система ТБС новорожденных состоит частично из хрящевой ткани, рентгенологическая диагностика патологии тазобедренного сустава у детей первых месяцев жизни затруднена. Методика УЗИ ТБС у новорожденных лишена этих недостатков, и ее стали широко применять с 80-х гг. XX века [1, 4, 9, 12]. Метод УЗИ позволяет диагностировать наиболее распространенную, встречающееся в 62% случаев, ацетабулярную ДТБС. Стабильные дисплазии проксимального отдела бедренной кости (имеют место нарушения, не приводящие к децентрации головки бедра — соха valga и соха vara, укорочение шейки бедренной кости, ротационная дисплазия) мало поддаются консервативной терапии и требуют оперативного лечения. При ацетабулярной дисплазии в раннем возрасте деформацию ТБС успешно исправляют адекватным консервативным лечением (массаж, ортопедические уклады, закрытое вправление вывиха). При выявлении данной патологии у детей возрастом до 3 месяцев хороших результатов удается достигнуть в 97% случаев [11].

Вместе с тем есть определенные сложности с интерпретацией результатов сонографии. Травматологи-ортопеды при врожденном подвывихе и вывихе бедра (соответствует типу ТБС 3 a, b — 4 по Графу), придерживаются единой лечебной тактики — раннее ортопедическое лечение, в то время как алгоритм тактики ведения ребенка при типе сустава 2 b, в частности, длительность лечения, остается предметом дискуссий [1, 6, 12]. Сохраняющиеся незначительные изменения головки и свода вертлужной впадины без явной нестабильности сустава могут в дальнейшем приводить к появлению ортопедической патологии нижних конечностей. По нашему мнению, в данной ситуации для выбора лечебной тактики приоритетными становятся данные, полученные при лучевых методах диагностики и контрольных осмотрах ребенка.

Таблица 2. Сравнение результатов УЗИ в возрасте 1 и 3 месяца

Месяцы жизни	Тип ТБС (по Графу)		
	1 a, b	2 a, b	2 c, 3 a, b; 4
1 месяц (n = 860)	685 (79,7)	161 (18,7)	14 (1,6)
3 месяца (n = 791)	743 (93,9)	45 (5,7)	3 (0,4)

Примечание:  $\chi^2 = 72,036$  (число степеней свободы 2),  $p < 0,001$ , связь значима.



## ВЫВОДЫ

Сонография в грудном возрасте представляет собой высокоинформативный метод диагностики ДТБС в связи со значительной распространенностью патологии среди новорожденных, малой информативностью рентгенологических методов и неоднозначностью интерпретации данных осмотра. Анализ результатов ортопедического скрининга детей грудного возраста с использованием ультразвуковой диагностики

показал, что факторами риска развития ДТБС у детей остаются женский пол и ягодичное предлежание, вне зависимости от числа родов. У большинства детей с УЗИ признаками ДТБС улучшение происходит спонтанно или при назначении расслабляющего массажа. При сохраняющихся незначительных изменениях ТБС без явной нестабильности сустава для выбора лечебной тактики приоритетными становятся данные, полученные при лучевых методах диагностики и контрольных осмотрах ребенка.

## Литература

1. Миронов С. П., редактор. Клинические рекомендации. Травматология и ортопедия детского и подросткового возраста. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2017; 416 с.
2. Кожевников В. В., Ворончихин Е. В., Григоричева Л. Г. и др. Показания и эффективность лечения детей с остаточной дисплазией тазобедренного сустава путем тройной остеотомии таза. *Детская хирургия*. 2017; 21 (4): 197–201. DOI: 10.18821/1560-9510-2017-21-4-197-201.
3. Рубашкин С. А., Сертакова А. В., Дохов М. М., Тимаев М. Х. Дегенеративные заболевания тазобедренных суставов у детей. *Ортопедия, травматология и восстановительная хирургия детского возраста*. 2018; 3: 78–86. DOI: 10.17816/PTORS6378-86.
4. Баиндурашвили А. Г., Чухраева И. Ю. Ультразвуковое исследование тазобедренных суставов в структуре ортопедического скрининга новорожденных. *Травматология и ортопедия России*. 2010; 3: 171–8.
5. Камоско М. М., Познович М. С. Методы лучевой диагностики патологии тазобедренного сустава у детей. *Ортопедия, травматология и восстановительная хирургия детского возраста*. 2015; 2: 32–41. DOI: 10.17816/PTORS3232-41.
6. Кожевников В. В., Пелеганчук В. А., Семенов А. Л., Батрак Ю. М. Дисплазия тазобедренного сустава у детей: пособие для врачей. Барнаул: Федеральный центр травматологии, ортопедии и эндопротезирования, 2021; 29 с.
7. Турдалиева Б. С., Аимбетова Г. Е., Крестьяшин В. М., Дуйсенов Н. Б., Исаев И. И. Прогностические признаки развития дисплазии тазобедренных суставов у детей. *Вестник АГИУВ*. 2020; 1: 58–63. DOI: 10.24411/1995-5871-2020-10066.
8. Ali AHA, Al Zahrani J, Elsayed AEA, Serhan OO. Role of Ultrasound in Evaluation of Developmental Dysplasia of the Hip in Infants. *Open Journal of Pediatrics*. 2017; 7: 1–12. DOI: 10.4236/ojped.2017.71001.
9. Кравченко Е. Л., Вострикова Т. А., Власова И. В. Ультразвуковой метод исследования в диагностике дисплазии тазобедренных суставов у детей. *Полиатравма*. 2010; 3: 51–61.
10. Макушин В. Д., Тепленький М. П. Рентгенологическая классификация врожденной дисплазии тазобедренного сустава. *Гений ортопедии*. 2010; 2: 103–8.
11. Холодарев В. А., Холодарев А. П., Ачкасов А. А. Консервативный метод лечения врожденного вывиха бедра у детей в возрасте до 3 лет. *Травма*. 2012; 1: 124–6.
12. Chavoshi M, Mirshahvalad SA, Mahdizadeh M, Zamani F. Diagnostic Accuracy of Ultrasonography Method of Graf in the detection of Developmental Dysplasia of the Hip: A Meta-Analysis and Systematic Review. *Arch Bone Jt Surg*. 2021; 9 (3): 297–305. DOI: 10.22038/abjs.2021.55292.2755.

## References

1. Mironov SP, editor. *Klinicheskie rekomendatsii. Travmatologiya i ortopediya detskogo i podrostkovogo vozrasta*. M.: GEOTAR-Media, 2017; p. 416. Russian.
2. Kozhevnikov VV, Voronchikhin EV, Grigoricheva LG, et al. Indications for and efficiency of treatment of children with residual hip dysplasia by triple pelvic osteotomy. *Russian Journal of Pediatric Surgery*; 21 (4): 197–201. DOI: 10.18821/1560-9510-2017-21-4-197-201. Russian.
3. Rubashkin SA, Sertakova AV, Dohov MM, Timaev MH. Degenerative hip disorders in children. *Pediatric Traumatology, Orthopaedics and Reconstructive Surgery*. 2018; 3: 78–86. DOI: 10.17816/PTORS6378-86. Russian.
4. Baidurashvili AG, Chukhraeva IYu. Ultrasonography of hip joints in structure of newborn orthopedic screening. *Traumatology and Orthopedics of Russia*. 2010; 3: 171–8. Russian.
5. Kamosko MM, Poznovich MS. Radiological diagnosis of hip joint abnormalities in children. *Pediatric Traumatology, Orthopaedics and Reconstructive Surgery*. 2015; 2: 32–41. DOI: 10.17816/PTORS3232-41. Russian.
6. Kozhevnikov VV, Pелеганчук VA, Semenov AL, Batrak YuM. *Displaziya tazobedrennogo sustava u detey: posobie dlya vrachey*. Barnaul: Federal'nyy tsentr travmatologii, ortopedii i endoprotezirovaniya, 2021; p. 29. Russian.
7. Turdaliyeva BS, Aimbetova GE, Krestyashin VM, Duysenov NB, Issayev NN. Prognostic signs for the development of hip diplasia in children. *Vestnik AGIUV*. 2020; 1: 58–63. DOI: 10.24411/1995-5871-2020-10066. Russian.
8. Ali AHA, Al Zahrani J, Elsayed AEA, Serhan OO. Role of Ultrasound in Evaluation of Developmental Dysplasia of the Hip in Infants. *Open Journal of Pediatrics*. 2017; 7: 1–12. DOI: 10.4236/ojped.2017.71001.
9. Kravchenko EL, Vostrikova TA, Vlasova IV. Ultrasound research method in diagnostics of hip joint dysplasia in children. *Polytrauma*. 2010; 3: 51–61. Russian.
10. Makushin VD, Tyoplenky MP. Roentgenological classification of the hip congenital dysplasia. *Genij Ortopedii*. 2010; 2: 103–8. Russian.
11. Kholodarev VA, Kholodarev AP, Achkasov AA. Konservativnyy metod lecheniya vrozhdennogo vyvikh bedra u detey v vozraste do 3 let. *Travma*. 2012; 1: 124–6. Russian.
12. Chavoshi M, Mirshahvalad SA, Mahdizadeh M, Zamani F. Diagnostic Accuracy of Ultrasonography Method of Graf in the detection of Developmental Dysplasia of the Hip: A Meta-Analysis and Systematic Review. *Arch Bone Jt Surg*. 2021; 9 (3): 297–305. DOI: 10.22038/abjs.2021.55292.2755.

## ЭКСПЕРТНАЯ ОЦЕНКА ТРЕБОВАНИЙ ДЛЯ ПРИСВОЕНИЯ КВАЛИФИКАЦИОННОЙ КАТЕГОРИИ ВРАЧАМ

В. М. Мишарин<sup>1</sup>, А. В. Кочубей<sup>2</sup>✉<sup>1</sup> Научно-исследовательский институт пульмонологии Федерального медико-биологического агентства, Москва, Россия<sup>2</sup> Академия постдипломного образования Федерального государственного бюджетного учреждения «Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий Федерального медико-биологического агентства», Москва, Россия

К недостаткам системы аттестации относится слабость нормативного регулирования, ориентированного на устаревшие представления о квалификации и формальные признаки профессионального развития. Для совершенствования системы аттестации часто предлагают объективизацию измерения профессиональной компетентности аттестуемых. Целью исследования было оценить требования к квалификации врачей на предмет их связи с квалификацией, возможности точного и полноценного измерения у аттестуемых. Проведена экспертная оценка 22 требований к категориям, утвержденным приказом Минздрава России от 31 августа 2023 г. № 458н, относительно четырех полей: их связи с квалификацией врача, выполнимости измерения (практичности), зависимости от компетентности члена аттестационной комиссии (объективности), возможности установить степень развития требуемых знаний, умений, навыков для каждой квалификационной категории (градации). Оценку проводили семь экспертов по шкале Стейпла от «–5» до «+5». Сумма баллов по полям: связь с квалификацией — 477, практичность — 316, объективность — –662, градация — –699. Имеется значимая разница оценок по всем требованиям и парам всех полей ( $p \leq 0,0001$ ), кроме пары «объективность» и «градация» ( $p = 0,103$ ). Общая сумма баллов большинства требований отрицательна из-за максимально низких оценок объективности и градации. По мнению экспертов, ни одно из утвержденных Приказом требований к квалификации не позволяет точно и полноценно определить квалификацию врача при аттестации.

**Ключевые слова:** аттестация, квалификационная категория, профессиональное развитие**Вклад авторов:** В. М. Мишарин — координация исследования, работа с литературой, анализ и интерпретация данных; А. В. Кочубей — идея, дизайн, статистический анализ, формулирование выводов, подготовка рукописи.✉ **Для корреспонденции:** Аделина Владимировна Кочубей  
Волоколамское шоссе, 91, Москва, 125371, Россия; kochoubeya@gmail.com**Статья получена:** 24.02.2024 **Статья принята к печати:** 21.03.2024 **Опубликована онлайн:** 30.03.2024**DOI:** 10.47183/mes.2024.014

## EXPERT ASSESSMENT OF THE REQUIREMENTS FOR ASSIGNING QUALIFICATION GRADES TO PHYSICIANS

Misharin VM<sup>1</sup>, Kochubey AV<sup>2</sup>✉<sup>1</sup> Research Institute of Pulmonology of the Federal Medical Biological Agency, Moscow, Russia<sup>2</sup> Academy of Postgraduate Education, Federal Scientific and Clinical Center of Specialized. Medical Assistance and Medical Technologies of the Federal Medical Biological Agency, Moscow, Russia

Shortcomings of the categorization system include weakness of the normative regulation oriented towards the outdated ideas about the qualification and formal features of professional development. It is often proposed to objectify measuring the professional competence of the subjects evaluated in order to improve the categorization system. The study was aimed to test the qualification requirements of physicians for the relationship with their qualification and the possibility of accurate full-fledged measurement of those in the evaluated subjects. We performed expert assessment of 22 requirements for grades approved by the Order of the Ministry of Health of the Russian Federation dated 31 August 2023 No. 458n relative to four items: their relationship with the physician's qualification, feasibility of measurement (usability), relationship with the competence of the evaluation commission member (objectivity), possibility of determining the extent of the knowledge, abilities, skills required for each qualification grade. Assessment involving the use of the Stapel rating scale ("–5" to "+5") was performed by seven experts. The sums of scores by items were as follows: relationship with qualification — 477, usability — 316, objectivity — –662, grade — –699. There are significant differences between the scores reported for all the requirements and pairs of all items ( $p \leq 0.0001$ ), except the objectivity–grade pair ( $p = 0.103$ ). The total of the scores reported for the majority of requirements is negative due to the lowest possible scores of objectivity and grade. The experts believe that none of the qualification requirements approved by the Order enables accurate full-fledged determination of physician's qualification during evaluation.

**Keywords:** categorization, professional grade, qualification development**Author contribution:** Misharin VM — research coordination, literature review, data analysis and interpretation; Kochubey AV — concept, design, statistical analysis, conclusions, manuscript writing.✉ **Correspondence should be addressed:** Adelina V. Kochubey  
Volokolamskoye shosse, 91, Moscow, 125371, Russia; kochoubeya@gmail.com**Received:** 24.02.2024 **Accepted:** 21.03.2024 **Published online:** 30.03.2024**DOI:** 10.47183/mes.2024.014

В стремлении обеспечить постоянное профессиональное развитие медицинских работников национальные системы здравоохранения создают различные институты, стимулирующие или мотивирующие медицинский персонал повышать свою квалификацию [1–3]. Отечественная система здравоохранения не является исключением. В настоящее время в стране функционируют с разной степенью активности институты аккредитации, аттестации, непрерывного медицинского образования, независимой оценки квалификации и внутренней аттестации [4–7].

Работу всех перечисленных институтов регламентируют нормативные правовые акты разных уровней. В частности проведение аттестации врачей регламентирует приказ Минздрава России [4], который был обновлен в 2023 г., чтобы привести порядок получения квалификационных категорий в соответствие с вновь созданными системами аккредитации и непрерывного медицинского образования.

Не секрет, что отечественный институт аттестации медицинских и фармацевтических работников подвергся критике: было отмечено дублирование задач с новыми

институтами оценки квалификации, а также раскрыты пробелы нормативного регулирования, ориентированного на устаревшие представления о квалификации и формальные признаки профессионального развития [8–10]. Очевидно, что использование в качестве критериев оценки формальных признаков профессионального развития привело к слабости аттестации в измерении квалификации, что подтверждается данными экспертной оценки качества медицинской помощи, оказываемой лицами, прошедшими аттестацию [11]. При этом медицинские работники не хотят отказываться от института аттестации, но видят необходимость его изменения в соответствии с современным пониманием профессионального развития врача [12].

Следует отметить, что среди предложенных по совершенствованию системы аттестации медицинских работников многие годы лидируют создание стимулов к прохождению аттестации и объективизация измерения профессиональной компетентности аттестуемых [13]. Вероятно, что данные предложения нашли отражение в актуальном порядке получения квалификационных категорий в виде установленных требований к знаниям, умениям, навыкам по уровням квалификационных категорий.

