

ISSN 2542-1174



JOURNAL **of SIBERIAN** **MEDICAL** **SCIENCES**

Vol. 7
2023 **2**

**OPEN
ACCESS**

JOURNAL of SIBERIAN MEDICAL SCIENCES

Том 7, № 2 (2023)

Выходит 4 раза в год
Издается с 2017 г.

Journal of Siberian Medical Sciences является преемником журнала «Медицина и образование в Сибири» (год издания 2006). Решением президиума ВАК РФ журнал включен в перечень периодических изданий, рекомендованных для публикации работ соискателей ученых степеней.

Журнал зарегистрирован в Федеральной службе по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций (Роскомнадзор). Регистрационное свидетельство ПИ № ФС 77-72398 от 28 февраля 2018 г.

Журнал индексируется в РИНЦ, зарегистрирован в CrossRef с 2018 г., все статьи индексируются с помощью цифрового идентификатора DOI.

Редакция журнала соблюдает принципы международной организации «Комитет по издательской этике» (Committee On Publication Ethics — COPE).

Статьи, представленные к публикации в журнале, проходят независимое рецензирование и проверяются на оригинальность. При перепечатке материалов из журнала Journal of Siberian Medical Sciences ссылка на источник обязательна.

Журнал распространяется бесплатно. Территория распространения: РФ, страны СНГ, зарубежные страны. Электронная версия (аннотированное содержание) доступна по адресам: <http://jsms.ngmu.ru>, <https://elibrary.ru>

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

ПРЕДСЕДАТЕЛЬ

Маринкин И.О., д-р мед. наук, проф., зав. кафедрой акушерства и гинекологии, ректор, Новосибирский государственный медицинский университет (Новосибирск)

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР

Поспелова Т.И., д-р мед. наук, проф., зав. кафедрой терапии, гематологии и трансфузиологии факультета повышения квалификации и профессиональной переподготовки врачей, проректор по научной работе, Новосибирский государственный медицинский университет (Новосибирск)

ЗАМЕСТИТЕЛЬ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА

Кузнецова В.Г., д-р мед. наук, проф. кафедры инфекционных болезней, Новосибирский государственный медицинский университет (Новосибирск)

ОТВЕТСТВЕННЫЙ СЕКРЕТАРЬ

Захарова К.Л., редактор Издательско-полиграфического центра, Новосибирский государственный медицинский университет (Новосибирск)

Воевода М.И., д-р мед. наук, проф., директор Федерального исследовательского центра фундаментальной и трансляционной медицины (Новосибирск)

Громб С., д-р медицины, проф., руководитель департамента судебной медицины университета Сегален (Бордо, Франция)

Давидович И.М., д-р мед. наук, проф. кафедры факультетской и поликлинической терапии с курсом эндокринологии,

Дальневосточный государственный медицинский университет (Хабаровск)

Жданов В.В., д-р мед. наук, проф., директор НИИ фармакологии и регенеративной медицины им. Е.Д. Гольдберга Томского Национального исследовательского медицинского центра РАН (Томск)

Локшин В.Н., д-р мед. наук, проф., академик НАН РК, президент Казахской ассоциации репродуктивной медицины, генеральный директор Международного клинического центра репродуктологии PERSONA (Казахстан, Алматы)

Пузырев В.П., д-р мед. наук, проф., академик РАН, научный руководитель Томского Национального исследовательского медицинского центра РАН, научный руководитель НИИ медицинской генетики, зав. кафедрой медицинской генетики Сибирского государственного медицинского университета (Томск)

Ружичка Т., д-р медицины, проф., руководитель департамента дерматологии и аллергологии Мюнхенского университета имени Людвига и Максимилиана (Мюнхен, Германия)

Семенов В.М., д-р мед. наук, проф., зав. кафедрой инфекционных болезней, Витебский государственный медицинский университет (Республика Беларусь, Витебск)

Федерико М., д-р медицины, проф., руководитель кафедры медицинской онкологии, отдел диагностической медицины, клинического и общественного здравоохранения, Университет Модены и Реджо-Эмилии (Италия, Модена)

Шкурупий В.А., д-р мед. наук, проф., академик РАН, научный руководитель ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины» (Новосибирск)

УЧРЕДИТЕЛЬ

ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России: 630091, г. Новосибирск, Красный просп., 52. Тел./факс: +7 (383) 222-32-04.
E-mail: rector@ngmu.ru, Web: www.ngmu.ru

АДРЕС ИЗДАТЕЛЯ И РЕДАКЦИИ

ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, 630091, Россия, г. Новосибирск, Красный пр., 52. Тел./факс: +7 (383) 229-10-82.
E-mail: mos@ngmu.ru, Web: <http://jsms.ngmu.ru>

3.1. КЛИНИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА

Абрамович С.Г., д-р мед. наук, проф., зав. кафедрой физиотерапии и курортологии, Иркутская государственная медицинская академия постдипломного образования – филиал Российской медицинской академии непрерывного профессионального образования (Иркутск)

Биттер И., д-р медицины, проф. департамента психиатрии и психотерапии, Университет Земельвейса (Венгрия, Будапешт)

Иванова Л.А., д-р мед. наук, проф., зав. кафедрой эндокринологии, Кубанский государственный медицинский университет (Краснодар)

Карбышева Н.В., д-р мед. наук, проф., зав. кафедрой инфекционных болезней с курсом ДПО, Алтайский государственный медицинский университет (Барнаул)

Коваленко А.В., д-р мед. наук, проф., зав. кафедрой неврологии, нейрохирургии, медицинской генетики и медицинской реабилитации, Кемеровский государственный медицинский университет (Кемерово)

Кулешов В.М., д-р мед. наук, проф. кафедры акушерства и гинекологии, Новосибирский государственный медицинский университет (Новосибирск)

Курушина О.В., д-р мед. наук, проф., заведующий кафедрой неврологии, Волгоградский государственный медицинский университет (Волгоград)

Молчанова Е.Е., д-р мед. наук, доцент кафедры факультетской и поликлинической терапии, Амурская государственная медицинская академия (Благовещенск)

Момот А.П., д-р мед. наук, проф. кафедры сестринского дела, Алтайский государственный медицинский университет (Барнаул)

Мордык А.В., д-р мед. наук, проф., зав. кафедрой фтизиатрии, пульмонологии и инфекционных болезней, Омский государственный медицинский университет (Омск)

Нильсон П., д-р медицины, проф. департамента клинических наук, Лундский университет (Швеция, Лунд)

Охлопков В.А., д-р мед. наук, проф., ректор, Федеральный научно-клинический центр реаниматологии и реабилитологии (Москва)

Сагитова Г.Р., д-р мед. наук, проф., зав. кафедрой госпитальной педиатрии с курсом последипломного образования, Астраханский государственный медицинский университет (Астрахань)

Селятицкая В.Г., д-р биол. наук, проф., главный научный сотрудник лаборатории эндокринологии, Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины (Новосибирск)

Сенькевич О.А., д-р мед. наук, проф., зав. кафедрой педиатрии, неонатологии и перинатологии с курсом неотложной медицины, Дальневосточный государственный медицинский университет (Хабаровск)

Смагина И.В., д-р мед. наук, проф., зав. кафедрой неврологии и нейрохирургии с курсом ДПО, Алтайский государственный медицинский университет (Барнаул)

Трофименко И.Н., д-р мед. наук, доцент, зав. кафедрой клинической аллергологии и пульмонологии, Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал Российской медицинской академии непрерывного профессионального образования (Иркутск)

Федоров И.А., д-р мед. наук, доцент, зав. кафедрой факультетской педиатрии им. Н.С. Тюринной, Южно-Уральский государственный медицинский университет (Челябинск)

Филинко О.В., д-р мед. наук, проф., зав. кафедрой фтизиатрии и пульмонологии, Сибирский государственный медицинский университет (Томск)

Хардинова С.А., д-р мед. наук, проф., зав. кафедрой дерматовенерологии и косметологии, Сибирский государственный медицинский университет (Томск)

Хохлова З.А., д-р мед. наук, проф., зав. кафедрой инфекционных болезней, Новокузнецкий государственный институт усовершенствования врачей – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» (Новокузнецк)

Хрянин А.А., д-р мед. наук, проф. кафедры дерматологии и косметологии, Новосибирский государственный медицинский университет (Новосибирск)

Цхай В.Б., д-р мед. наук, проф., зав. кафедрой перинатологии, акушерства и гинекологии, Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого (Красноярск)

Шапошник И.И., д-р мед. наук, проф., зав. кафедрой пропедевтики внутренних болезней, Южно-Уральский государственный медицинский университет (Челябинск)