В этой связи целью настоящего исследования стала оценка требований к квалификации врачей на предмет их связи с квалификацией, а также возможности их точного и полноценного измерения у аттестуемых врачей.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для достижения цели была проведена экспертная оценка установленных приказом Минздрава России от 31 августа 2023 г. № 458н «Об утверждении порядка и сроков прохождения медицинскими работниками и фармацевтическими работниками аттестации для получения квалификационной категории» (далее — Приказ) требований к присвоению различных квалификационных категорий. Экспертную оценку проводили по четырем полям:

- связь с квалификацией врача, т. е. являются ли требуемые знания, умения, навыки прямыми (не формальными) признаками квалификации в профессиональной сфере;
- практичность, т. е. выполнимо ли измерение требуемых знаний, умений, навыков;
- объективность, т. е. зависит ли результат измерения от используемых инструментов оценки или уровня компетентности и личных предпочтений членов экспертных групп;
- градация, т. е. можно ли точно установить степень развития требуемых знаний, умений, навыков для каждой квалификационной категории.

Экспертную оценку по всем полям проводили с использованием классической шкалы Стейпла, от «–5» до «+5», без нулевого значения, где «–5» означает, что требование не обеспечивает связь с квалификацией врача, практичность, объективность, градацию, и «+5» означает, что требование гарантирует связь с квалификацией врача, практичность, объективность, градацию.

Описание понимания полей и шкал было дано всем экспертам в инструкции. Для работы экспертам также был выдан оценочный лист с вышеописанной шкалой Стейпла, содержащий перечень из 22 требований к знаниям, умениям, навыкам из Приказа. Модерацию экспертной оценки проводили авторы. Эксперты между собой не взаимодействовали.

Группа экспертов состояла из семи человек. Критерии отбора экспертов: высшее медицинское образование, ученая степень доктора медицинских наук, медицинский стаж более 10 лет, стаж научно-педагогической деятельности не менее 7 лет, опыт работы в аттестационных комиссиях, опыт работы в экспертных группах. Критерии исключения: возраст старше 60 лет, официальное прекращение профессиональной медицинской и научно-педагогической деятельности. Средний медицинский стаж экспертов —  $24,0 \pm 2,0$  лет, средний стаж научно-педагогической деятельности —  $13,4 \pm 2,6$  лет.

Статистическую обработку результатов экспертной оценки выполняли в программе IBM SPSS. Проводили расчет сумм баллов по четырем полям и 22 требованиям. Учитывая, что большинство переменных при расчете критерия Колмогорова–Смирнова не имеют нормального распределения ( $p \leq 0,0001$ ), вычисляли критерий *U* Манна–Уитни для подтверждения различия экспертных оценок попарно по четырем полям и отдельным требованиям, критерий Краскела–Уолисса для доказательства разницы экспертных оценок по всем требованиям.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Сумма баллов экспертных оценок по полям: связь с квалификацией — 477, практичность — 316, объективность — –662, градация — –699. Расчет критерия Манна–Уитни показывает, что есть значимая разница переменных по парам всех полей ( $p \leq 0,0001$ ), кроме пары «объективность» и «градация» ( $p = 0,103$ ).

В таблице представлены суммы баллов экспертов для каждого требования по полям и общая. Расчет критерия Краскела–Уолисса показал, что эксперты различно оценивали требуемые знания, умения, навыки по четырем полям ( $p \leq 0,001$ ).

Связь с квалификацией одинаково высока, по мнению экспертов, у требований к умению провести оценку данных специальных методов исследования для установления диагноза, к теоретической подготовке и практическим навыкам в области профессиональной деятельности, к использованию применяемых в мировой и отечественной медицине методов профилактики, диагностики, лечения, реабилитации  $0,073 \leq p \leq 1,0$ , причем значимо выше, чем у других требований  $0,001 \leq p \leq 0,026$ .

Практичность оценена экспертами выше для требования к умению провести оценку данных специальных методов исследования для установления диагноза, чем для других требований  $0,001 \leq p \leq 0,004$ . Объективность оценена выше для требования к использованию медицинских изделий, чем для других требований,  $p = 0,001$ . Объективность остальных требований, по мнению экспертов, не отличается,  $0,383 \leq p \leq 1,1$ . Градация одинаково низкая для всех требований,  $0,710 \leq p \leq 1,0$ , кроме требований к стажу.

Положительную суммарную оценку по убыванию имеют три требования: к стажу, к использованию медицинских изделий, к умению провести оценку данных специальных методов исследования для установления диагноза. Требование к стажу получило самые высокие баллы практичности, объективности, градации, но самые низкие баллы по полю «связь с квалификацией». Требование к умению провести оценку данных специальных методов исследования для установления диагноза, наоборот, имеет максимально высокие баллы за связь с квалификацией и практичность, но максимально низкие за

Таблица. Экспертные оценки требований к квалификации

№	Требования	Сумма оценок				Итого
		Связь	Практичность	Объективность	Градация	
1	Стаж	-32	35	35	35	73
2	Теоретическая подготовка — в области профессиональной деятельности	31	27	-33	-35	-10
3	— в области смежных дисциплин	30	27	-35	-35	-13
	Практические навыки					
4	— в области профессиональной деятельности	31	29	-35	-35	-10
5	— в области смежных дисциплин	30	29	-35	-35	-11
	Использование применяемых в мировой медицине методов					
6	— профилактики	31	20	-35	-35	-19
7	— диагностики	31	20	-35	-35	-1
8	— лечения	31	20	-35	-35	-19
9	— реабилитации	31	20	-35	-35	-19
	Использование применяемых в отечественной медицине методов					
10	— профилактики	31	20	-35	-35	-19
11	— диагностики	31	20	-35	-35	-19
12	— лечения	31	20	-35	-35	-19
13	— реабилитации	31	20	-35	-35	-19
14	Использование медицинских изделий	19	26	1	-35	11
	Владение навыками анализа показателей работы					
15	— количественных	8	27	-35	-35	-35
16	— качественных	9	27	-35	-35	-34
17	Составление отчета о работе	-2	-9	-35	-35	-81
18	Применение научно-технической информации	27	-22	-35	-35	-65
19	Участие в решении тактических вопросов	16	-21	-35	-35	-75
	Использование научно-технической информации для решения					
20	— тактических вопросов	14	-28	-35	-35	-84
21	— стратегических вопросов	13	-26	-35	-35	-83
22	Умение провести оценку данных специальных методов исследования для установления диагноза	35	35	-35	-34	1

объективность и градацию. Требование к использованию медицинских изделий имеет положительные оценки за связь с квалификацией, практичность, объективность, но максимально низкую за градацию. Экспертная оценка требования к использованию медицинских изделий суммарно по всем полям значимо выше, чем иных требований ( $0,0001 \leq p \leq 0,002$ ), кроме требований к стажу.

#### ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Исследование показывает, что более половины требуемых знаний, умений, навыков эксперты считают максимально связанными с профессиональной квалификацией и доступными к измерению. Вместе с тем, в отношении большинства требуемых знаний, умений, навыков эксперты считают невозможным обеспечить объективность, включая независимость от компетентности члена экспертной группы. Кроме того, в отношении подавляющего большинства требований к квалификации эксперты не видят возможности точно установить степень развития требуемых знаний, умений, навыков для каждой квалификационной категории.

Два требования получили отрицательную оценку по полю «связь с квалификацией» — это стаж и составление отчета о работе. Важно отметить, что стаж давно

считается формальным признаком профессионального развития [14]. Единодушие экспертов подтверждает, что продолжительность профессиональной деятельности не гарантирует высокую квалификацию врача.

Плохая оценка экспертами связи с квалификацией требований к составлению отчета, к владению навыками анализа количественных и качественных показателей работы, небезыntenесна на фоне данных о плохих компетенциях врачей в составлении отчетов и работе со статистическими данными [11].

Что касается практичности требований, т. е. выполнимости измерения требуемых знаний, умений, навыков, то только пять из 22 требований эксперты сочли недоступными к измерению. Важно отметить, что в отношении этих же требований эксперты увидели их низкую связь с квалификацией. Это требования к составлению отчета, к применению научно-технической информации, к участию в решении тактических вопросов, к использованию научно-технической информации для решения тактических и стратегических вопросов.

Авторы видят два ограничения, влияющие на результаты исследования: личное отношение экспертов к системе аттестации от враждебности до симпатии и недостатки шкалы Стейпла, заключающиеся в неоднозначности понимания респондентами делений шкалы.



## ВЫВОДЫ

Среди утвержденных Приказом требований к квалификации ни одно не позволяет точно и полноценно определить квалификацию аттестуемого. Главными недостатками установленных требований являются: абсолютная зависимость оценки от компетентности члена

экспертной группы, а также невозможность установить степень развития требуемых знаний, умений, навыков для отдельной квалификационной категории. Требование к стажу, имеющее максимально положительные оценки экспертов в отношении объективности, градации и практичности, не отражает, по мнению экспертов, профессиональную квалификацию врача.

## Литература

- Gershuni O, Czabanowska K, Burazeri G, Cichowska Myrup A, Von Krauss MK. Is there a golden recipe? A scoping review of public health workforce development. *Eur J Public Health*. 2019; 29 (3): 401–8. DOI: 10.1093/eurpub/cky247. PMID: 30508074.
- Leider JP. On the importance of membership organizations to the governmental public health workforce, through good times and bad. *J Public Health (Oxf)*. 2022; 44 (Suppl 1): i64–i65. DOI: 10.1093/pubmed/fdac098. PMID: 36465046; PMCID: PMC9720365.
- Атај А. Зарубежный опыт и особенности процессов обучения и развития персонала в медицинских учреждениях. *Молодой ученый*. 2021; 34 (376): 42–45.
- Приказ Министерства здравоохранения РФ от 31 августа 2023 г. № 458н «Об утверждении порядка и сроков прохождения медицинскими работниками и фармацевтическими работниками аттестации для получения квалификационной категории». Доступно по ссылке: <https://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/407680878/?ysclid=lu5vwxdbmz844676904>.
- Федеральный закон от 21.11.2011 № 323-ФЗ «Об основах охраны здоровья граждан Российской Федерации». Доступно по ссылке: [https://www.omgtu.ru/general\\_information/institutes/institute\\_for\\_military\\_technical\\_education/uvc/FederalnyyZakon-323.pdf](https://www.omgtu.ru/general_information/institutes/institute_for_military_technical_education/uvc/FederalnyyZakon-323.pdf).
- «Трудовой кодекс Российской Федерации» от 30.12.2001 №197-ФЗ. Доступно по ссылке: [https://www.consultant.ru/document/cons\\_doc\\_LAW\\_34683/?ysclid=lu5w1b13zf609700534](https://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_34683/?ysclid=lu5w1b13zf609700534).
- Федеральный закон от 03.07.2016 238-ФЗ «О независимой оценке квалификации». Доступно по ссылке: [https://www.consultant.ru/document/cons\\_doc\\_LAW\\_200485/?ysclid=lu5w2pa1vf830802849](https://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_200485/?ysclid=lu5w2pa1vf830802849).
- Кленникова О. А., Токсанбаева М. С. Проблемы системности институтов оценки квалификации медицинских специалистов. Проблемы социальной гигиены, здравоохранения и истории медицины. 2022; 30 (s1): 1027–32. DOI: <http://dx.doi.org/10.32687/0869-866X-2022-30-s1->.
- Шишкин С. В., Темницкий А. Л. Роль аттестации медицинских работников в повышении трудовой мотивации. Вопросы государственного и муниципального управления. 2019; 2: 141–67.
- Базетова А. А. Проблемы аттестации медицинских работников и пути их решения. *Научный альманах*. 2022; 2–2 (88): 47–50.
- Семенова Е. А., Груздева А. А., Мушников Д. Л., и др. Характеристика подготовленности врачей кардиологического профиля к прохождению аттестации на присвоение квалификационной категории. *Журнал научных статей Здоровье и образование в XXI веке*. 2016; 18 (2): 368–72.
- Митарин В. М., Кочубей А. В. Пилотный опрос врачей о системе присвоения квалификационных категорий. *Медицина экстремальных ситуаций*. 2023; 3 (25): 110–4.
- Коленикова О. А. Причины дисфункции института аттестации медицинских специалистов. *Народонаселение*. 2023; 26 (3): 158–69. DOI: 10.19181/population.2023.26.3.13.
- Мантурова Н. Е., Кочубей В. В., Кочубей А. В. Компетентность пластических хирургов. *Вестник Российского государственного медицинского университета*. 2018; 2: 67–71. DOI: 10.24075/vrgmu.2018.023.

## References

- Gershuni O, Czabanowska K, Burazeri G, Cichowska Myrup A, Von Krauss MK. Is there a golden recipe? A scoping review of public health workforce development. *Eur J Public Health*. 2019; 29 (3): 401–8. DOI: 10.1093/eurpub/cky247. PMID: 30508074.
- Leider JP. On the importance of membership organizations to the governmental public health workforce, through good times and bad. *J Public Health (Oxf)*. 2022; 44 (Suppl 1): i64–i65. DOI: 10.1093/pubmed/fdac098. PMID: 36465046; PMCID: PMC9720365.
- Ataj A. Zarubezhnyy opyt i osobennosti processov obucheniya i razvitiya personala v medicinskih uchrezhdeniyah. *Molodoy ucheny*. 2021; 34 (376): 42–45. Russian.
- Prikaz Ministerstva zdravoohraneniya RF ot 31 avgusta 2023 g. № 458n «Ob utverzhenii porjadka i srokov prohozheniya medicinskimi rabotnikami i farmacevticheskimi rabotnikami attestacii dlja poluchenija kvalifikacionnoj kategorii». Available from: <https://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/407680878/?ysclid=lu5vwxdbmz844676904>. Russian.
- Federal'nyj zakon ot 21.11.2011 # 323-FZ «Ob osnovah ohrany zdorov'ja grazhdan Rossijskoj Federacii». Available from: [https://www.omgtu.ru/general\\_information/institutes/institute\\_for\\_military\\_technical\\_education/uvc/FederalnyyZakon-323.pdf](https://www.omgtu.ru/general_information/institutes/institute_for_military_technical_education/uvc/FederalnyyZakon-323.pdf). Russian.
- «Trudovoj kodeks Rossijskoj Federacii» ot 30.12.2001 #197-FZ. Available from: [https://www.consultant.ru/document/cons\\_doc\\_LAW\\_34683/?ysclid=lu5w1b13zf609700534](https://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_34683/?ysclid=lu5w1b13zf609700534). Russian.
- Federal'nyj zakon ot 03.07.2016 238-FZ «O nezavisimoy ocenke kvalifikacii». Available from: [https://www.consultant.ru/document/cons\\_doc\\_LAW\\_200485/?ysclid=lu5w2pa1vf830802849](https://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_200485/?ysclid=lu5w2pa1vf830802849). Russian.
- Klennikova OA, Toksanbaeva MS. Problemy sistemnosti institutov ocenki kvalifikacii medicinskih specialistov. *Problemy social'noj gigiyeny, zdravoohraneniya i istorii mediciny*. 2022; 30 (s1): 1027–32. DOI: <http://dx.doi.org/10.32687/0869-866X-2022-30-s1->. Russian.
- Shishkin SV, Temnickij AL. Rol' attestacii medicinskih rabotnikov v povyshenii trudovoj motivacii. *Voprosy gosudarstvennogo i municipal'nogo upravleniya*. 2019; 2: 141–67. Russian.
- Bazetova AA. Problemy attestacii medicinskih rabotnikov i puti ih resheniya. *Nauchnyj al'manah*. 2022; 2–2 (88): 47–50. Russian.
- Semenova EA, Gruzdeva AA, Mushnikov DL, i dr. Charakteristika podgotovlennosti vrachej kardiologicheskogo profilya k prohozheniju attestacii na prisvoenie kvalifikacionnoj kategorii. *Zhurnal nauchnyh statej Zdorov'e i obrazovanie v XXI veke*. 2016; 18 (2): 368–72. Russian.
- Misharin VM, Kochubey AV. Pilot survey of physicians on the system of assigning professional grades. *Extreme Medicine*. 2023; 3 (25): 82–86. DOI: 10.47183/mes.2023.035.
- Kolennikova OA. Prichiny disfunkcii instituta attestacii medicinskih specialistov. *Narodonaselenie*. 2023; 26 (3): 158–69. DOI: 10.19181/population.2023.26.3.13. Russian.
- Manturova NE, Kochubey VV, Kochubey AV. The competence of plastic surgeons. *Bulletin of RSMU*. 2018; 2: 63–7. DOI: 10.24075/brsmu.2018.023.

## ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ РЕТРОЦЕРЕБЕЛЛЯРНЫХ КИСТ ГОЛОВНОГО МОЗГА НА ЛИКВОРНУЮ СИСТЕМУ КАК КРИТЕРИЙ ГОДНОСТИ К ЛЕТНОЙ РАБОТЕ

В. Г. Коломийцев<sup>1</sup>, С. В. Горнов<sup>2</sup>, В. В. Горнов<sup>3</sup>, И. В. Булова<sup>4</sup>✉, Р. В. Еселевич<sup>5</sup>, Е. А. Литвиненко<sup>6</sup>, Р. А. Крупа<sup>6</sup>, Д. В. Карпенко<sup>4</sup>

<sup>1</sup> 419 Военный госпиталь Министерства обороны России, Краснодар, Россия

<sup>2</sup> Российский биотехнологический университет (РОСБИОТЕХ), Москва, Россия

<sup>3</sup> Государственный научно-исследовательский испытательный институт авиационной и космической медицины, Москва, Россия

<sup>4</sup> Кубанский государственный медицинский университет, Краснодар, Россия

<sup>5</sup> Военно-медицинская академия имени С. М. Кирова Министерства обороны России, Санкт-Петербург, Россия

<sup>6</sup> Краевая клиническая больница № 2, Краснодар, Россия

Ретроцеребеллярные кисты головного мозга представляют собой важный аспект для определения пригодности к летной работе. Целью исследования было оценить их влияние на летную работу через сравнительный анализ данных МРТ курсантов первого курса и летчиков с опытом. Были выполнены анализ встречаемости ретроцеребеллярных кист у курсантов и летчиков, проведение МРТ ГМ без контрастного усиления, сравнительное исследование основных академических и физических показателей, а также результатов профессионального психологического отбора. Среди курсантов первого курса встречаемость ретроцеребеллярных кист составила 8,2%. У летчиков с опытом выявлена высокая частота бессимптомных ретроцеребеллярных кист (в двух случаях из пяти). Сравнение показателей между группами позволяет сделать выводы о возможном незначительном влиянии данных изменений на годность к летной работе. Дальнейшие исследования необходимы для уточнения механизмов влияния ретроцеребеллярных кист на летную деятельность и разработки соответствующих рекомендаций для медицинских комиссий.

**Ключевые слова:** военно-врачебная экспертиза, ликворная система, нейровизуализация, курсанты, летчики

**Вклад авторов:** С. В. Горнов — участие в научном дизайне, формирование идеи, проведение исследования; Д. В. Карпенко — редактирование текста; В. В. Горнов — анализ и интерпретация полученных данных, критический пересмотр черновика рукописи; В. Г. Коломийцев — написание исходного текста, сбор данных, разработка программного обеспечения; Р. В. Еселевич — итоговые выводы; И. В. Булова — определение концепции работы, составление черновика рукописи, утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи; Е. А. Литвиненко — разработка методологии; Р. А. Крупа — оформление рукописи.

**Соблюдение этических стандартов:** клиническое исследование проведено в соответствии с принципами Хельсинкской декларации.

✉ **Для корреспонденции:** Илона Вячеславовна Булова  
ул. Красных Партизан, д. 6/2, г. Краснодар, 350012, Россия; ilona-bu@mail.ru

**Статья получена:** 05.02.2024 **Статья принята к печати:** 24.03.2024 **Опубликована онлайн:** 31.03.2024

**DOI:** 10.47183/mes.2024.017

## ASSESSMENT OF THE IMPACT OF RETROCEREBELLAR CYSTS IN THE BRAIN ON THE CEREBROSPINAL FLUID SYSTEM AS A CRITERION OF FITNESS FOR FLIGHT

Kolomiitsev VG<sup>1</sup>, Gornov SV<sup>2</sup>, Gornov VV<sup>3</sup>, Burova IV<sup>4</sup>✉, Eseevich RV<sup>5</sup>, Litvinenko EA<sup>6</sup>, Krupa RA<sup>6</sup>, Karpenko DV<sup>4</sup>

<sup>1</sup> 419<sup>th</sup> Military Hospital of the Ministry of Defense of the Russian Federation, Krasnodar, Russia

<sup>2</sup> Russian Biotechnological University (BIOTECH University), Moscow, Russia

<sup>3</sup> State Research Testing Institute of Aviation and Space Medicine, Moscow, Russia

<sup>4</sup> Kuban State Medical University, Krasnodar, Russia

<sup>5</sup> Kirov Medical Military Academy of the Ministry of Defense of the Russian Federation, Saint-Petersburg, Russia

<sup>6</sup> Regional Clinical Hospital № 2, Krasnodar, Russia

Retrocerebellar cysts of the brain represent the aspect that is important for determination of fitness for flight. The study was aimed to assess their impact on the pilot performance by conducting comparative analysis of MRI data of the first-year cadets and experienced pilots. We assessed the prevalence of retrocerebellar cysts among cadets and pilots, conducted non-contrast brain MRI, and compared the major academic and physical performance indicators, along with the results of professional psychological screen. The prevalence of retrocerebellar cysts among first-year cadets was 8.2%. High prevalence of asymptomatic retrocerebellar cysts among experienced pilots was revealed (two cases out of five). The intergroup comparison of indicators makes it possible to draw a conclusion about probable minor impact of such changes on fitness for flight. Further research is required to clarify the mechanisms underlying the impact of retrocerebellar cysts on the pilot performance and develop appropriate guidelines for medical boards.

**Keywords:** military medical examination, cerebrospinal fluid system, neuroimaging, cadets, pilots

**Author contribution:** Gornov SV — contribution to research design, concept development, research procedure; Karpenko DV — manuscript writing; Gornov VV — data analysis and interpretation, critical revision of the manuscript draft; Kolomiitsev VG — manuscript writing, data acquisition, software development; Eseevich RV — final conclusions; Burova IV — study concept determination, manuscript draft writing, approval of the final version of the article, responsibility for integrity of all parts of the article; Litvinenko EA — methodology development; Krupa RA — manuscript formatting.

**Compliance with the ethical standards:** the study was compliant with the principles of the Declaration of Helsinki.

✉ **Correspondence should be addressed:** Ilona V. Burova  
Krasnyh Partizan, 6/2, Krasnodar, 350012, Russia; ilona-bu@mail.ru

**Received:** 05.02.2024 **Accepted:** 24.03.2024 **Published online:** 31.03.2024

**DOI:** 10.47183/mes.2024.017

В 2022 г. согласно изменениям в нормативных документах [1], гражданам, обучающимся в военно-учебных заведениях по подготовке летного состава государственной авиации, при проведении первой врачебно-летной комиссии (ВЛК) обязательно проведение магнитно-резонансной томографии головного мозга (МРТ ГМ).

При анализе первых количественных результатов МРТ ГМ курсантов летного училища отмечена высокая встречаемость различного рода изменений в ликворной системе головного мозга [2], представляющих собой критерий негодности к летному обучению на основании ВЛК [1]. В связи с полученными в ходе исследования данными о встречаемости изменений в ликворной системе головного мозга курсантов перед ВЛК была поставлена задача в определении категории годности курсантов к дальнейшему летному обучению.

Цель исследования — оценить влияние ретроцеребеллярных кист головного мозга на летную работу на основе сравнительного анализа полученных данных МРТ ГМ курсантов первого курса летного училища и военных летчиков, успешно завершивших летную работу.

#### ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Проведен анализ встречаемости ретроцеребеллярных кист по результатам МРТ ГМ у 348 (100%) (медиана возрастных характеристик составила 19,0 лет) курсантов первого курса Краснодарского высшего военного авиационного училища летчиков имени А. К. Серова во время прохождения ими первой ВЛК в период с октября 2022 г. по февраль 2023 г. на базе 419-го Военного госпиталя г. Краснодар. Критерии включения: в исследование были включены курсанты первого курса, набора 2022–2023 гг. За период прохождения МРТ курсантами (с октября 2022 г. по февраль 2023 г.) выполняли также МРТ-исследования военным пенсионерам-летчикам без неврологических

жалоб, случайным образом обратившимся за амбулаторной помощью в 419-й Военный госпиталь. Проведено сравнение ретроцеребеллярных кист курсантов и пяти военных летчиков в запасе (медиана возрастных характеристик составила 42,8 лет), успешно завершивших летную работу и прошедших МРТ головного мозга.

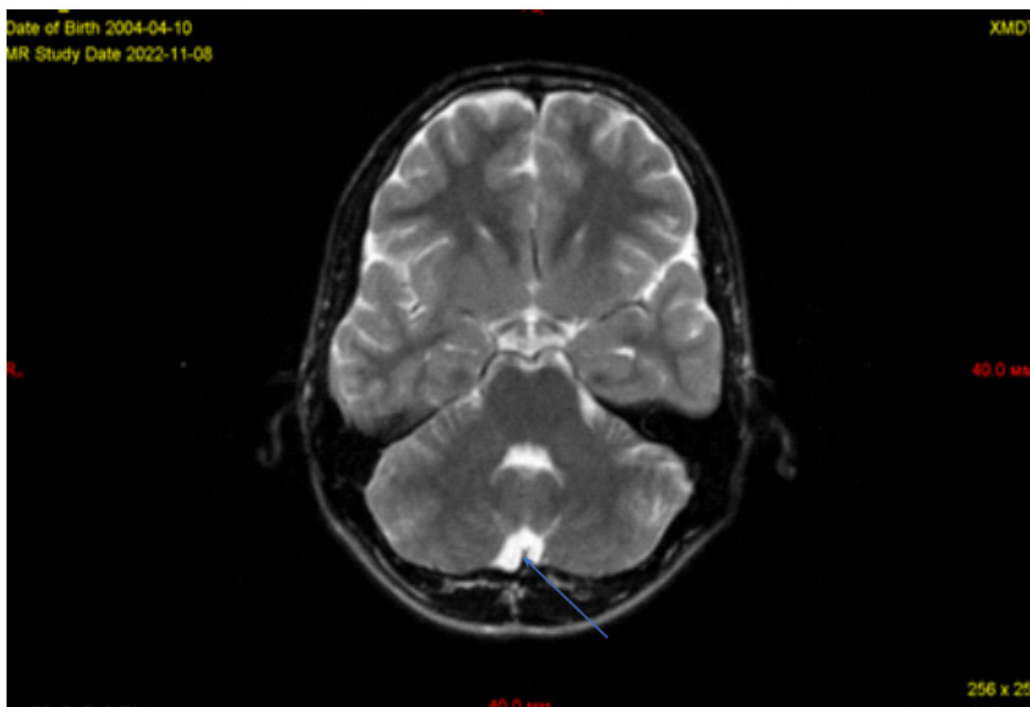
Оценку структур головного мозга провели аппаратом открытого типа МРТ-АМИКО300 («АМИКО»; Россия), величина индукции — 0,3 Тесла. Использовали стандартный МРТ-протокол исследования головного мозга [3]. 100% полученных МР-изображений обработаны с помощью программного обеспечения Махаон DICOM.

Академическую успеваемость оценивали согласно квалификационным требованиям к военно-профессиональной подготовке выпускников.

Индивидуальную оценку физической подготовленности курсантов проводили согласно тематическому плану кафедры физической подготовки летного училища. В качестве показателей физического развития выделяли: скорость (бег на 100 м), силу (подтягивание на перекладине), выносливость (бег на 1 или 3 км) и ловкость (челночный бег 10 × 10 м).

Для оценки личностных и интеллектуальных профессионально важных качеств курсантов были использованы результаты профессионально-психологического отбора (ППО) при поступлении в военное училище [4].

Всем курсантам 1 года ( $n = 348$ ) была проведена МРТ ГМ, контрастный препарат не вводили [3]. После проведения отбора 100% включенных в исследование курсантов были распределены на две группы в зависимости от наличия либо отсутствия структурных изменений головного мозга по данным МРТ. Группу пациентов со структурными изменениями головного мозга составил 41 человек, при этом были анализированы все изменения, вошедшие в поле сканирования с целью поиска наиболее показательного элемента, который в последующем был определен



**Рис. 1.** На аксиальной МР-картине в режиме T2 ВИ визуализируются в виде локального расширения арахноидальные пространства на уровне гемисфер мозжечка (ретроцеребеллярная киста) аксиальными размерами до 7 × 11 мм, у курсанта первого курса X., возраст — 20 лет. Данный курсант — кандидат в мастера спорта по плаванию, призер кубка Вооруженных Сил Российской Федерации среди курсантов — признан негодным к летному обучению [1]

авторами как объект исследования (ретроцереbellарные кисты, обнаруженные у 28 курсантов).

Далее проводили сравнение обеих групп курсантов по:

- оценкам, полученным при поступлении и в период профессионального становления (основные академические дисциплины и физическая подготовка);

- группам профессионального психологического отбора, полученным при поступлении;

- многоуровневому личностному опроснику «Адаптивность», предназначенному для изучения адаптивных возможностей на основе оценки некоторых психофизиологических и социально-психологических характеристик, отражающих интегральные особенности психического и социального развития курсанта.

МРТ ГМ без контрастного усиления также была проведена пяти пациентам из группы летчиков запаса, двум из них обследование проводили в других лечебных учреждениях, давность проведения исследования составляла не более двух недель от основного потока.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Наиболее частыми изменениями ликворной системы головного мозга среди 348 курсантов первого курса в ходе проведения диагностических исследований в рамках ВЛК были ретроцереbellарные кисты — 28 (8,2%), расширенные ликворные пространства — 3 (0,9%), асимметрия боковых желудочков — 3 (0,9%), киста прозрачной перегородки — 3 (0,9%), внутренняя гидроцефалия — 2 (0,6%) и арахноидальные кисты височной области — 2 (0,6%). Из общей выборки курсантов ретроцереbellарную кисту встречали в 28 случаях, средний размер кист составил 9,5 мм (рис. 1).

В то же время в ходе планового обследования пяти военных летчиков в запасе из общей выборки ретроцереbellарную кисту отметили в двух случаях, средний размер кист составил 8,1 мм. Так, у пациента С.,

42 года (общий налет — более 1500 ч, в том числе 800 ч на истребителе СУ-24), была выявлена бессимптомная ретроцереbellарная киста размером 9 × 11 мм (рис. 2).

С целью изучения и оценки функционального состояния ЦНС курсантов без изменений на МРТ (группа 1) и с изменениями на МРТ (наличие ретроцереbellарных кист) (группа 2) было проведено сравнение с данными ППО при поступлении в военное училище (табл. 1), результатами академической успеваемости по основным предметам и физической подготовки за весь период обучения (табл. 2).

Летчики группы 1 в 2% случаев относились к первой группе ППО, в 89% случаев — ко второй группе и в 9% — к третьей. Летчики группы 2 в 100% случаев относились к второй группе ППО, что свидетельствует о функциональности адаптивности курсантов группы 2 (табл. 1).