Яхонтов Д.А., д-р мед. наук, проф. кафедры фармакологии, клинической фармакологии и доказательной медицины, Новосибирский государственный медицинский университет (Новосибирск)

3.3. МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ

Алябьев Ф.В., д-р мед. наук, проф., зав. кафедрой судебной медицины, Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого (Красноярск)

Казачков Е.Л., д-р мед. наук, проф., зав. кафедрой патологической анатомии и судебной медицины им. проф. В.Л. Коваленко, Южно-Уральский государственный медицинский университет (Челябинск)

Логвинов С.В., д-р мед. наук, проф., зав. кафедрой гистологии, эмбриологии и цитологии, Сибирский государственный медицинский университет (Томск)

Надеев А.П., д-р мед. наук, проф., зав. кафедрой патологической анатомии, Новосибирский государственный медицинский университет (Новосибирск)

Петрек М., д-р медицины, проф., руководитель департамента патологической физиологии Университета Полацкого (Чехия, Оломоуц)

Сазонова Е.Н., д-р мед. наук, проф., зав. кафедрой нормальной и патологической физиологии, проректор по научной работе, Дальневосточный государственный медицинский университет (Хабаровск)

Шевела А.И., д-р мед. наук, проф., заместитель директора по научной работе, Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН (Новосибирск)

3.4. ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ НАУКИ

Белузов М.В., д-р фарм. наук, доцент, зав. кафедрой фармацевтического анализа, Сибирский государственный медицинский университет (Томск)

Жариков А.Ю., д-р биол. наук, доцент, зав. кафедрой фармакологии им. проф. В.М. Брюханова, проректор по научной работе и инновациям, Алтайский государственный медицинский университет (Барнаул)

Каракулова Е.В., д-р фарм. наук, проф. кафедры управления и экономики фармации, Сибирский государственный медицинский университет (Томск)

Лаврентьева Л.И., д-р фарм. наук, доцент, зав. кафедрой управления и экономики фармации, декан фармацевтического факультета, Ярославский государственный медицинский университет (Ярославль)

Мадонов П.Г., д-р мед. наук, проф., зав. кафедрой фармакологии, клинической фармакологии и доказательной медицины, Новосибирский государственный медицинский университет (Новосибирск)

Фоминых С.Г., д-р мед. наук, доцент, зав. кафедрой фармакологии, клинической фармакологии, Омский государственный медицинский университет (Омск)

Шертаева К.Д., д-р фарм. наук, проф., зав. кафедрой организации и управления фармацевтического дела, Южно-Казахстанская медицинская академия (Шымкент, Казахстан)

JOURNAL of SIBERIAN MEDICAL SCIENCES

Vol. 7, No. 2 (2023)

Quarterly
Founded in 2017

The **Journal of Siberian Medical Sciences** is a successor to the "Medicine and Education in Siberia" online media that has been published since 2006. By the decision of the Presidium of the Higher Attestation Commission of the Russian Federation, the journal is included in the List of periodicals recommended for the publication of works by applicants for scientific degrees.

The **Journal of Siberian Medical Sciences** is registered with the Federal Service for Supervision of Communications, Information Technology and Mass Media (Roskomnadzor). Registration certificate PI No. FS 77-72398 dated Febr. 28, 2018.

The **Journal of Siberian Medical Sciences** is indexed in the RSCI, registered in CrossRef since 2018, all articles are indexed using a DOI digital identifier.

The editors of the journal observe the guidelines of the Committee on Publication Ethics (COPE).

Articles submitted for publication in the journal are independently reviewed and checked for originality. When reprinting materials from the Journal of Siberian Medical Sciences, reference to the source is required.

The magazine is distributed free of charge. Distribution area: Russian Federation, CIS countries, foreign countries. The electronic version (annotated content) is available at: <http://jsms.ngmu.ru>, <https://elibrary.ru>

EDITORIAL COUNCIL

CHAIRMAN

Marinkin I.O., MD, Dr. Sci. (Med.), Prof., Head of the Department of Obstetrics and Gynecology, Rector, Novosibirsk State Medical University (Novosibirsk)

EDITOR-IN-CHIEF

Pospelova T.I., MD, Dr. Sci. (Med.), Prof., Head of the Department of Therapy, Hematology and Transfusiology, Vice-Rector for Research, Novosibirsk State Medical University (Novosibirsk)

DEPUTY CHIEF EDITOR

Kuznetsova V.G., MD, Dr. Sci. (Med.), Prof. of the Department of Infectious Diseases, Novosibirsk State Medical University (Novosibirsk)

EXECUTIVE SECRETARY

Zakharova X.L., editor of the Publishing and Printing Center, Novosibirsk State Medical University (Novosibirsk)

Voevoda M.I., MD, Dr. Sci. (Med.), Prof., Academician of the Russian Academy of Sciences, Head, Federal Research Center for Fundamental and Translational Medicine (Novosibirsk)

Gromb S., MD, PhD, Prof., Head of the Department of Forensic Medicine, Bordeaux Segalen University (France, Bordeaux)

Davidovich I.M., MD, Dr. Sci. (Med.), Prof., Department of Faculty and Polyclinic Therapy with a Course of Endocrinology, Far Eastern State Medical University (Khabarovsk)

Zhdanov V.V., MD, Dr. Sci. (Med.), Prof., Head, Scientific Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine named after E.D. Goldberg, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences (RAS) (Tomsk)

Lokshin V.N., MD, Dr. Sci. (Med.), Prof., Academician of the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan, President of the Kazakhstan Association of Reproductive Medicine, General Director of International Clinical Center for Reproductology PER-SONA (Kazakhstan, Almaty)

Puzyrev V.P., MD, Dr. Sci. (Med.), Prof., Academician of the Russian Academy of Sciences, Scientific Director of the Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences, Scientific Director of the Scientific Research Institute of Medical Genetics, Head of the Department of Medical Genetics (Tomsk)

Ruzicka Thomas, MD, PhD, Prof., Head of Department of Dermatology and Allergy, Ludwig-Maximilian University of Munich (Germany, Munich)

Semyonov V.M., MD, Dr. Sci. (Med.), Prof., Head of Department of Infectious Diseases, Vitebsk State Medical University (Republic of Belarus)

Federico M., MD, PhD, Prof., Head of the Department of Medical Oncology, Department of Diagnostic Medicine, Clinical and Public Health Care of the University of Modena and Reggio Emilia (Italy, Modena)

Shkurupiy V.A., MD, Dr. Sci. (Med.), Prof., Academician of the Russian Academy of Sciences, Scientific Supervisor of the Federal Research Center for Fundamental and Translational Medicine (Novosibirsk)

FOUNDER

Novosibirsk State Medical University:
52, Krasny Prospect, Novosibirsk, 630091, Russia.
Tel./fax: +7 (383) 222-32-04
E-mail: rector@ngmu.ru, Web: www.ngmu.ru

EDITORIAL OFFICE AND PUBLISHER ADDRESS

Novosibirsk State Medical University:
52, Krasny Prospect, Novosibirsk, 630091, Russia.
Tel./fax: +7 (383) 229-10-82.
e-mail: mos@ngmu.ru, web: <http://jsms.ngmu.ru>

EDITORIAL BOARD

3.1. CLINICAL MEDICINE

Abramovich S.G., MD, Dr. Sci. (Med.), Prof., Head of the Department of Physiotherapy and Balneology, Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education – Branch of the Russian Medical Academy of Lifelong Professional Education (Irkutsk)

Bitter Istvan, MD, PhD, Prof., Chair Department of Psychiatry and Psychotherapy, Semmelweis University (Hungary, Budapest)

Ivanova L.A., MD, Dr. Sci. (Med.), Prof., Head of the Department of Endocrinology, Kuban State Medical University (Krasnodar)

Karbysheva N.V., MD, Dr. Sci. (Med.), Prof., Head of the Department of Infectious Diseases with a Postgraduate Education Course, Altai State Medical University (Barnaul)

Kovalenko A.V., MD, Dr. Sci. (Med.), Prof., Head of the Department of Neurology, Neurosurgery, Medical Genetics and Medical Rehabilitation, Kemerovo State Medical University (Kemerovo)

Kuleshov V.M., MD, Dr. Sci. (Med.), Prof. of the Department of Obstetrics and Gynecology, Novosibirsk State Medical University (Novosibirsk)

Kurushina O.V., MD, Dr. Sci. (Med.), Prof., Head of the Department of Neurology, Volgograd State Medical University (Volgograd)

Molchanova E.E., MD, Dr. Sci. (Med.), Associate Prof., Department of Faculty and Polyclinic Therapy, Amur State Medical Academy (Blagoveshchensk)