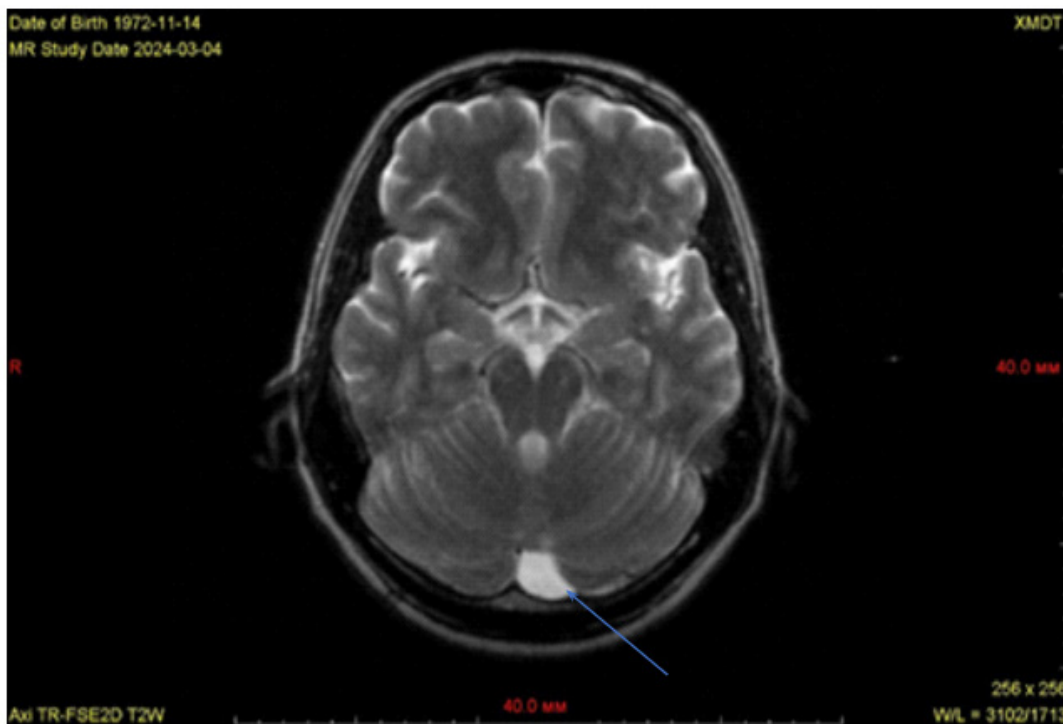
Показатели среднего балла по основным дисциплинам и уровень физической подготовки в двух группах летчиков значительно не различаются (табл. 2).

Для сравнения успешности деятельности курсантов изучали причины отчисления из высшего училища летчиков курсантов на первом курсе в обеих группах (табл. 3).

После проведенной ВЛК по состоянию здоровья (наличие ретроцереbellарной кисты) было уволено 4 (10%) курсанта. По личной инициативе после проведения МРТ в процентном соотношении курсантов группы 2 (с ретроцереbellарными кистами) после первого курса уволилось в два раза больше, чем курсантов без изменения на МРТ (табл. 3). Это обусловлено высоким психоэмоциональным напряжением и разочарованием невозможностью продолжения своей летной карьеры по результатам МРТ ГМ.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

По проанализированным в ходе исследования данным функционального состояния ЦНС (МРТ ГМ), личностного



**Рис. 2.** Арахноидальная ретроцереbellарная киста военного летчика в запасе С. Данный офицер был уволен с военной службы по достижении предельного возраста, ранее на всех ВЛК МРТ ГМ не проводили, летчика признавали годным к летной работе



**Таблица 1.** Результаты данных профессионально-психологического отбора курсантов группы 1 (без изменений головного мозга на МРТ) и группы 2 (с ретроцереbellлярными кистами по данным МРТ)

Категория профессионально-психологического отбора при поступлении	Группа 1, <i>n</i> = 307 (100%)	Группа 2, <i>n</i> = 28 (100%)
1	8 (2%)	0 (0%)
2	268 (89%)	28 (100%)
3	31 (9%)	0 (0%)
4	0 (0%)	0 (0%)

**Таблица 2.** Показатели среднего балла по основным академическим дисциплинам и физической подготовке курсантов группы 1 (без изменений головного мозга на МРТ) и группы 2 (с ретроцереbellлярными кистами по данным МРТ)

Академическая успеваемость	Группа 1, без изменений по данным МРТ ( <i>n</i> ~307)	Группа 2, с изменениями по данным МРТ и КТ ( <i>n</i> ~28)
Средний балл по экзаменам, 2-й семестр, 1-й курс (2022–2023 гг.)	( <i>n</i> ~307) 4,2 ± 0,3	( <i>n</i> ~28) 4,1 ± 0,5
Средний балл по экзаменам, 1-й семестр, 2-й курс (2023–2024 гг.)	( <i>n</i> ~288) 251,0 ± 21,0	( <i>n</i> ~19) 248,0 ± 25,0
Средний балл по физической подготовке, 2-й семестр, 1-й курс (2022–2023 гг.)	( <i>n</i> ~307) 263,0 ± 22,0	( <i>n</i> ~28) 260,0 ± 26,0
Средний балл по физической подготовке, 1-й семестр, 2-й курс (2023–2024 гг.)	( <i>n</i> ~288) 4,3 ± 0,5	( <i>n</i> ~19) 4,2 ± 0,6

**Таблица 3.** Структура причин отчисления из училища курсантов группы 1 (без изменений головного мозга на МРТ) и группы 2 (с ретроцереbellлярными кистами по данным МРТ) после первого курса

Причина отчисления	Количество отчисленных на первом курсе, без изменений на МРТ Группа 1 100% ( <i>n</i> ~307)	Количество отчисленных на первом курсе, с изменениями на МРТ Группа 2 100% ( <i>n</i> ~28)
По академической неуспеваемости	4 (1,3%)	1 (2,4%)
По нарушениям дисциплины	4 (1,3%)	1 (2,4%)
По результатам ВЛК	0 (0%)	4 (10%)
По личной инициативе	10 (3,3%)	3 (7,3%)

адаптационного потенциала, все 100% обследуемых курсантов имели высокие показатели и значимо не различались, что свидетельствует о завышенной оценке влияния ретроцереbellлярной кисты на категорию годности к летной работе [5].

Представленные данные соотносятся с данными другого исследования [6], в котором указано на завышенные требования к наличию ретроцереbellлярных кист и отсутствие необходимости обязательного увольнения с летной работы в ходе ВЛК.

В доступной литературе широко освещены результаты [7], позволяющие утверждать, что размер и локализация образований позадимозжечковой области (ретроцереbellлярные кисты) достоверно не влияют на показатели ликвородинамики, а их клиническое значение не определено, что совпадает с представленными данными.

Необходимо отметить, что наличие случайно обнаруженных кист у двух летчиков в запасе, имеющих

достойный послужной список, большой налет на различных видах летательных аппаратов и уволенных с военной службы не по состоянию здоровья, подтверждает гипотезу о незначительном влиянии ретроцереbellлярных кист у летчика на успешность его деятельности и профессиональное долголетие.

## Выводы

Полученные данные, безусловно, требуют дальнейшего изучения, но выявленные закономерности ставят дополнительные вопросы о прогнозировании влияния ретроцереbellлярных кист головного мозга на категорию годности летчика в ходе проводимой ВЛК. Необходимо продолжить исследования для получения доказательной базы и возможности прогнозирования влияния на успешность деятельности и профессиональное долголетие курсантов наличия ретроцереbellлярной кисты головного мозга.

## Литература

1. Постановление Правительства РФ от 04.07.2013 № 565 (ред. от 03.02.2023) «Об утверждении Положения о военно-врачебной экспертизе».
2. Коломийцев В. Г., Горнов С. В., Горнов В. В. и др. Функциональная оценка результатов МРТ и ЭЭГ головного мозга молодых летчиков в интересах военно-врачебной экспертизы. Вестник Медицинского института непрерывного образования. 2023; 3 (3): 91–5.
3. Пронин И. Н., Захарова Н. Е., Баталов А. И. и др. К вопросу о стандартах диагностики поражений головного мозга. Кремлевская медицина. Клинический вестник. 2020; 1 (4): 107–18.
4. Приказ Министра обороны Российской Федерации от 31.10.2019 № 640 «Об утверждении Инструкции об организации и проведении профессионального психологического отбора в Вооруженных Силах Российской Федерации».

5. Благинин А. А., Чуранов А. М., Чуранова Т. Ю. Успешность обучения курсантов военно-учебного заведения. Военный академический журнал. 2022; 4 (36): 28–35.
6. Власов В. В. Концепция факторов риска и врачебно-летная экспертиза. Авиационная и экологическая медицина. 1995; 29 (5): 4–9.
7. Лихачев С. А., Астапенко А. В., Корбут Т. В., Антоненко С. А., Гвищ Т. Г., Меркуль О. В. Арахноидальная киста — случайная находка. Неврология и нейрохирургия. Восточная Европа. 2014; 1 (21): 157.

#### References

1. Postanovlenie Pravitel'stva RF ot 04.07.2013 № 565 (red. ot 03.02.2023) «Ob utverzhdenii Polozheniya o voenno-vrachebnoy ekspertize». Russian.
2. Kolomiitsev VG, Gornov SV, Gornov VV, et al. Functional assessment of MRT and EEG results of the brain of young pilots in the interests of medical-flight examination. Bulletin of the Medical Institute of Continuing Education. 2023; 3 (3): 91–5. Russian.
3. Pronin IN, Zakharova NE, Batalov AI, et al. Diagnostic standards in diagnostics of brain disorders. Kremlin medicine journal. 2020; 1 (4): 107–18. Russian.
4. Prikaz Ministra oborony Rossiyskoy Federatsii ot 31.10.2019 № 640 «Ob utverzhdenii Instruksii ob organizatsii i provedenii professional'nogo psikhologicheskogo otbora v Vooruzhennykh Silakh Rossiyskoy Federatsii». Russian.
5. Blaginin AA, Churanov AM, Churanova TY. The concept of «success in training cadets» of a military educational institution. Voennyi akademicheskii zhurnal. 2022; 4 (36): 28–35. Russian.
6. Vlasov VV. The concept of risk factors and flight certificate examination. Aviakosmicheskaya i Ekologicheskaya Meditsina. 1995; 29 (5): 4–9. Russian.
7. Likhachev SA, Astapenko AV, Korbut TV, Antonenko SA, Gvishch TG, Merkul OV. Arakhnoidal'naya kista — sluchaynaya nakhodka. Nevrologiya i neyrokhirurgiya. Vostochnaya Evropa. 2014; 1 (21): 157. Russian.

## ИНТРАКОРОНАРНОЕ ПРИМЕНЕНИЕ ЛЕВОКАРНИТИНА ПРИ СТЕНТИРОВАНИИ КОРОНАРНЫХ АРТЕРИЙ У ПАЦИЕНТОВ ВЫСОКОГО РИСКА

Н. Ю. Семиголовский<sup>1,2,3</sup>✉, М. Ф. Баллюзек<sup>1,2</sup>, А. Б. Гуслев<sup>1,2</sup>, С. О. Мазуренко<sup>1</sup>, А. В. Козаев<sup>2</sup>, И. Г. Семёнова<sup>2</sup>, Е. М. Никольская<sup>3</sup>, А. Н. Щеглов<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup> Санкт-Петербургская клиническая больница Российской академии наук, Санкт-Петербург, Россия

<sup>3</sup> Клиническая больница Северо-Западного окружного научно-клинического центра имени Л. Г. Соколова Федерального медико-биологического агентства, Санкт-Петербург, Россия

<sup>4</sup> Центральная клиническая больница с поликлиникой Управления делами президента России, Москва, Россия

Основные причины послеоперационной летальности при выполнении чрескожных коронарных вмешательств со стентированием коронарных артерий — периоперационный инфаркт миокарда, аритмии и острая сердечная недостаточность вследствие неадекватной защиты миокарда от ишемии/реперфузии. Стандартная терапия включает бета-адреноблокаторы, антикоагулянты, дезагреганты. Описаны два клинических случая успешного внутривенного применения левокарнитина с целью кардиопротекции у пациентов старческого возраста с острыми формами ишемической болезни сердца при многососудистом поражении. Послеоперационный период протекал гладко, отмечалась сглаженность динамики биомаркеров (тропонин I, креатинфосфокиназа, МВ-фракция креатинфосфокиназы), ишемические сдвиги ЭКГ были мало выражены. Ожидаемые результаты применения методики — снижение интраоперационных и послеоперационных осложнений ишемии/реперфузии и повышение эффективности клинических результатов стентирования у пациентов высокого риска.

**Ключевые слова:** ишемическая болезнь сердца, острый коронарный синдром, острый инфаркт миокарда, ишемия/реперфузия, чрескожные коронарные вмешательства, левокарнитин, интракоронарное введение

**Финансирование:** работа выполнена в рамках Государственного задания 075-01609-23-04 «Адьювантная цитопротекция левокарнитином методом интракоронарного введения при реваскуляризации у больных с острым и хроническим коронарным синдромом (FUEM-2023-0018). Номер НИОКТР 1022040701249-2-3.2.4. Соглашение 075-03-2023-695/1 от 21.04.2023

**Вклад авторов:** Н. Ю. Семиголовский — концепция и дизайн исследования, обзор литературы, написание текста; А. В. Козаев, Е. М. Никольская, И. Г. Семёнова — сбор и обработка материала; С. О. Мазуренко — анализ материала, обзор литературы, редактирование; А. Б. Гуслев, А. Н. Щеглов — анализ материала; М. Ф. Баллюзек — анализ материала, редактирование.

✉ **Для корреспонденции:** Никита Юрьевич Семиголовский  
пр. Культуры, д. 4, г. Санкт-Петербург, 194291, Россия; semigolovski@yandex.ru

**Статья получена:** 29.01.2024 **Статья принята к печати:** 17.03.2024 **Опубликована онлайн:** 25.03.2024

**DOI:** 10.47183/mes.2024.010

## INTRACORONARY USE OF LEVOCARNITINE FOR CORONARY ARTERY STENT INSERTION IN HIGH-RISK PATIENTS

Semigolovskii NYu<sup>1,2,3</sup>✉, Balluzek MF<sup>1,2</sup>, Guslev AB<sup>1,2</sup>, Mazurenko SO<sup>1</sup>, Kozaev AV<sup>2</sup>, Semenova IG<sup>2</sup>, Nikolskaya EM<sup>3</sup>, Scheglov AN<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Saint Petersburg State University, Saint Petersburg, Russia

<sup>2</sup> Saint Petersburg Clinical Hospital of the Russian Academy of Sciences, Saint Petersburg, Russia

<sup>3</sup> Clinical Hospital of the Sokolov North-Western District Scientific and Clinical Center of the Federal Medical Biological Agency, Saint Petersburg, Russia

<sup>4</sup> Central Clinical Hospital with a Polyclinic of the Administrative Directorate of the President of the Russian Federation, Moscow, Russia

The main causes of postoperative mortality associated with percutaneous coronary interventions involving the coronary artery stent insertion are perioperative myocardial infarction and acute heart failure due to inadequate protection of the myocardium against ischemia/reperfusion. The standard therapy includes beta blockers, anticoagulants, antiplatelet drugs. Two clinical cases of successful use of intravenous levocarnitine for cardioprotection in senile patients with acute forms of coronary heart disease with multivessel lesions are reported. The postoperative period went well, smooth dynamics of biomarker levels (troponin I, creatine phosphokinase, MB fraction of creatine phosphokinase) was observed, and ischemic ECG changes were relatively small. The expected results of the technique application include reduction of intraoperative and postoperative complications of ischemia/reperfusion and the increase in effectiveness of the stent insertion clinical outcomes in high-risk patients.

**Keywords:** coronary heart disease, acute coronary syndrome, myocardial infarction, ischemia/reperfusion, percutaneous coronary interventions, levocarnitine, intracoronary administration

**Funding:** the study was performed as part of the State Assignment No. 075-01609-23-04 "Adjuvant Cytoprotection by Intracoronary Levocarnitine Administration during Revascularization in Patients with Acute and Chronic Coronary Syndrome" (FUEM-2023-0018). Research project No. 1022040701249-2-3.2.4. Agreement No. 075-03-2023-695/1 dated 21.04.2023.

**Author contribution:** Semigolovskii NYu — study concept and design, text development, literature review; Kozaev AV, Nikolskaya EM, Semenova IG — collection and processing of material; Mazurenko SO — literature review, material analysis, editing; Guslev AB, Scheglov AN — material analysis; Balluzek MF — material analysis, editing.

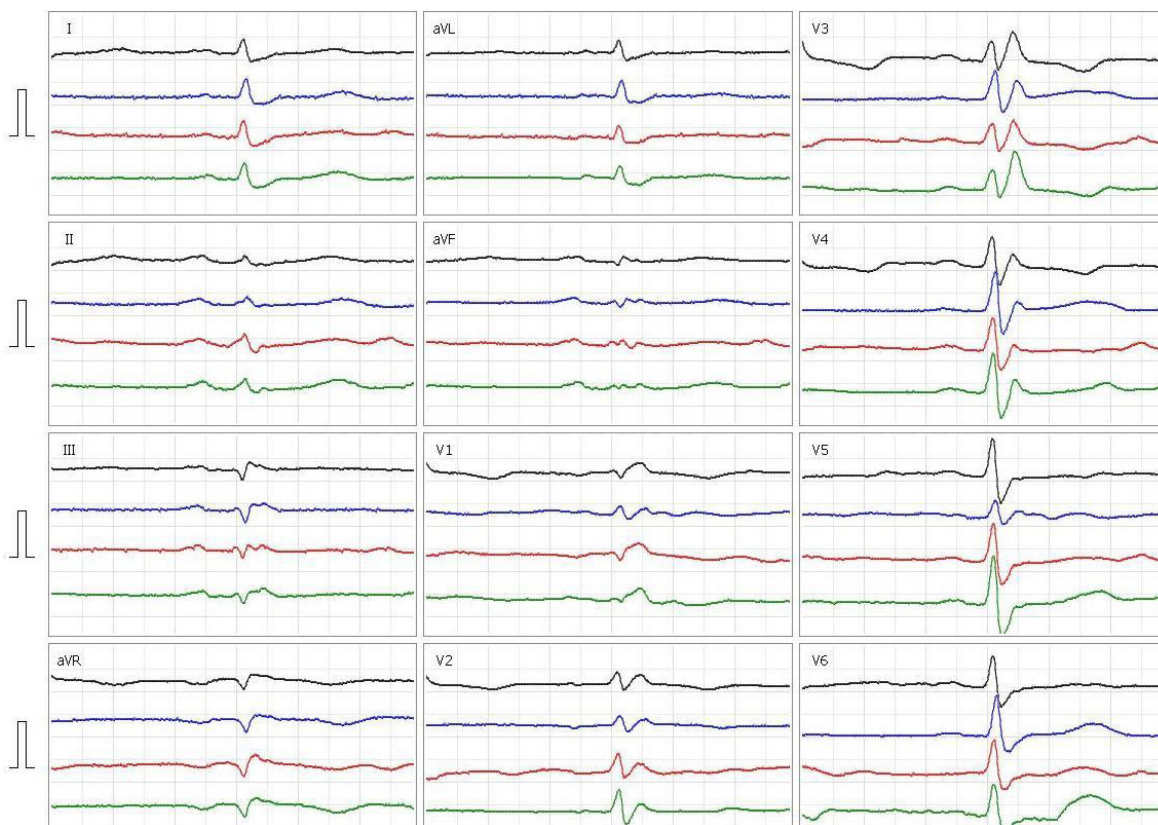
✉ **Correspondence should be addressed:** Nikita Yu. Semigolovskii  
pr. Kultury, 4, Saint Petersburg, 194291, Russia; semigolovski@yandex.ru

**Received:** 29.01.2024 **Accepted:** 17.03.2024 **Published online:** 25.03.2024

**DOI:** 10.47183/mes.2024.010

Чрескожные коронарные вмешательства (ЧКВ) в настоящее время ежегодно в мире выполняют не менее чем у 5 000 000 больных ишемической болезнью сердца (ИБС) [1], из

них более 200 000 ежегодно — в России [2]. Среди основных причин послеоперационной летальности при этом — периоперационный инфаркт миокарда (ИМ),



**Рис. 1.** ЭКГ в динамике пациента X., 76 лет: зеленым цветом показаны результаты ЭКГ от 20.09.2023 (до введения ЛК); красным — от 21.09.2023, синим — от 25.09.2023 и черным — от 26.09.2023 (после введения ЛК)

аритмии и острая сердечная недостаточность вследствие неадекватной защиты миокарда в условиях баллонного расширения и стентирования пораженных коронарных артерий от синдрома ишемии/реперфузии.

В последних Клинических рекомендациях Европейского кардиологического общества 2023 г. по лечению острого коронарного синдрома (ОКС) [3] указано, что в доклинических и клинических исследованиях активно изучаются различные стратегии защиты миокарда при ЧКВ: коронарное посткондиционирование, дистанционное ишемическое кондиционирование, раннее внутривенное введение метопролола, ингибиторов гликопротеина IIb/IIIa, IIIa, препаратов, призванных сохранять целостность митохондрий, продукцию оксида азота. В качестве кардиопротекторов рассматривают аденозин, модуляторы глюкозы, гипотермию и другие методики. Таким образом, средства дополнительной кардиопротекции в наши дни крайне востребованы, а стратегии уменьшения ишемии/реперфузионного повреждения в целом остаются неудовлетворенной клинической потребностью.

Весьма перспективным средством защиты миокарда, с нашей точки зрения, является левокарнитин (L-карнитин,  $\gamma$ -триметиламино- $\beta$ -гидроксипутират, ЛК) — естественный эндогенный компонент тканей млекопитающих. Антиоксидантный эффект ЛК при ишемии/реперфузии может быть обусловлен оптимизацией обмена свободных жирных кислот и ослаблением ингибирующего действия активных форм кислорода на аэробный метаболизм [4]. Доказано, что уровень ЛК резко снижается в ишемизированном миокарде, при остром ИМ, кардиомиопатиях и сердечной недостаточности различного генеза [5, 6].

Практически первым исследованием в России, выявившим положительное влияние ЛК на миокард при

остром ИМ [7], стала работа по изучению протекторных свойств внутривенно вводимого ЛК при ОКС с критерием включения — снижение фракции выброса левого желудочка (ФВЛЖ) менее 40% [8].

Положительное влияние ЛК на течение ОКС было подтверждено и другими авторами. Так, внутривенная терапия ЛК снижала дисперсию скорректированного интервала QT, повышалась биодоступность NO [9, 10]. Положительный эффект применения ЛК у пациентов с ОКС отмечен именно в ранние сроки, наряду с хорошей переносимостью препарата [11]. При остром ИМ достоверно снижались средние пиковые подъемы маркеров некроза миокарда в крови (МВ-КФК и тропонина) [12]. Внутривенное введение ЛК оказалось эффективным как при ишемически-реперфузионном повреждении миокарда, так и при желудочковой дисфункции, аритмиях сердца и токсическом повреждении миокарда. Благоприятные эффекты ЛК были отмечены как у младенцев, подростков, молодых людей и взрослых, так и у пожилых пациентов с острой и хронической сердечной недостаточностью (ХСН) [13–15].

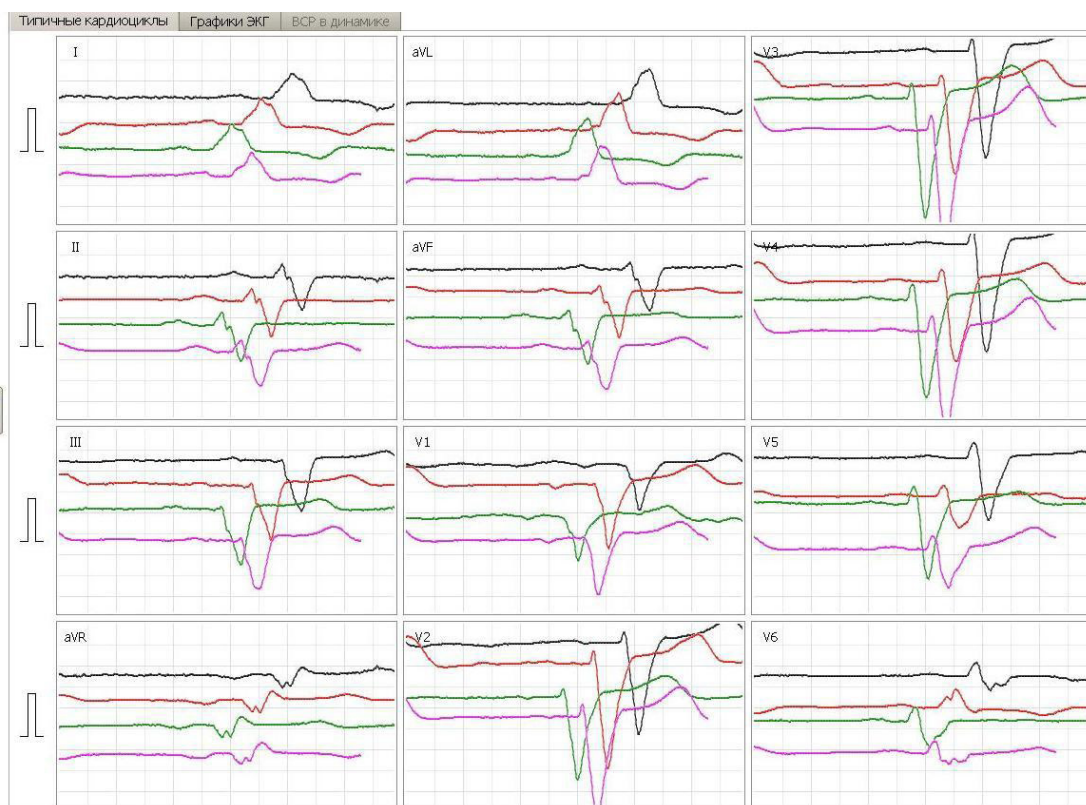
Ранее для адьювантной кардиопротекции при чрескожных вмешательствах использовали триметазидин [16] и фосфокреатин (Неотон) [17], что не вполне оправдало себя и не стало широко распространенной методикой защиты миокарда.

#### Описание клинических случаев

Ранее мы приводили результаты первого клинического применения левокарнитина внутрикоронарно у больного с острым ИМ [18]. Ниже приведем еще два случая использования методики при экстренных ЧКВ у пациентов старческого возраста.







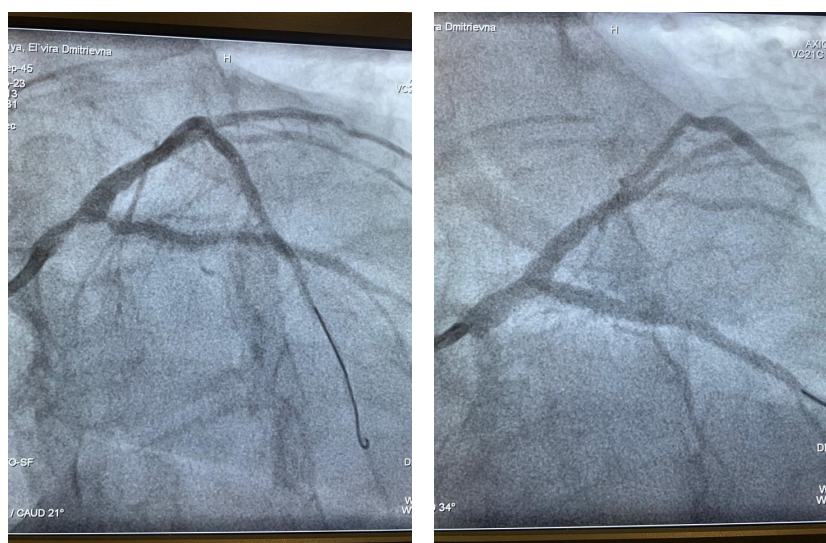
**Рис. 3.** ЭКГ в динамике у пациентки Л., 76 лет: черным цветом показаны результаты ЭКГ 25.09.2023 в 10:32 до введения ЛК (Элькар); красным — от 25.09.2023 в 18:52 после введения ЛК (Элькар), зеленым — от 26.09.2023, розовым — от 29.09.2023

поскольку эта природная субстанция имеет ярко выраженные протекторные свойства, доказанные *in vivo* и *in vitro* (антиоксидантные, антиишемические и метаболические, т. е. связанные с энергообеспечением клетки). Именно при проведении ЧКВ у больных высокого риска (пациенты пожилого и старческого возраста, при многососудистом поражении коронарного русла) можно было бы в сравнении с группой контроля оценить эффективность, быстродействие, безопасность и вероятную дозозависимость такой защиты.

Еще одним поводом к изучению эффективности ЛК у пожилых больных ИБС высокого риска является то обстоятельство, что уровень ЛК в тканях снижается с возрастом и при хронических, и, особенно, при острых ее формах [19]. Немаловажно также, что при использовании

ЛК в составе комплексной фармакотерапии препарат обладает повышенным профилем безопасности у коморбидных пациентов, не оказывая действия на цитохром P450 [20, 21].

С учетом данных крупного метаанализа 13 рандомизированных контролируемых исследований (РКИ) по вторичной профилактике сердечно-сосудистых заболеваний (сравнение ЛК с плацебо) можно ожидать и снижения частоты желудочковых аритмий и приступов стенокардии у пациентов, перенесших ИМ [22]. Вполне вероятным представляется и уменьшение проявлений сердечной недостаточности при использовании описанной методики, поскольку, согласно данным метаанализа 17 РКИ по применению ЛК у пациентов с ХСН [23], после



**Рис. 4.** Ангиограммы пораженной коронарной артерии пациентки Л. до имплантации стентов (слева) и после имплантации (справа)

Таблица 2. Динамика уровня биомаркеров ишемии/некроза миокарда пациентки Л.

	Референсные значения	25.09.2023	27.09.2023	28.09.2023
Высокочувствительный тропонин I (hsTnI)	0–39,2 пг/мл	12,1	132,2	73,9
ALT	10–40 ед./л	20	39	15
AST	10–40 ед./л	18	28	17
КФК	0–190 ед./л			83
КФК-МВ	0–24 ед./л	7	9	8

Примечание: ALT — аланинаминотрансфераза, AST — аспартатаминотрансфераза, КФК — креатинфосфокиназа, КФК-МВ — мышечно-мозговая фракция КФК.

введения препарата были выявлены увеличение ФВЛЖ, оптимизация конечно-диастолического размера и конечно-систолического объема ЛЖ, значительное снижение уровней мозгового натрийуретического пептида (BNP) в крови и N-терминального мозгового натрийуретического пропептида (NT-proBNP) [24].

Послеоперационный период, как видно, протекал в обоих наших случаях сравнительно гладко, были отмечены сглаженность динамики биомаркеров (тропонин I, креатинфосфокиназа, МВ-фракция креатинфосфокиназы, трансаминазы), стабильность систолической функции миокарда, а ишемические сдвиги ЭКГ были мало выражены.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, предлагаемая технология введения ЛК внутрикoronарно в ходе ЧКВ у пациентов высокого риска может стать эффективной для защиты миокарда от осложнений ишемии/реперфузии, что позволит улучшить результаты реваскуляризации и снизить частоту осложнений. Ввиду немногочисленности пока имеющихся наблюдений убедительные выводы можно будет представить только после накопления и анализа достаточного объема материала в рамках запланированных будущих исследований.