Momot A.P., MD, Dr. Sci. (Med.), Prof. of the Department of Nursing, Altai State Medical University (Barnaul)

Mordyk A.V., MD, Dr. Sci. (Med.), Prof., Head of the Department of Phthisiology, Pulmonology and Infectious Diseases, Omsk State Medical University (Omsk)

Nilsson Peter M., MD, Prof., Department of Clinical Sciences, Lund University (Lund, Sweden)

Okhlopkov V.A., MD, Dr. Sci. (Med.), Prof., Rector of the Federal Research and Clinical Center for Resuscitation and Rehabilitation (Moscow)

Sagitova G.R., MD, Dr. Sci. (Med.), Prof., Head of the Department of Hospital Pediatrics with a Postgraduate Education Course, Astrakhan State Medical University (Astrakhan)

Selyatitskaya V.G., MD, Dr. Sci. (Biol.), Prof., Chief Researcher, Laboratory of Endocrinology, Federal Research Center of Fundamental and Translational Medicine (Novosibirsk)

Senkevich O.A., MD, Dr. Sci. (Med.), Prof., Head of the Department of Pediatrics, Neonatology and Perinatology with the Course of Emergency Medicine, Far Eastern State Medical University (Khabarovsk)

Smagina I.V., MD, Dr. Sci. (Med.), Prof., Head of the Department of Neurology and Neurosurgery with a Postgraduate Education Course, Altai State Medical University (Barnaul)

Trofimenko I.N., MD, Dr. Sci. (Med.), Associate Prof., Head of the Department of Clinical Allergology and Pulmonology, Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education – Branch of the Russian Medical Academy of Lifelong Professional Education (Irkutsk)

Fedorov I.A., MD, Dr. Sci. (Med.), Associate Prof., Head of the Department of Faculty Pediatrics named after N.S. Tyurina, South Ural State Medical University (Chelyabinsk)

Filinyuk O.V., MD, Dr. Sci. (Med.), Prof., Head of the Department of Phthisiology and Pulmonology, Siberian State Medical University (Tomsk)

Khardikova S.A., MD, Dr. Sci. (Med.), Prof., Head of the Department of Dermatovenereology and Cosmetology, Siberian State Medical University (Tomsk)

Khokhlova Z.A., MD, Dr. Sci. (Med.), Prof., Head of the Department of Infectious Diseases, Novokuznetsk State Institute for Advanced Medical Education – Branch of the Russian Medical Academy of Lifelong Professional Education (Novokuznetsk)

Khryanin A.A., MD, Dr. Sci. (Med.), Prof. of the Department of Dermatovenereology and Cosmetology, Novosibirsk State Medical University (Novosibirsk)

Tskhay V.B., MD, Dr. Sci. (Med.), Prof., Head of the Department of Perinatology, Obstetrics and Gynecology, Krasnoyarsk State Medical University named after professor V.F. Voynoyasenetsky (Krasnoyarsk)

Shaposhnik I.I., MD, Dr. Sci. (Med.), Prof., Head of the Department of Propaedeutics of Internal Diseases, South Ural State Medical University (Chelyabinsk)

Yahontov D.A., MD, Dr. Sci. (Med.), Prof. of the Department of Pharmacology, Clinical Pharmacology and Evidence-Based Medicine, Novosibirsk State Medical University (Novosibirsk)

3.3. MEDICAL AND BIOLOGICAL SCIENCES

Alyabev F.V., MD, Dr. Sci. (Med.), Prof., Head of the Department of Forensic Medicine, Krasnoyarsk State Medical University named after prof. V.F. Voynoyasenetsky (Krasnoyarsk)

Kazachkov E.L., MD, Dr. Sci. (Med.), Prof., Head of the Department of Pathological

Anatomy and Forensic Medicine named after prof. V.L. Kovalenko, South Ural State Medical University (Chelyabinsk)

Logvinov S.V., MD, Dr. Sci. (Med.), Prof., Vice Rector for Study, Head of the Department of Histology, Fetology and Cytology, Siberian State Medical University (Tomsk)

Nadeev A.P., MD, Dr. Sci. (Med.), Prof., Head of the Department of Pathological Anatomy, Novosibirsk State Medical University (Novosibirsk)

Petrek Martin, MD, PhD, Prof., Head of the Department of Pathological Physiology, Palacký University of Olomouc (Czech Republic, Olomouc)

Sazonova E.N., MD, Dr. Sci. (Med.), Prof., Head of the Department of Normal and Pathological Physiology, Vice-Rector for Research, Far Eastern State Medical University (Khabarovsk)

Shevela A.I., MD, Dr. Sci. (Med.), Prof., Deputy Director for Research, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (Novosibirsk)

3.4. PHARMACEUTICAL SCIENCES

Belousov M.V., MD, Dr. Sci. (Pharm.), Associate Prof., Head of the Department of Pharmaceutical Analysis, Siberian State Medical University (Tomsk)

Zharikov A.Yu., Dr. Sci. (Biol.), Associate Prof., Head of the Department of Pharmacology named after professor V.M. Bryukhanov, Vice-Rector for Research and Innovation, Altai State Medical University (Barnaul)

Karakulova E.V., Dr. Sci. (Pharm.), Prof. of the Department of Management and Economics of Pharmacy, Siberian State Medical University (Tomsk)

Lavrenteva L.I., Dr. Sci. (Pharm.), Associate Prof., Head of the Department of Management and Economics of Pharmacy, Dean of the Faculty of Pharmacy, Yaroslavl State Medical University (Yaroslavl)

Madonov P.G., MD, Dr. Sci. (Med.), Prof., Head of the Department of Pharmacology, Clinical Pharmacology and Evidence-Based Medicine, Novosibirsk State Medical University (Novosibirsk)

Fominykh S.G., MD, Dr. Sci. (Med.), Associate Prof., Head of the Department of Pharmacology, Clinical Pharmacology, Omsk State Medical University (Omsk)

Shertaeva K.D., Dr. Sci. (Pharm.), Prof., Head of the Department of Organization and Management of Pharmaceutical Affairs, South Kazakhstan Medical Academy (Kazakhstan, Shymkent)

СОДЕРЖАНИЕ

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

- Калашикова Д.В., Мордык А.В., Пузырева Л.В.** Факторы риска неблагоприятного исхода ВИЧ-инфекции, ассоциированной с цитопенией 7
- Дробышев В.А., Шпагина Л.А., Кармановская С.А., Сухатерина Н.А., Заикина Е.А.** Оценка эффективности третьего этапа реабилитации пациентов после перенесенного COVID-19 в условиях дневного стационара. 17
- Чебаргина М.А., Сенькевич О.А., Ковальский Ю.Г.** Факторный анализ влияния микронутриентного статуса на физическое и когнитивное развитие младших школьников 29
- Верецагин Е.И., Саматов И.Ю., Ощепкова Н.Г., Востриков Д.Н., Дудин В.И., Коновалов Д.П., Селиверстов Р.И., Савченко С.В.** Клинико-морфологическое обоснование использования добутамина при ожоговом шоке 42
- Захаров А.А., Дикая А.А.** Особенности строения эпифиза экспериментальных животных при иммуностимуляции 54
- Казачков Е.Л., Затворницкая А.В., Казачкова Э.А., Воропаева Е.Е.** Микросателлитная нестабильность и гиперпластические процессы слизистой оболочки матки. 62
- Александрова Т.Н., Мулина И.И., Лямкина А.С., Михайлова Е.С., Аутеншилюс А.И., Скворцова Н.В., Агеева Т.А., Поспелова Т.И.** Роль цитокинов и регуляторных молекул клеточного цикла в прогнозировании достижения ответа на терапию у больных хроническим миелолейкозом 77
- Скворцова Н.В., Воронцова Е.В., Нечунаева И.Н., Воропаева Е.Н., Ковынев И.Б., Поспелова Т.И.** Эффективность терапии даратумумабом в реальной клинической практике у пациентов с рецидивирующей/рефрактерной множественной миеломой 90
- Забанова В.Е., Ершов К.И., Швецова А.М., Шерстобоев Е.Ю., Жданов В.В., Дробышева Т.А., Фурсова А.Ж., Мадонов П.Г.** Экспериментальное изучение алергизирующего действия препарата на основе гиалуронидазы, пегилированной по технологии электронно-лучевого синтеза 114
- Карпов М.А., Надеев А.П., Клочин В.Д., Шкурупий В.А., Позднякова С.В.** Исследование молекулярно-клеточных механизмов фиброобразования печени крыс при посттоксическом гепатозе смешанной этиологии и при применении окисленного декстрана 128

ОБЗОР

- Вяжевич А.Н., Краснова Е.И., Хохлова Н.И., Проворова В.В., Кузнецова В.Г., Позднякова Л.Л., Бондаренко Е.И., Ульянова Я.С., Колпакова Т.А., Поддубная Л.В.** К ранней диагностике Ку-лихорадки (обзор литературы) 138

CONTENTS

ORIGINAL RESEARCHES

- Kalashnikova D.V., Mordyk A.V., Puzyreva L.V.** Risk factors for an adverse outcome of HIV infection associated with cytopenia. 7
- Drobyshev V.A., Shpagina L.A., Karmanovskaya S.A., Sukhaterina N.A., Zaikina E.A.** Evaluation of the effectiveness of the third stage rehabilitation in patients after COVID-19 in a day hospital 17
- Chebargina M.A., Senkevich O.A., Kovalsky Yu.G.** Factor analysis of the impact of micronutrient status on the physical and cognitive development of younger schoolchildren 29
- Vereshchagin E.I., Samatov I.Yu., Oshchepkova N.G., Vostrikov D.N., Dudin V.I., Konovalov D.P., Seliverstov R.I., Savchenko S.V.** Clinical and morphological justification of dobutamine use in burn shock 42
- Zakharov A.A., Dikaya A.A.** Features of the epiphysis structure of experimental animals during immunostimulation 54
- Kazachkov E.L., Zatvornitskaya A.V., Kazachkova E.A., Voropaeva E.E.** Microsatellite instability and hyperplastic processes of the uterine mucosa 62
- Aleksandrova T.N., Mulina I.I., Lyamkina A.S., Mikhailova E.S., Autenshlyus A.I., Skvortsova N.V., Ageeva T.A., Pospelova T.I.** The role of cytokines and cell cycle regulators in predicting of therapy response in patients with chronic myeloid leukemia. 77
- Skvortsova N.V., Vorontsova E.V., Nechunaeva I.N., Voropayeva E.N., Kovynev I.B., Pospelova T.I.** Effectiveness of daratumumab therapy in real-life clinical practice in patients with relapsed/refractory multiple myeloma 90
- Zabanova V.E., Ershov K.I., Shvetsova A.M., Sherstoboev E.Yu., Zhdanov V.V., Drobysheva T.A., Fursova A.Zh., Madonov P.G.** Experimental study of the allergenic potential of a drug based on hyaluronidase PEGylated using the technology of electron beam synthesis. 114
- Karpov M.A., Nadeev A.P., Klochin V.D., Shkurupiy V.A., Pozdnyakova S.V.** Investigation of molecular and cellular mechanisms of liver fibrosis in rats with post-toxic hepatitis of various etiologies and with the use of oxidized dextran 128

REVIEW

- Vyazhevich A.N., Krasnova E.I., Khokhlova N.I., Provorova V.V., Kuznetsova V.G., Pozdnyakova L.L., Bondarenko E.I., Ulyanova Ya.S., Kolpakova T.A., Poddubnaya L.V.** Revisiting the early diagnosis of Q fever (literature review). 138

Факторы риска неблагоприятного исхода ВИЧ-инфекции, ассоциированной с цитопенией

Д.В. Калашникова^{1, 2}, А.В. Мордык¹, Л.В. Пузырева^{1, 3}

¹ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России, Омск, Россия

²БУЗОО «Областная клиническая больница», Омск, Россия

³БУЗОО «Клинический противотуберкулезный диспансер № 4», Омск, Россия

АННОТАЦИЯ

В в е д е н и е . Появление гематологических аномалий с самого начала эпидемии ВИЧ-инфекции связывали с повышенным риском прогрессирования заболевания и смерти у этих пациентов.

Ц е л ь . Определение факторов риска неблагоприятного исхода у пациентов с ВИЧ-инфекцией и цитопенией.

М а т е р и а л ы и м е т о д ы . Проведен анализ гемограмм и миелограмм у 30 госпитализированных пациентов с ВИЧ-инфекцией и цитопенией. У всех пациентов в гемограмме имелась двух- или треххрестовая цитопения (анемия и тромбоцитопения, анемия и лейкопения, панцитопения). Было выделено 2 группы пациентов: у 18 (60 %) госпитализация закончилась летальным исходом – 1-я группа (неблагоприятный исход заболевания); 12 (40 %) были выписаны из стационара – 2-я группа (благоприятный исход заболевания).

Р е з у л ь т а т ы . При оценке гемограмм у пациентов с ВИЧ-инфекцией и цитопениями с разным исходом заболевания статистически значимых различий не выявлено. Анализ клеточности костного мозга показал, что гипоклеточный и нормоклеточный костный мозг чаще регистрировался в миелограммах пациентов 1-й группы; гиперклеточный костный мозг у пациентов 1-й группы не выявляли, у пациентов 2-й группы определяли в 4 случаях (33,3 %). Клеточность эритроцитарного ростка чаще была снижена у пациентов 2-й группы, в норме и повышена – у пациентов 1-й группы. Гранулоцитарный росток чаще был угнетен у пациентов 1-й группы, был в норме у пациентов 2-й группы, раздражен чаще у пациентов 1-й группы. Мегакариоцитарный росток чаще имел сниженную клеточность у пациентов 1-й группы; нормоклеточность мегакариоцитарного ростка была у пациентов 2-й группы; гиперклеточности мегакариоцитарного ростка зарегистрировано в группах не было. При сравнении признаков миелодисплазии у 13 пациентов 1-й группы выявили признаки диспоэза.

З а к л ю ч е н и е . У пациентов с ВИЧ-инфекцией и цитопенией по мере прогрессирования основного заболевания развиваются тяжелые гематологические нарушения, которые, в свою очередь, могут являться факторами риска неблагоприятного исхода ВИЧ-инфекции.

Ключевые слова: анемия, лейкопения, тромбоцитопения, миелодисплазия, ВИЧ-инфекция.

Образец цитирования: Калашникова Д.В., Мордык А.В., Пузырева Л.В. Факторы риска неблагоприятного исхода ВИЧ-инфекции, ассоциированной с цитопенией // Journal of Siberian Medical Sciences. 2023;7(2):7-16. DOI: 10.31549/2542-1174-2023-7-2-7-16

Risk factors for an adverse outcome of HIV infection associated with cytopenia

D.V. Kalashnikova^{1, 2}, A.V. Mordyk¹, L.V. Puzyreva^{1, 3}

¹Omsk State Medical University, Omsk, Russia

²Clinical Tuberculosis Dispensary No. 4, Omsk, Russia

³Regional Clinical Hospital, Omsk, Russia

ABSTRACT

I n t r o d u c t i o n . The appearance of hematological abnormalities since the beginning of the HIV-infection epidemic has been associated with an increased risk of disease progression and death in these patients.

Поступила в редакцию 04.07.2022
Прошла рецензирование 04.11.2022
Принята к публикации 24.12.2022

Автор, ответственный за переписку
Калашникова Дарья Владимировна: ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России. 644099, г. Омск, ул. Ленина, 12.
E-mail: dashenkabar@mail.ru

Received 04.07.2022
Revised 04.11.2022
Accepted 24.12.2022

Corresponding author
Daria V. Kalashnikova: Omsk State Medical University, 12, Lenina str., Omsk, 644099, Russia.
E-mail: dashenkabar@mail.ru

A i m . Determination of risk factors for an adverse outcome in patients with HIV infection and cytopenia.

M a t e r i a l s a n d m e t h o d s . Hemograms and myelograms were analyzed in 30 hospitalized patients with HIV infection and cytopenia. All patients had two- or three-lineage cytopenia according to hemogram (anemia and thrombocytopenia, anemia and leukopenia, pancytopenia). Two groups of patients were assigned: in 18 (60%) patients the hospitalization had fatal outcome – group 1 (adverse outcome of the disease); and 12 (40%) patients were discharged from the hospital – group 2 (favorable outcome of the disease).

R e s u l t s . While evaluating the hemograms in patients with HIV infection and cytopenia with different outcomes of the disease, no statistically significant differences were found. Analysis of the bone marrow cellularity showed that the hypocellular and normocellular bone marrow were more often recorded in myelograms of group 1 patients; hypercellular bone marrow was not detected in group 1 patients, in group 2 patients it was determined in 4 cases (33.3%). The cellularity of the erythroid lineage was more often decreased in patients of group 2, normal and increased – in patients of group 1. The granulocyte lineage was more often suppressed in patients of group 1, was normal in patients of group 2, stimulated more often in patients of group 1. The megakaryocyte lineage more often had a decreased cellularity in group 1 patients; normocellularity of the megakaryocyte lineage was in group 2 patients; hypercellularity of the megakaryocyte lineage was not registered in the study groups. When comparing the signs of myelodysplasia in 13 patients of group 1, signs of dyspoiesis were revealed.