Литература

- Serruys PW, Rutherford JD. The birth, and evolution, of percutaneous coronary interventions: a conversation with Patrick Serruys. *Circulation*. 2016; 134: 97–100. Available from: <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.116.023681>.
- Matskeplishvili S, Kontsevaya A. Cardiovascular Health, Disease, and Care in Russia. *Circulation*. 2021; 144 (8): 586–8. Available from: <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.121.055239>.
- Byrne RA, et al. 2023 ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes: Developed by the task force on the management of acute coronary syndromes of the European Society of Cardiology (ESC). *European Heart Journal*. 2023; 44 (38): 3720–826. Available from: <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehad191>.
- Moghaddas A, Dashti-Khavidaki S. Potential protective effects of L-carnitine against neuromuscular ischemia-reperfusion injury: From experimental data to potential clinical applications. *Clinical Nutrition*. 2016; 35 (4): 783–90. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2015.07.001>.
- Верткин А. Л. L-карнитин в медицинской практике: доказанные эффекты. *Неврология и ревматология*. 2012; 1: 83–86.
- Yoshihisa A, Watanabe S, Yokokawa T, Misaka T, Sato T, Suzuki S, et al. Associations between acylcarnitine to free carnitine ratio and adverse prognosis in heart failure patients with reduced or preserved ejection fraction. *ESC Heart Fail*. 2017; 4 (3): 360–4. Available from: <https://doi.org/10.1002/ehf2.12176>.
- Аронов Д. М. Реалии и перспективы применения L-карнитина в кардиологии. *Российский кардиологический журнал*. 2013; 5 (103): 73–80.
- Семиголовский Н. Ю., Верцинский Е. К., Азанов Б. А., Иванова Е. В. Положительные инотропные свойства левокарнитина при синдроме малого выброса у больных острым инфарктом миокарда. *Кардиология и сердечно-сосудистая хирургия*. 2013; (3): 43–46.
- Глезер М. Г., Киселева А. Е., Асташкин Е. И. Влияние L-карнитина на дисперсию интервала QT у пациентов с острым коронарным синдромом. *Кардиология*. 2015; 55 (3): 4–9. Доступно по ссылке: <https://doi.org/10.18565/cardio.2015.3.4-9>.
- Zhao M, Jiang Q, Wang W, Geng M, Wang M, Han Y, et al. The roles of reactive oxygen species and nitric oxide in perfluorooctanoic acid-induced developmental cardiotoxicity and L-carnitine mediated protection. *Int J Mol Sci*. 2017; 18 (6). pii:E1229. Available from: <https://doi.org/10.3390/ijms18061229>.
- Пасечник И. Н., Скобелев Е. И. Перспективы метаболической терапии критических состояний. *Доктор.Ру*. 2015; 109 (8)–110 (9): 22–27. Доступно по ссылке: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=25137188>.
- Xue YZ, Wang LX, Liu HZ, et al. L-carnitine as an adjunct therapy to percutaneous coronary intervention for non-ST elevation myocardial infarction. *Cardiovasc Drugs Ther*. 2007; 21: 445–8. Available from: <https://doi.org/10.1007/s10557-007-6056-9>.
- Семиголовский Н. Ю., Азанов Б. А., Иванова Е. В., Быков П. В. Случай успешного стентирования ствола левой коронарной артерии у больной с рецидивирующим инфарктом миокарда, осложненным кардиогенным шоком и полиорганной недостаточностью. *Клиническая больница*. 2017; 21 (3): 36–41. Доступно по ссылке: [https://pureportal.spbu.ru/files/96188822/Magazine\\_03\\_2017.pdf](https://pureportal.spbu.ru/files/96188822/Magazine_03_2017.pdf).
- Wang ZYu, Liu YY, Liu GH, Lu HB, Mao CY. L-Carnitine and heart disease. *Life Sci*. 2018; 194: 88–97. DOI: 10.1016/j.lfs.2017.12.015 PMID: 29241711.
- Семиголовский Н. Ю., Мазуренко С. О., Семиголовский С. Н., Шабалина М. О. Случай успешного лечения полной атриовентрикулярной блокады, осложненной внезапной аритмической смертью, у больного старческого возраста с тромбозом вен в постковидном периоде. *Атеротромбоз*. 2021; 11 (2): 103–20.
- Kober G, Buck T, Sievert H, Vallbracht C. Myocardial protection during percutaneous transluminal coronary angioplasty: effects of trimetazidine. *Eur Heart J*. 1992; 13 (8): 1109–15. Available from: <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.eurheartj.a060322>.
- Iosseliani DG, Koledinsky AG, Kuchkina NV. Does intracoronary injection of phosphocreatine prevent myocardial reperfusion injury following angioplasty of infarct-related artery in acute-stage of myocardial infarction? *J Interv Cardiol*. 2004; (6): 10–14. Available from: <http://ijic.ru/en/pdf/06E.pdf>.
- Воронин М. С., Баллюзек М. Ф., Семиголовский Н. Ю. Цитопротективное действие левокарнитина при интракоронарном введении в ходе чрескожных коронарных вмешательств у острых коронарных больных. *Сб. научн. трудов СПб больницы РАН 2022*. СПб.: ПОЛИТЕХ-ПРЕСС, 2022; с. 113–20.
- Costell M, O'Connor JE, Grisolia S. Age-dependent decrease of carnitine content in muscle of mice and humans. *Biochem Biophys Res Commun*. 1989; 161 (3): 1135–43. Available from: [https://doi.org/10.1016/0006-291x\(89\)91360-0](https://doi.org/10.1016/0006-291x(89)91360-0).
- Махова А. А., Шумянцева В. В., Ших Е. В., Булко Т. В., Супрун



- E. В., Кузиков А. В., и др. Регуляция активности ферментов метаболизма лекарственных препаратов — цитохромов P450 3A4 и 2C9 — биологически активными соединениями. *Молекулярная медицина*. 2013; 5: 49–53. Доступно по ссылке: <https://molmedjournal.ru/archive/molecmed-2013-05-09.pdf>.
- Makhova AA, Shich EV, Kukes VG, Sizova OS, Ramenskaya GV, Shumyantseva VV, et al. Electroanalysis of cytochrome P450 3A4 catalytic properties with nanostructured electrodes: the influence of vitamin B group on diclofenac metabolism. *BioNanoScience*. 2011; 1 (1–2): 46–52. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s12668-011-0007-4>.
  - DiNicolantonio JJ, Lavie CJ, Fares H, Menezes AR, O'Keefe JH. L-Carnitine in the secondary prevention of cardiovascular disease: systematic review and meta-analysis. *Mayo Clin Proc*. 2013; 88 (6): 544–51. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2013.02.007>. Epub 2013 Apr 15.
  - Song X, Qu H, Yang Z, Rong J, Cai W, Zhou H. Efficacy and Safety of L-Carnitine Treatment for Chronic Heart Failure: A Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *BioMed Research International*. 2017; Article ID 6274854, 11 p. Available from: <https://doi.org/10.1155/2017/6274854>.
  - Ефремова Ю. Е. Эффективность и безопасность применения L-карнитина при хронической сердечной недостаточности: метаанализ рандомизированных контролируемых исследований (реферат). *ПМЖ*. 2017; 20: 1471–80.
- References**
- Serruys PW, Rutherford JD. The birth, and evolution, of percutaneous coronary interventions: a conversation with Patrick Serruys. *Circulation*. 2016; 134: 97–100. Available from: <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.116.023681>.
  - Matskeplishvili S, Kontsevaya A. Cardiovascular Health, Disease, and Care in Russia. *Circulation*. 2021; 144 (8): 586–8. Available from: <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.121.055239>.
  - Byrne RA, et al. 2023 ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes: Developed by the task force on the management of acute coronary syndromes of the European Society of Cardiology (ESC). *European Heart Journal*. 2023; 44 (38): 3720–826. Available from: <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehad191>.
  - Moghaddas A, Dashti-Khavidaki S. Potential protective effects of l-carnitine against neuromuscular ischemia-reperfusion injury: From experimental data to potential clinical applications. *Clinical Nutrition*. 2016; 35 (4): 783–90. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2015.07.001>.
  - Vertkin AL. L-karnitin v medicinskoj praktike: dokazannye jeffekty. *Nevrologija i revmatologija*. 2012; 1: 83–86. Russian.
  - Yoshihisa A, Watanabe S, Yokokawa T, Misaka T, Sato T, Suzuki S, et al. Associations between acylcarnitine to free carnitine ratio and adverse prognosis in heart failure patients with reduced or preserved ejection fraction. *ESC Heart Fail*. 2017; 4 (3): 360–4. Available from: <https://doi.org/10.1002/ehf2.12176>.
  - Aronov DM. Realii i perspektivy primenenija L-karnitina v kardiologii. *Rossijskij kardiologičeskij zhurnal*. 2013; 5 (103): 73–80. Russian.
  - Semigolovskii NYu, Vertinskiy EK, Azanov BA, Ivanova EV. Polozhitel'nye inotropnye svojstva levokarnitina pri sindrome malogo vybrosa u bol'nyh ostrym infarktomiokarda. *Kardiologija i cerdechno-sosudistaja hirurgija*. 2013; (3): 43–46. Russian.
  - Glezer MG, Kiseleva AE, Astashkin EI. Vlijanie L-karnitina na dispersiju intervala QT u pacientov s ostrym koronarnym sindromom. *Kardiologija*. 2015; 55 (3): 4–9. Available from: <https://doi.org/10.18565/cardio.2015.3.4-9>. Russian.
  - Zhao M, Jiang Q, Wang W, Geng M, Wang M, Han Y, et al. The roles of reactive oxygen species and nitric oxide in perfluorooctanoic acid-induced developmental cardiotoxicity and l-carnitine mediated protection. *Int J Mol Sci*. 2017; 18 (6). pii:E1229. Available from: <https://doi.org/10.3390/ijms18061229>.
  - Pasechnik IN, Skobelev EI. Perspektivy metabolicheskoj terapii kritičeskijh sostojanij. *Doktor.Ru*. 2015; 109 (8) — 110 (9): 22–27. Available from: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=25137188>. Russian.
  - Xue YZ, Wang LX, Liu HZ, et al. L-carnitine as an adjunct therapy to percutaneous coronary intervention for non-ST elevation myocardial infarction. *Cardiovasc Drugs Ther*. 2007; 21: 445–8. Available from: <https://doi.org/10.1007/s10557-007-6056-9>.
  - Semigolovskii NYu, Azanov BA, Ivanova EV, Bykov PV. Slučaj uspeshnogo stentirovanija stvola levoj koronarnoj arterii u bol'noj s recidivirujushhim infarktomiokarda, oslozhnennym kardiogenym shokom i poliorgannoj nedostatočnost'ju. *Kliničeskaja bol'nica*. 2017; 21 (3): 36–41. Available from: [https://pureportal.spbu.ru/files/96188822/Magazine\\_03\\_2017.pdf](https://pureportal.spbu.ru/files/96188822/Magazine_03_2017.pdf). Russian.
  - Wang ZY, Liu YY, Liu GH, Lu HB, Mao CY. l-Carnitine and heart disease. *Life Sci*. 2018; 194: 88–97. DOI: 10.1016/j.lfs.2017.12.015 PMID: 29241711.
  - Semigolovskii NYu, Mazurenko SO, Semigolovskii SN, Shabalina MO. Slučaj uspeshnogo lechenija polnoj atrioventrikul'jarnoj blokady, oslozhnennoj vnezapnoj aritmicheskoj smert'ju, u bol'nogo starčeskogo vozrasta s trombotičeskoj v postkovidnom periode. *Aterotromboz*. 2021; 11 (2): 103–20. Russian.
  - Kober G, Buck T, Sievert H, Vallbracht C. Myocardial protection during percutaneous transluminal coronary angioplasty: effects of trimetazidine. *Eur Heart J*. 1992; 13 (8): 1109–15. Available from: <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.eurheartj.a060322>.
  - Iosseliani DG, Koledinsky AG, Kuchkina NV. Does intracoronary injection of phosphocreatine prevent myocardial reperfusion injury following angioplasty of infarct-related artery in acute-stage of myocardial infarction? *J Interv Cardiol*. 2004; (6): 10–14. Available from: <http://ijic.ru/en/pdf/06E.pdf>.
  - Voronin MS, Balluzek MF, Semigolovskii NYu. Citoprotektivnoe dejstvie levokarnitina pri intrakoronarnom vvedenii v hode chreskoznyh koronarnyh vmeshatel'stv u ostrych koronarnyh bol'nyh. *Sb. nauchn. trudov SPb bol'nicy RAN 2022*. SPb.: POLLITEH-PRESS, 2022; c. 113–20. Russian.
  - Costell M, O'Connor JE, Grisolia S. Age-dependent decrease of carnitine content in muscle of mice and humans. *Biochem Biophys Res Commun*. 1989; 161 (3): 1135–43. Available from: [https://doi.org/10.1016/0006-291x\(89\)91360-0](https://doi.org/10.1016/0006-291x(89)91360-0).
  - Mahova AA, Shumjanceva VV, Shih EV, Bulko TV, Suprun EV, Kuzikov AV, et al. Regulacija aktivnosti fermentov metabolizma lekarstvennyh preparatov — citohromov R450 3A4 i 2S9 — biologičeski aktivnymi soedinenijami. *Molekul'jarnaja medicina*. 2013; 5: 49–53. Available from: <https://molmedjournal.ru/archive/molecmed-2013-05-09.pdf>. Russian.
  - Makhova AA, Shich EV, Kukes VG, Sizova OS, Ramenskaya GV, Shumyantseva VV, et al. Electroanalysis of cytochrome P450 3A4 catalytic properties with nanostructured electrodes: the influence of vitamin B group on diclofenac metabolism. *BioNanoScience*. 2011; 1 (1–2): 46–52. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s12668-011-0007-4>.
  - DiNicolantonio JJ, Lavie CJ, Fares H, Menezes AR, O'Keefe JH. L-Carnitine in the secondary prevention of cardiovascular disease: systematic review and meta-analysis. *Mayo Clin Proc*. 2013; 88 (6): 544–51. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2013.02.007>. Epub 2013 Apr 15.
  - Song X, Qu H, Yang Z, Rong J, Cai W, Zhou H. Efficacy and Safety of L-Carnitine Treatment for Chronic Heart Failure: A Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *BioMed Research International*. 2017; Article ID 6274854, 11 p. Available from: <https://doi.org/10.1155/2017/6274854>.
  - Efremova YuE. Jeffektivnost' i bezopasnost' primenenija L-karnitina pri hroničeskoj serdečnoj nedostatočnosti: metaanaliz randomizirovannyh kontroliruemyh issledovanij (referat). *RMZh*. 2017; 20: 1471–80. Russian.



## КЛИНИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ЗАТЯЖНОГО ТЕЧЕНИЯ КИШЕЧНОЙ ИНФЕКЦИИ, АССОЦИИРОВАННОЙ С *KLEBSIELLA PNEUMONIAE*, У РЕБЕНКА ГРУДНОГО ВОЗРАСТА

Н. В. Гончар<sup>1,2</sup>✉, А. К. Коперсак<sup>1</sup>, Н. В. Скрипченко<sup>1,3</sup>, И. В. Раздьяконова<sup>1</sup>, Ю. А. Подлипная<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Детский научно-клинический центр инфекционных болезней Федерального медико-биологического агентства, Москва, Россия

<sup>2</sup> Северо-Западный государственный университет имени И. И. Мечникова Минздрава Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

<sup>3</sup> Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет Минздрава Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

Разработка комплексных критериев диагностики, дифференциальной диагностики и оптимизации лечения инфекционных диарей, ассоциированных с условно-патогенными энтеробактериями, — одна из важных задач научной и практической педиатрии. Представлен клинический случай затяжного течения кишечной инфекции, ассоциированной с *Klebsiella pneumoniae*, протекавшей в виде геморрагического энтероколита в среднетяжелой форме, у ребенка грудного возраста, что объяснялось снижением неспецифической резистентности по причине неблагоприятного акушерско-гинекологического анамнеза матери, перинатального поражения ЦНС, железодефицитной анемии, белково-энергетической недостаточности. После первой госпитализации на фоне присоединения норовирусной инфекции отмечали рецидив заболевания. Для достижения положительного эффекта лечения потребовалось проведение трех курсов кишечных антисептиков и пробиотиков, хотя обычно в подобной ситуации достаточно одного курса данных препаратов. Процесс выздоровления сопровождался улучшением состояния питания, купированием гемоколита, нормализацией микрофлоры кишечника.

**Ключевые слова:** кишечные инфекции, дети раннего возраста, условно-патогенные энтеробактерии, диагностика, лечение

**Вклад авторов:** Н. В. Гончар — написание и редактирование статьи; Н. В. Скрипченко — редактирование статьи; А. К. Коперсак, И. В. Раздьяконова, Ю. А. Подлипная — ведение пациента, написание статьи.

**Соблюдение этических стандартов:** от родителей пациента было получено добровольное информированное согласие на публикацию клинического случая.

✉ **Для корреспонденции:** Наталья Васильевна Гончар  
ул. Казанская, д. 45, г. Санкт-Петербург, 190000, Россия; nvgonchar@yandex.ru

**Статья получена:** 29.11.2023 **Статья принята к печати:** 26.01.2024 **Опубликована онлайн:** 20.03.2024

**DOI:** 10.47183/mes.2024.006

## CLINICAL FEATURES OF PROTRACTED INTESTINAL INFECTION ASSOCIATED WITH *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* IN AN INFANT

Gonchar NV<sup>1,2</sup>✉, Kopersak AK<sup>1</sup>, Skripchenko NV<sup>1,3</sup>, Razdyakonova IV<sup>1</sup>, Podlipnaya YuA<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Pediatric Research and Clinical Center for Infectious Diseases of the Federal Medical Biological Agency, Moscow, Russia

<sup>2</sup> Mechnikov North-Western State Medical University, Saint Petersburg, Russia

<sup>3</sup> Saint Petersburg State Pediatric Medical University, Saint Petersburg, Russia

The development of complex criteria for the diagnosis, differential diagnosis, and optimization of treatment of infectious diarrhea associated with opportunistic *Enterobacteriaceae* is a pressing issue of pediatric research and practice. The paper reports a clinical case of protracted intestinal infection associated with *Klebsiella pneumoniae* in the form of moderate hemorrhagic enterocolitis in an infant, which is explained by the decrease in specific resistance due to unfavorable maternal obstetric and gynecological history, perinatal CNS injury, iron deficiency anemia, protein-energy malnutrition. The disease relapse associated with secondary norovirus infection was reported after the first hospitalization. Three courses of intestinal antiseptics and probiotics were required to achieve a beneficial treatment outcome, although usually in such a situation one course of such drugs is enough. The recovery process was accompanied by the nutritional status improvement, hemorrhagic colitis relief, normalization of gut microbiota.

**Keywords:** intestinal infections, infants, opportunistic enterobacteria, diagnosis, treatment

**Author contribution:** Gonchar NV — manuscript writing and editing; Skripchenko NV — manuscript editing; Kopersak AK, Razdyakonova IV, Podlipnaya YuA — patient management, manuscript writing.

**Compliance with the ethical standards:** the informed consent to publication of case report was obtained from the patient's parents.

✉ **Correspondence should be addressed:** Natalia V. Gonchar  
Kazanskaya, 45, Saint Petersburg, 190000, Russia; nvgonchar@yandex.ru

**Received:** 29.11.2023 **Accepted:** 26.01.2024 **Published online:** 20.03.2024

**DOI:** 10.47183/mes.2024.006

Заболеемость острыми кишечными инфекциями (ОКИ) — актуальная проблема. По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), ежегодно регистрируют более миллиарда случаев ОКИ, 20 млн из которых протекают в тяжелой форме, а 1/2 летальных случаев приходится на детей в возрасте до 5 лет [1]. При этом доля случаев ОКИ, ассоциированных с условно-патогенными энтеробактериями, составляет 12,8% [2].

Лидирующим условно-патогенным возбудителем ОКИ сегодня выступает *Klebsiella pneumoniae* [3, 4]. Основная часть пациентов — дети раннего возраста с

несформированной микрофлорой кишечника и незрелой иммунной системой, с проявлениями хронических расстройств питания и анемии, негативно влияющих на неспецифическую резистентность [5–7] и способствующих затяжному течению ОКИ с последующим формированием гастроэнтерологической патологии [8–11].

Разработка комплексных критериев диагностики, оптимизация лечебной тактики инфекционных диарей, в том числе вызванных условно-патогенными возбудителями, у детей для улучшения исходов — одна из важных задач научной и практической педиатрии [3, 12–14].

Целью данной работы было изучить клинические особенности затяжного течения ОКИ, ассоциированной с *K. pneumoniae*, у ребенка грудного возраста для выявления проблем диагностики и терапии.

### Описание клинического случая

Представлено клиническое наблюдение ОКИ, ассоциированной с *K. pneumoniae*, у ребенка во время трехкратной госпитализации в отделение кишечных инфекций ДНКЦИБ ФМБА России. При постановке диагноза проведен анализ анамнеза, клинических симптомов, результатов объективного и лабораторного обследования (клинический и биохимический анализы крови, мочи, копрограммы), данных инструментального скрининга (ЭКГ, Эхо-КГ; УЗИ органов брюшной полости, почек, мочевого пузыря; нейросонографии головного мозга, ЭЭГ). Верификацию этиологии ОКИ проводили с помощью полимеразной цепной реакции

(ПЦР) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией с использованием набора реагентов АмплиСенс® ОКИ скрин-FL (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора; Россия) для качественного определения и дифференциации в образцах фекалий ДНК бактерий рода Шигелла (*Shigella spp.*) и энтероинвазивных *E. coli* (EIEC), Сальмонелла (*Salmonella spp.*) и термофильных кампилобактерий (*Campylobacter spp.*), аденовирусов группы F (*Adenovirus F*) и РНК ротавирусов группы А (*Rotavirus A*), норовирусов 2-го генотипа (*Norovirus 2-й генотип*), астровирусов; бактериологического исследования фекалий на дизентерийно-тифо-паратифозную группу, *Campylobacter spp.*, условно-патогенные энтеробактерии; фермент-связанного флуоресцентного анализа с определением токсинов *C. difficile* А и В в кале; серологических исследований (РНГА) для выявления антител к *S. sonnei*, *S. flexneri*, *Salmonella spp.*, *Y. enterocolitica* О3, *Y. enterocolitica* О9. Дисбиоз кишечника выявляли по содержанию атипичной *E. coli* в кале (lg КОЕ/мл).

Таблица 1. Особенности течения ОКИ, ассоциированной с *K. pneumoniae*, у ребенка грудного возраста

Признаки заболевания	Периоды наблюдения					
	Стационар		Стационар		Стационар	
	13.03	21.03	03.04	13.04	18.05	24.05
Возраст	2 месяца 17 дней		3 месяца 10 дней		4 месяца 24 дня	
Длина тела, см (баллы)	60,0 (4)	60,0 (4)	60,0 (4)	60 (3)	60 (2)	60 (2)
Масса тела по росту, кг (баллы)	5,270 (2)	5,300 (3)	5,720 (4)	5,920 (4)	5,740 (4)	5,850 (4)
Температура тела, °С	36	36,7	36,3	36,5	36,5	36,7
Вялость		–		–		–
Снижение аппетита	+ 2 недели	–	+ с 31.03	–	+ с 17.04	–
Снижение прибавок массы тела	+ 2 недели	–	±	+	+	–
Обильные срыгивания, редкие случаи рвоты	+	–	+	–	–	–
Кишечные колики		–		–		–
Метеоризм		–		–		–
Жидкий стул	2 недели, 3–4 раза в сутки	кашицеобразный	+ с 01.04	кашицеобразный	разжиженный 1–2 раза в сутки	–
Обилие слизи в жидких каловых массах	2 недели, 3–4 раза в сутки	–	+ с 01.04	–	±	–
Примесь крови в жидких каловых массах	3 дня, 3–4 раза в сутки	–	+ с 01.04	–	–	–
Диурез	сохранен	нормальный	сохранен	нормальный	сохранен	нормальный
Основной клинический диагноз	A04.8 — Другие уточненные бактериальные кишечные инфекции. Острый гастроэнтероколит, ассоциированный с <i>K. pneumoniae</i> , средней степени тяжести		A08.1 — Острая гастроэнтеропатия норовирусной этиологии. Острый гастроэнтерит средней степени тяжести		A09 — Другой энтероколит неуточненного происхождения легкой степени тяжести	
Сопутствующий диагноз	D50.9 — Железодифицитная анемия легкой степени тяжести. E44 — Белково-энергетическая недостаточность умеренной и легкой степени		A04.8 — Другие уточненные бактериальные кишечные инфекции. Острый энтерит, геморрагический колит, ассоциированный с <i>K. pneumoniae</i> , средней степени тяжести, затяжное течение. D50.9 — Железодифицитная анемия легкой степени		D50.9 — Железодифицитная анемия легкой степени	
Осложнение основного диагноза	E87 — Другие нарушения водно-солевого и кислотно-щелочного равновесия, эксикоз 1 степени тяжести		E87 — Другие нарушения водно-солевого и кислотно-щелочного равновесия, эксикоз 1 степени тяжести			

Мальчик М. в возрасте 2 месяцев 17 дней поступил по скорой помощи 13.03.2023 с жалобами на жидкий стул с примесью слизи и крови.

Анамнез болезни. Болен 2 недели, на фоне появления обильных срыгиваний и кишечных колик имели место снижение аппетита, потеря массы тела, отмечали большое количество слизи в жидких каловых массах с частотой 3–4 раза в сутки. В последние трое суток участились

срыгивания, появились прожилки крови в стуле 3–4 раза в сутки (табл. 1).

Анамнез жизни. Ребенок от 1-й беременности, протекавшей с гестозом, угрозами выкидыша. Роды срочные. Масса тела при рождении — 3060 г, длина тела 50 см. Период новорожденности без патологии. Ребенок находится на грудном вскармливании. В первые 2 месяца прибавки массы тела составляли по 900 г.

Таблица 2. Данные лабораторных исследований ребенка с ОКИ, ассоциированной с *K. pneumoniae*, в периоды стационарного лечения

Показатели	Норма	Даты исследований				
		стационар		стационар		стационар
		13.03.23	20.03.23	03.04.23	11.04.23	18.05.23
Гемограмма						
Лейкоциты, 10 <sup>9</sup> /л	6,0–17,5	5,6	6,3	11,12	12,25	8,5
Эритроциты, 10 <sup>12</sup> /л	3,6–4,9	3,2	3,4	3,26	3,25	3,85
Гемоглобин, г/л	110–135	96	100	89	90	102
Гематокрит, %	33,0–47,5	27,6	28,1	26,6	26,7	29,9
Средний объем эритроцитов, фл	70,0–84,0	86,1	84,1	81,7	82,1	77,8
Тромбоциты, 10 <sup>9</sup> /л	180–400	398	635	483	470	438
Тромбоцитрит, %	0,10–0,40	0,34	0,55	0,44	0,43	0,4
Нейтрофилы, %	15,5–49,0	30,4	29,3	22,8	27	26,2
Лимфоциты, %	38,0–72,0	61	75	67,7	61,4	64,6
Моноциты, %	2,0–12,0	1	1	7	7,3	6,2
Эозинофилы, %	0,0–6,0	1	5	2,5	4,3	3
Эозинофилы, 10 <sup>9</sup> /л	0,10–1,00	0,06	0,15	0,28	0,53	0,25
СОЭ, мм/ч	2–17	25	10	18	7	3
Биохимический анализ крови						
АЛТ, ед /л	0,00–55,0	28		41,6		35
Мочевина, ммоль/л	2,78–8, 07	3,66	2,35	1,67		1,87
Билирубин общий, мкмоль/л	0,00–21,00					3
Креатинин PАР, мкмоль/л	15,0–37,0	41	22	35		24
Глюкоза, ммоль/л	3,5–5,8	5,1		5,2		5,2
Амилаза, ед/л	28,0–100,0	9		12		15
С-реактивный белок	0,0–5,0			1,4		
Железо, мкмоль/л	9,5–30,0			8		8,3
Электролиты крови						
Калий, ммоль/л	3,7–5,7	6	5,7	5,6		4,7
Натрий, ммоль/л	130–145	135	134	135		136
Кальций, ммоль/л	1,00–1,29	1,28		1,27		1,27
Копрограмма						
Скрытая кровь		+	–	–	–	–
Цвет		желто-зеленый	желто-зеленый	желто-коричневый	желто-коричневый	желто-зеленый
Консистенция		кашице-образный	кашице-образный	мягко-образный	кашице-образный	кашице-образный
pH		6	6	6	7	6
Лейкоциты в слизи		18–20	8–10	–	–	3–5
Эритроциты		–	–	–	–	–
Слизь		+++	+++	–	–	+
Бактериологические исследования фекалий						
Даты исследований						
<i>Klebsiella pneumoniae</i> , КОЕ/мл		10 <sup>6</sup>	10 <sup>5</sup>	10 <sup>6</sup>		10 <sup>4</sup>
<i>E. coli</i> , нетипируемая, лактозо-негативная, КОЕ/мл		10 <sup>6</sup>		10 <sup>6</sup>		
<i>E. coli</i> , нетипируемая, лактозо-позитивная, КОЕ/мл			10 <sup>3</sup>			10 <sup>3</sup>

Таблица 3. Особенности лечения ребенка грудного возраста с ОКИ, ассоциированной с *K. pneumonia*

Терапия	Стационар	Поликлиника	Стационар	Поликлиника	Стационар	Поликлиника
	13.03–21.03		03.04–13.04		18.05–25.05	
Вскармливание	Грудное	Грудное + докорм безлактозной смесью	Грудное + докорм безлактозной смесью	Грудное + докорм безлактозной смесью	Грудное + первый прикорм на воде	Грудное + прикормы
Оральная регидратация	Регидратирующий раствор для детей	–	Регидратирующий раствор для детей	–	Регидратирующий раствор для детей	–
Сорбенты	–	–	–	–	Лигнин гидролизный	–
Пробиотики	+	+	+	+	+	+
Кишечные антисептики	Нифуроксазид 5 дней	Нифуроксазид 5 дней	Нифурател 4 дня	Нифурател 6 дней	–	–
Кишечные пеногасители	Симетикон 6 дней	Симетикон по требованию	Симетикон 9 дней	–	–	–
Прокинетики	–	–	Домперидон 6 дней	–	–	–
Пищеварительные ферменты	БАД источник фермента лактазы	–	–	–	–	–
Препараты железа	–	Железа (III) гидроксид полимальтозат	Железа (III) гидроксид полимальтозат	Железа (III) гидроксид полимальтозат	Железа (III) гидроксид полимальтозат	Железа (III) гидроксид полимальтозат

Привит в родильном доме против туберкулеза и гепатита В. Наследственный анамнез не отягощен.

При поступлении общее состояние ребенка средней тяжести. Температура тела 36,0 °С. Длина тела 60 см (4 балла). Масса тела по росту — 5270 г (2 балла). Сознание ясное. Кожные покровы и слизистые оболочки бледно-розовые, чистые. Питание умеренно снижено (дефицит массы тела более 10%). Тургор кожи не снижен. Оценка степени дегидратации по клинической шкале ВОЗ — легкая. Слизистая оболочка ротоглотки не гиперемирована. Периферические лимфоузлы не увеличены, безболезненные. Костная и мышечная система без патологии. Пульс — 138 уд/мин. АД — 90/64 мм рт. ст. Границы сердца не расширены, тоны ясные, ритмичные. Частота дыхания — 26 в минуту. Дыхание пуэрильное. Перкуторный звук легочный. Живот мягкий, безболезненный. Печень пальпируется на 1–1,5 см ниже реберной дуги; селезенка не увеличена. Стул желто-зеленый, жидкий со слизью и примесью крови (осмотрен). Диурез сохранен.

В клиническом анализе крови выявлено снижение количества лейкоцитов, эритроцитов, гемоглобина, гематокрита, снижение содержания моноцитов, эозинофилов, повышение скорости оседания эритроцитов (СОЭ) (табл. 2), что свидетельствовало о воспалительных изменениях, наличии анемии 1-й степени тяжести. В биохимическом анализе крови определяли повышение уровня креатинина, калия, снижение амилазы, что расценивали как проявления острого повреждения почек и снижения секреторной функции поджелудочной железы, обусловленных синдромами интоксикации и дегидратации. В фекалиях методом Грегерсена выявлена скрытая кровь, микроскопически — наличие лейкоцитов до 20 в поле зрения, обилие слизи, эритроцитов нет. По данным бактериологического исследования кала обнаружен рост *K. pneumoniae* в диагностически значимом титре — 10<sup>6</sup> КОЕ/мл (отмечена чувствительность к амоксицилину, цефтриаксону, гентамицину, налидиксовой кислоте, нитрофурантоину, триметоприму; резистентность — к клебсиеллезному поливалентному бактериофагу), что стало основанием для постановки этиологического

диагноза: A04.8 — Другие уточненные бактериальные кишечные инфекции. Острый гастроэнтероколит, ассоциированный с *K. pneumoniae*, средней степени тяжести (табл. 1). Отмечали рост нетипируемой лактозо-негативной *E. coli* в высоком титре, 10<sup>6</sup> КОЕ/мл, косвенно свидетельствующий о наличии дисбиоза кишечника.

По данным инструментального диагностического скрининга (ЭКГ, Эхо-КГ; УЗИ органов брюшной полости, почек, мочевого пузыря), выявлены: неполная блокада правой ножки пучка Гиса; открытое овальное окно гемодинамически незначимое, дополнительная хорда левого желудочка; деформация желчного пузыря, умеренное увеличение печени, жидкостное содержимое в петлях кишечника, утолщение стенки кишечника до 2 мм.