C o n c l u s i o n . In patients with HIV infection and cytopenia, as the underlying disease progresses, severe hematological disorders develop, which, in turn, may be risk factors for an adverse outcome of HIV infection.

Keywords: anemia, leukopenia, thrombocytopenia, myelodysplasia, HIV infection.

Citation example: Kalashnikova D.V., Mordyk A.V., Puzyreva L.V. Risk factors for an adverse outcome of HIV infection associated with cytopenia. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2023;7(2):7-16. DOI: 10.31549/2542-1174-2022-7-2-7-16

ВВЕДЕНИЕ

Прогрессирование ВИЧ-инфекции связано не только с нарушениями в иммунной системе, но и с угнетением нормального кроветворения, что приводит к развитию цитопении (анемии, тромбоцитопении и нейтропении). Хотя существует определенная связь между тяжестью цитопении и стадией ВИЧ-инфекции, эта зависимость не всегда линейна. Например, цитопении, такие как тромбоцитопения, могут возникать на ранних стадиях инфекции. Этиология этих гематологических аномалий сложна и многофакторна и включает в себя вызванное лекарствами нарушение кроветворения, угнетение функции костного мозга из-за инфильтрации инфекционными агентами или злокачественными клетками, ВИЧ-индуцированное нарушение кроветворения и ряд других факторов [1].

Появление гематологических аномалий с самого начала эпидемии ВИЧ-инфекции связывали с повышенным риском прогрессирования заболевания и смерти у этих пациентов. Применение антиретровирусных препаратов может оказывать положительное или отрицательное влияние на гематологические нарушения. Анемия, связанная с ВИЧ-инфекцией, может быть вызвана различными факторами, в том числе оппортунистическими инфекциями, побочными эффектами химиотерапевтического лечения,

INTRODUCTION

The progression of HIV infection is associated not only with immune disorders, but also with the suppression of normal hematopoiesis, which leads to the development of cytopenia (anemia, thrombocytopenia and neutropenia). Although there is a definite relationship between the severity of cytopenia and the stage of HIV infection, this relationship is not always linear. For example, cytopenias such as thrombocytopenia may occur in the early stages of infection. The etiology of these hematological abnormalities is complex and multifactorial, and includes drug-induced impairment of hematopoiesis, suppression of bone marrow due to its infiltration by infectious agents or malignant cells, HIV-induced impairment of hematopoiesis, and a number of other factors [1].

The appearance of hematological abnormalities from the beginning of the HIV infection epidemic was associated with an increased risk of disease progression and death in these patients. The use of anti-retroviral drugs can have a positive or negative effect on hematological disorders. HIV-associated anemia can be caused by various factors, including opportunistic infections, side effects of chemotherapy, changes in cytokine expression leading to a decrease in the development of blood cells, metabolic disorders associated with HIV, and micronutrient deficiency. Anemia is a hematological disorder that

изменениями в экспрессии цитокинов, приводящими к снижению развития клеток крови, метаболическими нарушениями, связанными с ВИЧ, и дефицитом микронутриентов. Анемия является гематологическим нарушением, возникающим у больных ВИЧ-инфекцией, и зачастую вызывает на прогрессирование заболевания или высокий риск смерти [2]. Тромбоцитопения может регистрироваться почти у 40 % пациентов с ВИЧ-инфекцией, ее распространенность и тяжесть увеличиваются по мере прогрессирования основного заболевания (ВИЧ-инфекции). Повышенное разрушение тромбоцитов вызывается неспецифическим отложением циркулирующих иммунных комплексов на тромбоцитах, а также может быть связано с наличием специфических антитромбоцитарных антител. Другой аномалией, которая возникает у пациентов с ВИЧ-инфекцией, является лейкопения, причем наиболее часто отмечается снижение уровня нейтрофилов. ВИЧ-ассоциированная лейкопения может быть связана с несколькими причинами, включая саму ВИЧ-инфекцию, аутоиммунные нарушения, оппортунистические инфекции и лекарства, используемые для лечения ВИЧ-инфекции [3, 4].

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Определение факторов риска неблагоприятного исхода у пациентов с ВИЧ-инфекцией, ассоциированной с цитопенией.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведен анализ миелограмм у 30 пациентов с ВИЧ-инфекцией и цитопенией, которые были госпитализированы в БУЗОО «Клинический противотуберкулезный диспансер № 4» и БУЗОО «Областная клиническая больница» (г. Омск). У всех пациентов в гемограмме имелась двух- или трехлинейная цитопения. Анемией считалось снижение гемоглобина менее 130 г/л у мужчин и менее 120 г/л у женщин; эритроцитопенией – снижение эритроцитов менее $4.0 \times 10^{12}/л$ у мужчин и $3.9 \times 10^{12}/л$ у женщин. Лейкопению определяли как снижение общего числа лейкоцитов менее $4.0 \times 10^9/л$ в трех подряд анализах крови. Снижение абсолютного количества нейтрофилов менее 1000 клеток (кл.)/мкл считалось нейтропенией. Тромбоцитопения диагностировалась при снижении уровня тромбоцитов менее $100 \times 10^9/л$ [5].

Подсчет миелограмм проводили в клинической лаборатории БУЗОО «Областная клиническая больница» на 500 клеток. Нормой красного ростка считалось суммарное количество всех

occurs in patients with HIV infection, and often indicates the progression of the disease or a high risk of death [2]. Thrombocytopenia can be registered in almost 40% of patients with HIV infection, its prevalence and severity increase with the progression of the underlying disease (HIV infection). Increased destruction of platelets is caused by nonspecific deposition of circulating immune complexes on platelets, and may also be associated with the presence of specific antiplatelet antibodies. Another abnormality that occurs in patients with HIV infection is leukopenia, and most often there is a decreased neutrophil count. HIV-associated leukopenia may be due to several causes, including HIV infection itself, autoimmune disorders, opportunistic infections, and medications used for HIV infection treatment [3, 4].

AIM OF THE RESEARCH

Determination of risk factors for an adverse outcome in patients with HIV infection associated with cytopenia.

MATERIALS AND METHODS

The analysis of myelograms was carried out in 30 patients with HIV infection and cytopenia who were hospitalized in Clinical Tuberculosis Dispensary No. 4 and Regional Clinical Hospital (Omsk). All patients had cytopenia of two and three lineages according to their hemogram. Anemia was considered a decrease in hemoglobin of less than 130 g/l in men and less than 120 g/l in women; erythrope-
nia – a decrease in red blood cell count of less than $4.0 \times 10^{12}/л$ in men and $3.9 \times 10^{12}/л$ in women. Leukopenia was defined as a decrease in total leukocyte count less than $4.0 \times 10^9/л$ in three consecutive blood tests. A decrease in absolute neutrophil count of less than 1000 cells per μl was considered neutropenia. Thrombocytopenia was diagnosed with a decrease in platelet count of less than $100 \times 10^9/л$ [5].

Myelograms were counted in the clinical laboratory of Regional Clinical Hospital for 500 cells. The reference range for the erythroid lineage was the total number of all forms from 15.5 to 26.5%. A decrease of less than 15.5% was taken for a reduction of the erythroid lineage, and more than 26.5% – for an expansion. Granulocyte count was considered normal if the total count of all forms was 52.7–68.9%. Less than 52.7% of granulocytes were taken for a reduction of the granulocyte lineage, and more than 68.9% – for an expansion. The normal megakaryocyte count in 1 sample was considered from 20 to 100. Less than 20 megakaryocytes in 1 smear were conditionally taken for their reduced count. The detection of more than 100 megakaryocytes in 1 sam-

форм от 15.5 до 26.5 %. Снижение менее 15.5 % – сужение эритроидного ростка, а более 26.5 % – расширение. Гранулоцитарный ряд считали нормальным, если суммарное количество всех форм составляло 52.7–68.9 %. Менее 52.7 % гранулоцитов принимали за сужение гранулоцитарного ростка, а более 68.9 % – за расширение. Нормальным числом мегакариоцитов в 1 препарате считали от 20 до 100. Менее 20 мегакариоцитов в 1 мазке условно принимали за их сниженное количество. Обнаружение более 100 мегакариоцитов в 1 препарате условно принимали за увеличенное количество. Оценку дисплазии элементов костного мозга проводили в соответствии с критериями, принятыми в качестве стандарта в классификации Всемирной организации здравоохранения 2001 г.

При верификации диагноза ВИЧ-инфекции использовали российскую классификацию ВИЧ-инфекции.

Исследование было одобрено локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России.