Лечение включало диетотерапию (грудное вскармливание в уменьшенном объеме с расчетом на фактическую массу тела), оральную регидратацию, кишечные антисептики (нифуроксазид по 100 мг 3 раза в сутки), пробиотик, ферментные препараты (БАД источник фермента лактазы), симптоматические средства (симетикон) (табл. 3). В результате лечения улучшилось самочувствие, купировались рвоты и обильные срыгивания, исчез метеоризм, нормализовался стул, однако прибавки в массе тела были недостаточны. Улучшились показатели красной крови; нормализовалось количество лейкоцитов, СОЭ; отмечено увеличение тромбоцитов и тромбоцита, относительного количества лимфоцитов. Нормализовались показатели креатинина, калия, но заметно снизился уровень мочевины, косвенно свидетельствующий об угнетении синтетической функции печени под влиянием инфекции [8].

Пациент выписан через 7 дней с клиническим улучшением с массой тела 5300 г (+ 30 г; 3 балла); в контрольном бактериологическом исследовании кала отмечено снижение титра *K. pneumoniae* до 10<sup>5</sup> КОЕ/мл и титра, отсутствие нетипируемой лактозо-негативной *E. coli*, появление нетипируемой лактозо-позитивной *E. coli* в титре 10<sup>3</sup> КОЕ/мл. Рекомендовано продолжение лечения амбулаторно.

Вторая госпитализация произошла через 13 дней, ребенок поступил в стационар по направлению участкового



педиатра с жалобами на вздутие живота, кишечные колики, срыгивания, рвоты, периодический отказ от груди, жидкий стул со слизью 3–4 раза в сутки с 30.03.2023, влажность с 31.03.2023, подъем температуры до 37,5 °С со 02.04.2023. С 24.03.2023 отмечали прожилки крови в стуле, ребенок получал нифуроксазид 5 дней по 100 мг 3 раза в сутки с положительной динамикой. С 01.04 вновь замечены прожилки крови в стуле (табл. 1).

При поступлении общее состояние средней тяжести. Температура тела 36,4 °С. Длина тела — 60 см (4 балла). Масса тела по росту — 5720 г (4 балла) (табл. 1). Сознание ясное. Кожные покровы и слизистые оболочки бледно-розовые, чистые. Питание удовлетворительное. Тургор кожи не снижен. Оценка степени дегидратации по клинической шкале ВОЗ — легкая. Слизистая оболочка ротоглотки не гиперемирована. Периферические лимфоузлы не увеличены, безболезненные. Костная и мышечная система без видимой патологии. Пульс — 148 уд/мин. АД — 90/57 мм рт. ст. Границы сердца не расширены, тоны ясные, ритмичные. Частота дыхания — 34 в мин. Дыхание пуэрильное. Перкуторный звук легочный. Живот мягкий, безболезненный. Печень пальпируется на 1–1,5 см ниже реберной дуги; селезенка не пальпируется. Стул желто-коричневый, мягко-образный, без патологических примесей (осмотрен). Диурез сохранен.

По данным лабораторных исследований отмечены признаки анемии 1-й степени тяжести, умеренный тромбоцитоз, повышение СОЭ, снижение уровня железа в сыворотке крови, мочевины, амилазы. Копрограмма без патологии. В кале выявлен антиген норовируса; обнаружен рост *K. pneumoniae* в высоком титре —  $10^6$  КОЕ/мл (с аналогичной 1-й госпитализации чувствительностью к антибиотикам и резистентностью к бактериофагу); отмечен рост нетипируемой лактозо-негативной *E. coli* в титре  $10^5$  КОЕ/мл, что по совокупности позволило установить диагноз острого гастроэнтерита норовирусной этиологии средней степени тяжести в сочетании с затяжным течением ОКИ (энтерит, геморрагический колит), ассоциированной с *K. pneumoniae*, протекавших на фоне дисбиоза кишечника (табл. 1). С 6–7-го дня госпитализации в кале визуально отмечены патологические примеси, характерные для колита.

По данным неврологического обследования и нейросонографии головного мозга дано заключение о наличии у ребенка перинатального поражения ЦНС, синдрома мышечной гипотонии, средней степени тяжести, ранний восстановительный период.

Лечение включало диетотерапию (грудное вскармливание с докормом безлактозной смесью), оральную регидратацию, пробиотик, кишечные антисептики (нифурадел в дозе 10 мг/кг 3 раза в сутки), симптоматические средства (симетикон, домперидон), препарат железа (железа (III) гидроксид полимальтозат) (табл. 3).

Пациент выписан через 10 дней с клиническим улучшением. Рекомендовано продолжение лечения амбулаторно.

Третья госпитализация последовала через 37 дней. Родители ребенка обратились в клинику без направления участкового врача. С 17.05.2023 отмечено снижение аппетита, непостоянно необильный жидкий стул со слизью 1–2 раза в сутки, вздутие живота, беспокойство; с 18.05.2023 стул до 3–4 раз в сутки, разжиженный, с небольшим количеством слизи, вялость.

При поступлении общее состояние средней тяжести. Температура тела — 36,5 °С. Длина тела — 60 см (2 балла).

Масса тела по росту — 5740 г (4 балла) (табл. 1). Сознание ясное. Кожные покровы и слизистые оболочки бледно-розовые, чистые. Питание удовлетворительное. Дегидратации по клинической шкале ВОЗ не выявлено. Слизистая оболочка ротоглотки не гиперемирована. Периферические лимфоузлы не увеличены, безболезненные. Костная и мышечная система без видимой патологии. Пульс — 142 уд/мин. АД — 80/50 мм рт. ст. Границы сердца не расширены, тоны ясные, ритмичные. Частота дыхания — 42 в мин. Дыхание пуэрильное. Перкуторный звук легочный. Живот мягкий, безболезненный. Печень пальпируется на 1–1,5 см ниже реберной дуги, селезенка не увеличена. Стул желто-зеленый, кашицеобразный, обилие слизи (осмотрен). Диурез сохранен.

По данным исследований выявлены признаки анемии 1-й степени, умеренный тромбоцитоз, уровень железа в крови с небольшой положительной динамикой, сохранялось снижение уровня мочевины и амилазы в сыворотке крови. Копрограмма без патологии. В кале отмечено заметное снижение титра *K. pneumoniae* (до  $10^4$  КОЕ/мл), а также наличие нетипируемой лактозо-позитивной *E. coli* в титре  $10^3$  КОЕ/мл, что свидетельствовало о выздоровлении ребенка от ОКИ, ассоциированной с *K. pneumoniae*, улучшении состава микробиоты кишечника. Основной клинический диагноз при выписке: А09 — Другой энтероколит неуточненного происхождения легкой степени тяжести (табл. 2).

Лечение в период последней госпитализации включало диетотерапию (грудное вскармливание, первый прикорм на воде), оральную регидратацию, энтеросорбент (лигнин гидролизный), пробиотик, препарат железа (железа (III) гидроксид полимальтозат) (табл. 3).

Ребенок выписан из стационара через 6 дней с улучшением общего самочувствия и нормализацией стула.

### Обсуждение клинического случая

Данный клинический случай демонстрирует характерные особенности затяжного течения ОКИ, ассоциированной с *K. pneumoniae*, в виде гастроэнтероколита (геморрагического колита). Заболевание возникло на фоне снижения неспецифической резистентности, обусловленного неблагоприятным акушерско-гинекологическим анамнезом матери, перинатальным поражением ЦНС с синдромом мышечной гипотонии, железодефицитной анемией, белково-энергетической недостаточностью, что во многом совпадает с данными других исследователей [3, 4, 6]. Дисбиоз кишечника, сопровождающий перинатальную патологию и дефицитные состояния у детей раннего возраста, также способствовал затяжному течению ОКИ, связанной с условно-патогенным (оппортунистическим) представителем энтеробактерий [3, 5], отличался упорством, несмотря на повторные курсы терапии пробиотиками. Очевидно, что рецидив гемоколита во вторую госпитализацию был вызван активацией условно-патогенной микробиоты кишечника при наслоении норовирусной инфекции. Процесс выздоровления сопровождался улучшением состояния питания и микробиоты кишечника, купированием гемоколита, переходом от смешанного к грудному вскармливанию за счет восстановления лактации у матери, при этом физическое развитие ребенка оставалось дисгармоничным, что объяснялось сохранением железодефицитной анемии и метаболических нарушений. Складывается впечатление, что третья

госпитализация ребенка обусловлена функциональными гастроинтестинальными расстройствами, а не новым эпизодом ОКИ неустановленной этиологии.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В современных условиях при отсутствии клинических рекомендаций по ведению детей раннего возраста с кишечной инфекцией, ассоциированной с условно-патогенными энтеробактериями, практические врачи опираются на опыт экспертов, который показывает возможность этиологической и дифференциальной диагностики данной патологии. И все же вопрос о

значимости *K. pneumoniae* при внебольничных ОКИ у детей не решен окончательно.

Лечение пациентов традиционно включает диетотерапию, регидратацию, энтеросорбцию, пробиотические препараты. Назначение кишечных антисептиков или антибиотиков проводится по показаниям, одним из которых является геморрагический энтероколит; однако эффективность этиотропного лечения не всегда достаточная. Решение этой проблемы сегодня видится в апробации и внедрении персонализированных подходов терапии, альтернативных антибактериальным средствам, используемым против *K. pneumoniae*, на основе аутопробиотиков и/или новых клебсиеллезных бактериофагов.

## Литература

1. Lanata FC, Fisher-Walker CL, Olascoaga AC, Torres CX, Aryee MJ, Blanck RE. Global causes of diarrheal disease mortality in children <5 years of age: a systematic review. PLoS One. 2013; 8 (9): e72788.
2. Государственный доклад «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2022 году». М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2023; 368 с.
3. Харченко Г. А., Кимирилова О. Г. Клинико-эпидемиологические особенности острых кишечных инфекций, вызванных условно-патогенными энтеробактериями у детей раннего возраста. Лечащий Врач. 2021; 4 (24): 37–41.
4. Мустаева Г. Б. Особенности течения клебсиеллезной инфекции по данным Самаркандской областной клинической больницы. Вестник науки и образования. 2020; 18–2 (96): 81–5.
5. Кузьменко С. А., Брусина Е. Б. Медицинские технологии, влияющие на инфицирование детей бактериями рода *Klebsiella*, профилактика инфицирования. Chronos. 2020; 8 (46): 39–43.
6. Пронько Н. В., Красько Ю. П. Клинико-эпидемиологические особенности клебсиеллезной инфекции у детей на современном этапе. Актуальна інфектологія. 2019; 7 (3): 155–9.
7. Shrestha A, Six J, Dahal D, Marks S, Meierhofer R. Association of nutrition, water, sanitation and hygiene practices with children's nutritional status, intestinal parasitic infections and diarrhea in rural Nepal: a cross-sectional study. BMC Public Health. 2020; 20 (1): 1241. PubMed PMID: 32799826.
8. Климова О. И., Гончар Н. В., Лобзин Ю. В. Факторы риска формирования функциональных гастроинтестинальных расстройств после инфекционных гемоколитов у детей. University therapeutic journal (Университетский терапевтический вестник). Сборник материалов III Российск. гастроэнтерол. конгресса «Гастроэнтерология России от рождения до старости (педиатрические, терапевтические, хирургические и медико-социальные аспекты)». 2020; 2 (1): 60–2.
9. Машина С. Е., Малявина Т. Е., Таргонский С. Н., Мухина О. Н., Шарыпова М. Г. Оценка эффективности препарата Реаферон-ЕС-липид в комплексной терапии инфекционных энтероколитов у детей первого года жизни. Поликлиника. 2015; 1–2: 97–9.
10. González-Fernández D, Cousens S, Rizvi A, Chauhadry I, Soofi SB, Bhutta ZA. Infections and nutrient deficiencies during infancy predict impaired growth at 5 years: Findings from the MAL-ED study in Pakistan. Front Nutr. 2023; 17 (10): 1104654. PubMed PMID: 36875830.
11. Vitetta L, Vitetta G, Yall S. Immunological tolerance and function: associations between intestinal bacteria, probiotics, prebiotics, and phages. Frontiers in Immunology. 2018; 9: 2240. PubMed PMID: 30356736.
12. Горелов А. В., Петров В. А., Родионова Н. В. Выбор лечебного питания у детей при кишечных инфекциях. Медицинский совет. 2021; 1: 143–7.
13. Гончар Н. В., Скрипченко Н. В. Перспективные направления научных исследований по проблемам кишечных инфекций. Детская медицина Северо-Запада. 2023; 11 (2): 50–61.
14. Eberlin M, Chen M, Muec T, Däbritz J. Racecadotril in the treatment of acute diarrhea in children: a systematic, comprehensive review and meta-analysis of randomized controlled trials. BMC Pediatrics. 2018; 18: 124. DOI: 10.1186/s12887-018-1095-x.

## References

1. Lanata FC, Fisher-Walker CL, Olascoaga AC, Torres CX, Aryee MJ, Blanck RE. Global causes of diarrheal disease mortality in children <5 years of age: a systematic review. PLoS One. 2013; 8 (9): e72788.
2. Gosudarstvennyy doklad «O sostoyanii sanitarno-epidemiologicheskogo blagopoluchiya naseleniya v Rossiyskoy Federatsii v 2022 godu». M.: Federal'naya sluzhba po nadzoru v sfere zashchity prav potrebiteley i blagopoluchiya cheloveka, 2023; 368 p. Russian.
3. Kharchenko GA, Kimirilova OG. Clinical and epidemiological features of acute intestinal infections caused by opportunistic enterobacteria in young children. Lechaschy Vrach. 2021; 4 (24): 37–41. Russian.
4. Mustaeva GB. Features of the course of *Klebsiella* infection according to the Samarkand regional clinical hospital. 2020; 18–2 (96): 81–5. Russian.
5. Kuzmenko SA, Brusina EB. Medical technologies affecting the infection of children with *Klebsiella* bacteria, infection prevention. Chronos. 2020; 8 (46): 39–43. Russian.
6. Pronko NV, Krasko YuP. Clinical and epidemiological features of *Klebsiella* infection in children at the present stage. Actual Infectology. 2019; 7 (3): 155–9. Russian.
7. Shrestha A, Six J, Dahal D, Marks S, Meierhofer R. Association of nutrition, water, sanitation and hygiene practices with children's nutritional status, intestinal parasitic infections and diarrhea in rural Nepal: a cross-sectional study. BMC Public Health. 2020; 20 (1): 1241. PubMed PMID: 32799826.
8. Klimova OI, Gonchar NV, Lobzin YuV. Faktory riska formirovaniya funktsional'nykh gastrointestinal'nykh rasstroystv posle infektsionnykh gemokolitov u detey. University therapeutic journal (Universitetskiy terapevticheskiy vestnik). Sbornik materialov III Rossiysk. gastroenterol. kongressa «Gastroenterologiya Rossii ot rozhdeniya do starosti (pediatricheskie, terapevticheskie, khirurgicheskie i mediko-sotsial'nye aspekty)». 2020; 2 (1): 60–2.

- Russian.
9. Mashina SE, Malyavina TE, Targonskiy SN, Mukhina ON, Sharypova MG. Otsenka effektivnosti preparata Reaferon-ES-lipint v kompleksnoy terapii infektsionnykh enterokolitov u detey pervogo goda zhizni. Poliklinika. 2015; 1–2: 97–9. Russian.
  10. González-Fernández D, Cousens S, Rizvi A, Chauhadry I, Soofi SB, Bhutta ZA. Infections and nutrient deficiencies during infancy predict impaired growth at 5 years: Findings from the MAL-ED study in Pakistan. *Front Nutr*. 2023; 17 (10): 1104654. PubMed PMID: 36875830.
  11. Vitetta L, Vitetta G, Yall S. Immunological tolerance and function: associations between intestinal bacteria, probiotics, prebiotics, and phages. *Frontiers in Immunology*. 2018; 9: 2240. PubMed PMID: 30356736.
  12. Gorelov AV, Petrov VA, Rodionova NV. Choice of paediatric medical nutrition in intestinal infections. *Medical Council*. 2021; 1: 143–7. Russian.
  13. Gonchar NV, Skripchenko NV. Promising areas of scientific research on the problems of intestinal infections. *Children's medicine of the North-West*. 2023; 11 (2): 50–61. Russian.
  14. Eberlin M, Chen M, Muec T, Däbritz J. Racecadotril in the treatment of acute diarrhea in children: a systematic, comprehensive review and meta-analysis of randomized controlled trials. *BMC Pediatrics*. 2018; 18: 124. DOI: 10.1186/s12887-018-1095-x.