Статистические расчеты выполняли с помощью программы STATISTICA 12.0 (StatSoft, Inc.). Анализировали показатели описательной статистики. Достоверность различий величин и признаков в группах определяли с помощью критерия χ^2 . Для оценки факторов риска неблагоприятного исхода у пациентов с ВИЧ-инфекцией и цитопенией определяли отношение шансов (ОШ) и 95% доверительный интервал (95% ДИ). Различия считали достоверными при $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

При анализе исследуемой группы по половому признаку 19 человек были мужчинами (63.33 %), 11 – женщинами (36.67 %). Пациенты распределились на группы по возрасту следующим образом: 2 чел. (6.67 %) в возрасте от 20 до 29 лет; 15 чел. (50 %) – от 30 до 39 лет; 10 чел. (33.34 %) – от 40 до 49 лет и 3 чел. (9.99 %) – старше 50 лет.

При оценке стадии ВИЧ-инфекции у 2 чел. врачом-инфекционистом диагностирована стадия 3 ВИЧ-инфекции (6.67 %), у 5 чел. (16.67 %) – стадия 4А, у 13 (43.32 %) – стадия 4Б и у 10 чел. (33.34 %) – стадия 4В.

С целью анализа факторов риска неблагоприятного исхода у пациентов с ВИЧ-инфекцией и цитопениями (анемия и тромбоцитопения, анемия и лейкопения, панцитопения) было выделено 2 группы пациентов. Из 30 пациентов у 18

ple was conditionally taken as increased count. The dysplasia of bone marrow cells was assessed in accordance with the criteria of the 2001 World Health Organization classification.

When verifying the diagnosis of HIV infection, the Russian classification of HIV infection was used.

The study was approved by the local Ethics Committee of the Omsk State Medical University.

Statistical calculations were performed using STATISTICA 12.0 software (StatSoft, Inc.). The indicators of descriptive statistics were analyzed. The significance of differences in values and variables in the groups was determined using the χ^2 test. To assess the risk factors for an adverse outcome in patients with HIV infection and cytopenia, the odds ratio (OR) and 95% confidence interval (95% CI) were determined. The differences were significant at $p < 0.05$.

RESULTS

When analyzing the study group by gender, we found that 19 people were men (63.33%), 11 were women (36.67%). The patients were divided into age groups as follows: 2 people (6.67%) aged 20 to 29 years; 15 people (50%) – from 30 to 39 years; 10 people (33.34%) – from 40 to 49 years and 3 people (9.99%) – over 50 years old.

When assessing the stage of HIV infection, 2 people were diagnosed with HIV-infection stage 3 by an infectious disease physician (6.67%), 5 people (16.67%) – stage 4A, 13 (43.32%) – stage 4B, and 10 people (33.34%) – stage 4.

In order to analyze the risk factors for an adverse outcome in patients with HIV infection and cytopenia (anemia and thrombocytopenia, anemia and leukopenia, pancytopenia), 2 groups of patients were assigned. Of 30 patients, 18 (60%) were hospitalized with a fatal outcome – group 1 (adverse outcome of the disease); 12 (40%) were discharged from the hospital – group 2 (favorable outcome).

The 1st group included 9 men (50%) and 9 women (50%), the 2nd group – 10 men (83.3%) and 2 women (16.6%). The compared groups did not differ significantly in age. Patients aged 20 to 29 years were found only in the 2nd group – 2 people (16.7%), patients aged 30 to 39 years were in two groups: in the 1st – 9 patients (50%), in the 2nd – 6 (50%); patients aged 40 to 49 years also were in both groups – in the 1st group – 7 (38.9%), in the 2nd group – 4 (33.3%); patients over 50 years old – 3 people (19.7%) were only in the 1st group.

There were no statistically significant differences when comparing patients of the 1st and 2nd groups by stages of HIV infection. In each group, there was

(60 %) госпитализация закончилась летальным исходом – 1-я группа (с неблагоприятным исходом заболевания); 12 (40 %) были выписаны из стационара – 2-я группа (с благоприятным исходом).

В 1-ю группу вошло 9 мужчин (50 %) и 9 женщин (50 %), во 2-ю группу – 10 мужчин (83.3 %) и 2 женщины (16.6 %). По возрасту сравниваемые группы значимо не отличались. Пациенты в возрасте от 20 до 29 лет встречались только во 2-й группе – 2 чел. (16.7 %), больные от 30 до 39 лет имелись в двух группах: в 1-й 9 пациентов (50 %), во 2-й – 6 (50 %); пациенты в возрасте от 40 до 49 лет также встречались в обеих группах – в 1-й группе 7 (38.9 %), во 2-й группе – 4 (33.3 %); пациенты старше 50 лет – 3 чел. (19.7%) были только в 1-й группе.

При сравнении пациентов 1-й и 2-й групп по стадиям ВИЧ-инфекции статистически значимых различий не было. По 1 пациенту (5.6 и 8.3 %) со стадией 3 ВИЧ-инфекции имелось в 1-й и во 2-й группе, у остальных пациентов диагностирована стадия 4 ВИЧ-инфекции: у 3 (16.7 %) и 2 (16.7 %) – стадия 4А, у 8 (44.4 %) и 5 (41.7 %) пациентов – стадия 4Б, у 6 (33.3 %) и 4 (33.3 %) пациентов – стадия 4В соответственно. Пациенты из группы с неблагоприятным исходом (1-я группа) чаще курили по сравнению с пациентами 2-й группы: 16 (88.9 %) и 10 (83.3 %) пациентов соответственно. Употребляли наркотики 5 пациентов 1-й группы (27.7 %) и 6 пациентов (50 %) 2-й группы. Злоупотребляли алкоголем в 3 раза чаще пациенты из 2-й группы – 9 (75 %) больных по сравнению с 3 пациентами (16.7 %) 1-й группы.

Проведена оценка анализируемых групп с точки зрения приема препаратов антиретровирусной терапии (АРВТ) до поступления в стационар. В 1-й группе до поступления в стационар получали АРВТ 7 (38.9 %) чел., во 2-й группе – 6 (50 %) пациентов. Не получали АРВТ 11 (61.1 %) и 6 (50 %) пациентов в 1-й и 2-й группах соответственно.

При оценке иммунограмм установлено, что у пациентов 2-й группы уровень CD4+ клеток чаще, чем у пациентов 1-й группы, был менее 200 кл./мкл: у 13 (72.2 %) и 9 (75 %) пациентов соответственно. Количество CD4+ клеток более 200 кл./мкл регистрировали у 5 (27.7 %) пациентов 1-й группы и 3 (25 %) пациентов 2-й группы.

При оценке вирусной нагрузки у пациентов 1-й группы менее 100 000 копий/мл зарегистрировано в 6 (33.3%) случаях, у пациентов 2-й группы – в 7 (58.3 %) случаях. Уровень вирусной нагрузки более 100 001 копии/мл выявили у

one patient (5.6 and 8.3%) with HIV infection stage 3, the rest patients were diagnosed with stage 4: 3 (16.7%) and 2 (16.7%) had stage 4A, 8 (44.4%) and 5 (41.7%) patients had stage 4B, 6 (33.3%), and 4 (33.3%) patients had stage 4B, respectively. Patients from the adverse outcome group (group 1) smoked more often compared to patients from group 2: 16 (88.9%) and 10 (83.3%) patients, respectively. Five patients of the 1st group (27.7%) and 6 patients (50%) of the 2nd group were drug addicts. Alcohol was abused 3 times more often by patients from the 2nd group – 9 (75%) patients compared with 3 patients (16.7%) of the 1st group.

The analyzed groups were evaluated in terms of receiving the antiretroviral therapy (ART) before the admission to the hospital. In the 1st group, 7 (38.9%) people received ART before the admission, in the 2nd – 6 (50%) patients. Eleven (61.1%) and six (50%) patients in groups 1 and 2, respectively, did not receive ART.

When assessing immunograms, it was found that the count of CD4+ cells in group 2 patients was less than 200 cells/ μ l more often than in group 1 patients: in 13 (72.2%) and 9 (75%) patients, respectively. The CD4+ cell count over 200 cells/ μ l was recorded in 5 (27.7%) patients of group 1 and 3 (25%) patients of group 2.

When assessing the viral load in the 1st group of patients, less than 100 000 copies/ml were registered in 6 (33.3%) cases, in patients of the 2nd group – in 7 (58.3%) cases. The viral load of more than 100 001 copies/ml was detected in 12 patients (66.7%) of group 1, and in 5 patients (41.7%) of group 2.

No statistically significant differences were found when evaluating the hemograms in patients with HIV infection and cytopenia with different outcomes of the disease (Table 1). The combination of anemia and thrombocytopenia was found in 6 patients (33.3%) of group 1 and 5 (41.7%) of group 2 ($\chi^2 = 0.215$, $p = 0.643$, OR = 0.500; 95% CI 0.155–3.166); anemia and leukopenia in 8 (44.4%) and 3 (25%) patients, respectively ($\chi^2 = 1.172$, $p = 0.279$, OR = 0.800; 95% CI 0.483–11.931); pancytopenia – in 4 patients in each group (22.2 and 33.3%, respectively) ($\chi^2 = 0.455$, $p = 0.501$, OR = 0.286; 95% CI 0.111–2.933).

The analysis of bone marrow cellularity (Table 2) showed that hypocellular bone marrow was registered in myelograms of 11 (61.1%) and 4 (33.3%) patients of the 1st and 2nd groups, respectively ($\chi^2 = 4.713$, $p = 0.023$, OR = 1.571; 95% CI 0.681–14.504). Normocellular bone marrow was present in 7 (38.9%) and 4 (33.3%) patients in the compared groups, respectively ($\chi^2 = 0.096$, $p = 0.758$,

12 пациентов (66.7 %) 1-й группы и у 5 пациентов (41.7 %) 2-й группы.

При оценке гемограмм у пациентов с ВИЧ-инфекцией и цитопениями с разным исходом заболевания статистически значимых различий не выявлено (табл. 1). Сочетание анемии и тромбоцитопении выявлено у 6 пациентов (33.3 %) 1-й группы и 5 (41.7 %) 2-й группы ($\chi^2 = 0.215$, $p = 0.643$, ОШ = 0.500; 95% ДИ 0.155–3.166), анемия и лейкопения у 8 (44.4 %) и 3 (25 %) больных соответственно ($\chi^2 = 1.172$, $p = 0.279$, ОШ = 0.800; 95% ДИ 0.483–11.931), панцитопения – у 4 пациентов в каждой группе (22.2 и 33.3 % соответственно) ($\chi^2 = 0.455$, $p = 0.501$, ОШ = 0.286; 95% ДИ 0.111–2.933).

Анализ клеточности костного мозга (табл. 2) показал, что гипоклеточный костный мозг зарегистрирован в миелограммах у 11 (61.1 %) и 4 (33.3 %) пациентов 1-й и 2-й групп соответственно ($\chi^2 = 4.713$, $p = 0.023$, ОШ = 1.571; 95% ДИ 0.681–14.504). Нормоклеточный костный мозг был у 7 (38.9 %) и 4 (33.3 %) пациентов в сравниваемых группах соответственно ($\chi^2 = 0.096$, $p = 0.758$, ОШ = 0.636; 95% ДИ 0.276–5.873). Гиперклеточный костный мозг у пациентов 1-й группы не регистрировали, у пациентов 2-й группы определяли в 4 случаях (33.3 %). Клеточность эритроцитарного ростка была снижена у 11 (61.1 %) пациентов 1-й группы и 8 (66.7 %) пациентов 2-й группы ($\chi^2 = 0.096$, $p = 0.758$, ОШ = 1.571; 95% ДИ 0.170–3.626). Клеточность эритроцитарного ростка была сохранена у 5 (27.7 %) и 3 (25 %) пациентов 1-й и 2-й групп соответственно ($\chi^2 = 0.028$, $p = 0.867$, ОШ = 0.385; 95% ДИ 0.218–6.097). Гиперклеточность имела у 2 (11.1 %) пациентов 1 группы, 1 (8.3 %) пациента 2-й группы ($\chi^2 = 0.062$, $p = 0.804$, ОШ = 0.125; 95% ДИ

OR = 0.636; 95% CI 0.276–5.873). Hypercellular bone marrow was not registered in group 1 patients; in group 2 patients, it was found in 4 cases (33.3 %). The cellularity of the erythroid lineage was decreased in 11 (61.1%) patients of the 1st group and 8 (66.7%) patients of the 2nd group ($\chi^2 = 0.096$, $p = 0.758$, OR = 1.571; 95% CI 0.170–3.626). The cellularity of the erythroid lineage was preserved in 5 (27.7%) and 3 (25%) patients of the 1st and 2nd groups, respectively ($\chi^2 = 0.028$, $p = 0.867$, OR = 0.385; 95% CI 0.218–6.097). Hypercellularity was in 2 (11.1%) patients of group 1, and 1 (8.3%) patient of group 2 ($\chi^2 = 0.062$, $p = 0.804$, OR = 0.125; 95% CI 0.111–17.094). The granulocyte lineage was suppressed in 10 (55.6%) and 1 (8.3%) patients in the compared groups ($\chi^2 = 6.914$, $p = 0.009$, OR = 1.250; 95% CI 1.452–130.245). The granulocyte lineage was normal in 6 (33.3%) patients of group 1 and 10 (83.3%) patients of group 2 ($\chi^2 = 7.232$, $p = 0.008$, OR = 0.500; 95% CI 0.016–0.609). Stimulation of the granulocyte cell lineage was detected in 2 (11.1%) and 1 (8.3%) patients of the 1st and 2nd groups, respectively ($\chi^2 = 0.062$, $p = 0.804$, OR = 0.125; 95% CI 0.111–17.094). The megakaryocyte lineage had decreased cellularity in 11 (61.1%) patients of group 1 and in 5 (41.7%) patients of group 2 ($\chi^2 = 1.094$, $p = 0.296$, OR = 1.571; 95% CI 0.497–9.745). Normocellularity of the megakaryocyte lineage was observed in 7 (38.9 and 58.3%, respectively) patients in each group ($\chi^2 = 1.372$, $p = 0.242$, OR = 0.636; 95% CI 0.103–2.014). Hypercellularity of the megakaryocyte lineage was not registered in the groups.

When comparing the signs of myelodysplasia (Table 3), the naked cells were found in the myelograms of 4 patients (22.2%) of the 1st group, and 1 (8.3%) patient of the 2nd group ($\chi^2 = 1.000$, $p = 0.318$, OR = 3.143; 95% CI 0.306–32.279). Signs of dys-

Таблица 1. Показатели гемограмм у пациентов с ВИЧ-инфекцией и цитопенией
Table 1. Hemogram indicators in patients with HIV infection and cytopenia

Цитопении / Cytopenia	1-я группа 1st group (n = 18)		2-я группа 2nd group (n = 12)		χ^2	p	ОШ OR	ДИ CI
	абс. / abs.	%	абс. / abs.	%				
Анемия и тромбоцитопения Anemia and thrombocytopenia (n = 11)	6	33.3	5	41.7	0.215	0.643	0.500	0.155–3.166
Анемия и лейкопения Anemia and leukopenia (n = 11)	8	44.4	3	25.0	1.172	0.279	0.800	0.483–11.931
Панцитопения / Pancytopenia (n = 8)	4	22.2	4	33.3	0.455	0.501	0.286	0.111–2.933

Примечание. ОШ – отношение шансов; ДИ – доверительный интервал.
Note. OR – odds ratio; CI – confidence interval.

Таблица 2. Показатели миелограмм у пациентов с ВИЧ-инфекцией и цитопенией
Table 2. Indicators of myelograms in patients with HIV infection and cytopenia

Описание ростков Lineage	1-я группа 1st group (n = 18)		2-я группа 2nd group (n = 12)		χ^2	p	ОШ OR	ДИ CI
	абс. abs.	%	абс. abs.	%				
Клеточность костного мозга / Bone marrow cellularity								
Гипоклеточный / Hypocellular (n = 15)	11	61.1	4	33.3	4.713	0.023	1.571	0.681–14.504
Нормоклеточный / Normocellular (n = 11)	7	38.9	4	33.3	0.096	0.758	0.636	0–276–5.873
Гиперклеточный / Hypercellular (n = 4)	0	0	4	33.3	–	–	–	–
Эритроцитарный росток / Erythroid lineage								
Гипоклеточный / Hypocellular (n = 19)	11	61.1	8	66.7	0.096	0.758	1.571	0.170–3.626
Нормоклеточный / Normocellular (n = 8)	5	27.7	3	25	0.028	0.867	0.385	0.218–6.097
Гиперклеточный / Hypercellular (n = 3)	2	11.1	1	8.3	0.062	0.804	0.125	0.111–17.094
Гранулоцитарный росток / Granulocyte lineage								
Гипоклеточный / Hypocellular (n = 11)	10	55.6	1	8.3	6.914	0.009	1.250	1.452–130.245
Нормоклеточный / Normocellular (n = 16)	6	33.3	10	83.3	7.232	0.008	0.500	0.016–0.609
Гиперклеточный / Hypercellular (n = 3)	2	11.1	1	8.3	0.062	0.804	0.125	0.111–17.094
Мегакариоцитарный росток / Megakaryocyte lineage								
Гипоклеточный / Hypocellular (n = 16)	11	61.1	5	41.7	1.094	0.296	1.571	0.497–9.745
Нормоклеточный / Normocellular (n = 14)	7	38.9	7	58.3	1.372	0.242	0.636	0.103–2.014
Гиперклеточный / Hypercellular (n = 0)	0	0	0	0	–	–	–	–

Примечание. ОШ – отношение шансов; ДИ – доверительный интервал.
Note. OR – odds ratio; CI – confidence interval.

0.111–17.094). Гранулоцитарный росток был угнетен у 10 (55.6 %) и 1 (8.3 %) пациента в сравниваемых группах ($\chi^2 = 6.914$, $p = 0.009$, ОШ = 1.250; 95% ДИ 1.452–130.245). Гранулоцитарный росток был в норме у 6 (33.3 %) пациентов 1-й группы и 10 (83.3 %) пациентов 2-й группы ($\chi^2 = 7.232$, $p = 0.008$, ОШ = 0.500; 95% ДИ 0.016–0.609). Раздражение гранулоцитарного ростка выявлено у 2 (11.1 %) и у 1 (8.3 %) пациента 1-й и 2-й групп соответственно ($\chi^2 = 0.062$, $p = 0.804$, ОШ = 0.125; 95% ДИ 0.111–17.094). Мегакариоцитарный росток имел сниженную клеточность у 11 (61.1 %) пациентов 1-й группы и у 5 (41.7 %) пациентов 2-й группы ($\chi^2 = 1.094$, $p = 0.296$, ОШ = 1.571; 95% ДИ 0.497–9.745). Нормоклеточность мегакариоцитарного ростка отмечали у 7 (38.9 и 58.3 % соответственно) пациентов в каждой группе ($\chi^2 = 1.372$, $p = 0.242$, ОШ = 0.636; 95% ДИ 0.103–2.014). Гиперклеточности мегакариоцитарного ростка в группах не зарегистрировано.

При сравнении признаков миелодисплазии (табл. 3) голаядерные клетки обнаружены в миелограммах 4 пациентов (22.2 %) 1-й группы и 1 (8.3 %) пациента 2-й группы ($\chi^2 = 1.000$, $p = 0.318$,

erythropoiesis were determined in 3 (16.6%) patients of group 1 and 1 (8.3%) patient of group 2 ($\chi^2 = 0.433$, $p = 0.511$, OR = 2.200; 95% CI 0.201–24.087). Dysgranulopoiesis was found in myelograms of 4 (22.2%) patients of the 1st group, and 1 (8.3%) patient of the 2nd group ($\chi^2 = 1.000$, $p = 0.318$, OR = 3.143; 95% CI 0.306–32.279). Dysmegakaryocytopoiesis was found only in 2 (11.1%) patients of group 1. There were signs of dyspoiesis in 13 (72.2%) patients of group 1, and 3 (25.0%) patients of group 2 ($\chi^2 = 6.451$, $p = 0.012$, OR = 7.800; 95% CI 1.476–41.216).

Among the revealed signs, the bone marrow hypocellularity turned out to be the most significant ($\chi^2 = 4.713$, $p = 0.023$, OR = 1.571; 95% CI 0.681–14.504), as well as the presence of dyspoiesis signs in the bone marrow ($\chi^2 = 6.451$, $p = 0.012$, OR = 7.800; 95% CI 1.476–41.216), and hypocellularity of the granulocyte lineage ($\chi^2 = 6.914$, $p = 0.009$, OR = 1.250; 95% CI 1.452–130.245).

DISCUSSION

Patients with HIV infection who were diagnosed with cytopenia, most often did not receive ART, and the severity of changes in hemograms was associated

Таблица 3. Признаки диспоэза в костном мозге у пациентов с ВИЧ-инфекцией и цитопениями
Table 3. Signs of dyspoiesis in the bone marrow in patients with HIV infection and cytopenia

Признаки диспоэза Signs of dyspoiesis	1-я группа 1st group (n = 18)		2-я группа 2nd group (n = 12)		χ^2	p	ОШ OR	ДИ CI
	абс. / abs.	%	абс. / abs.	%				
Голоядерные клетки Naked cells (n = 5)	4	22.2	1	8.3	1.000	0.318	3.143	0.306 – 32.279
Дизэритропоэз Dyserythropoiesis (n = 4)	3	16.6	1	8.3	0.433	0.511	2.200	0.201– 24.087
Дизгранулопоэз Dysgranulopoiesis (n = 5)	4	22.2	1	8.3	1.000	0.318	3.143	0.306 – 32.279
Дизмегакариоцитопоэз Dysmegakariocytopoiesis (n = 2)	2	11.1	0	0	0	0	–	–
Есть признаки диспоэза With signs of dyspoiesis (n = 16)	13	72.2	3	25.0	6.451	0.012	7.800	1.476–41.216

Примечание. ОШ – отношение шансов; ДИ – доверительный интервал.
Note. OR – odds ratio; CI – confidence interval.

ОШ = 3.143; 95% ДИ 0.306–32.279). Признаки дизэритропоэза определяли у 3 (16.6 %) пациентов 1-й группы и 1 (8.3 %) пациента 2-й группы ($\chi^2 = 0.433$, $p = 0.511$, ОШ = 2.200; 95% ДИ 0.201–24.087). Дизгранулопоэз имел место в миелограммах у 4 (22.2 %) пациентов 1-й группы и 1 (8.3 %) пациента 2-й группы ($\chi^2 = 1.000$, $p = 0.318$, ОШ = 3.143; 95% ДИ 0.306–32.279). Дизмегакариоцитопоэз определяли только у 2 (11.1 %) пациентов 1-й группы. Имелись признаки диспоэза у 13 (72.2 %) пациентов 1-й группы и 3 (25.0 %) пациентов 2-й группы ($\chi^2 = 6.451$, $p = 0.012$, ОШ = 7.800; 95% ДИ 1.476–41.216).

Среди выявленных признаков наиболее значимыми оказались гипоклеточность костного мозга ($\chi^2 = 4.713$, $p = 0.023$, ОШ = 1.571; 95% ДИ 0.681–14.504), наличие признаков диспоэза в костном мозге ($\chi^2 = 6.451$, $p = 0.012$, ОШ = 7.800; 95% ДИ 1.476–41.216) и гипоклеточность гранулоцитарного ростка ($\chi^2 = 6.914$, $p = 0.009$, ОШ = 1.250; 95% ДИ 1.452–130.245).

ОБСУЖДЕНИЕ

Пациенты с ВИЧ-инфекцией, у которых выявляли цитопении, чаще всего не получали АРВТ, а степень выраженности изменений в гемограммах коррелировала со степенью тяжести иммуносупрессии [6–9], что согласуется и с данными нашего исследования. Многие исследования доказали значимую ценность различ-

with the severity of immunosuppression [6–9], which is consistent with the data of our study. Many studies have proved the significant value of various cytopenias in predicting the survival of patients with HIV infection [3, 10, 11]. We were unable to establish the presence of cytopenia of two cell lineage or pancytopenia as factors of an adverse outcome; perhaps, with a larger sample, our results would have been somewhat different. Few studies describing changes in the bone marrow of patients with HIV infection and cytopenia have shown the relationship of changes in the peripheral blood with changes in the bone marrow [1]. When assessing myelograms, we also showed the presence of numerous changes in the bone marrow in these patients.

CONCLUSION

Based on the results of the assessment of the hemograms and myelograms, it can be concluded that patients with HIV infection and cytopenia develop severe hematological disorders as the underlying disease progresses, which, in turn, may be risk factors for an adverse outcome of HIV infection. First of all, such factors include bone marrow hypocellularity, suppression of the granulocyte lineage and the presence of dyspoiesis signs in the bone marrow.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

ных цитопений при прогнозировании выживаемости пациентов с ВИЧ-инфекцией [3, 10, 11]. Нам не удалось констатировать наличие двухростковых цитопений или панцитопений как факторов неблагоприятного исхода; возможно, при наличии большей выборки наши результаты были бы несколько иными. Немногочисленные исследования, описывающие изменения костного мозга у пациентов с ВИЧ-инфекцией и цитопенией, показали взаимосвязь изменений в анализе периферической крови с изменениями в костном мозге [1]. Мы при оценке миелограмм также показали наличие многочисленных изменений в костном мозге у данных пациентов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Durandt C., Potgieter J.C., Mellet J. et al. HIV and haematopoiesis // *S. Afr. Med. J.* 2019;109(8b):40-45. DOI: 10.7196/SAMJ.2019.v109i8b.13829.
2. Cao G., Wang Y., Wu Y. et al. Prevalence of anemia among people living with HIV: A systematic review and meta-analysis // *EClinicalMedicine*. 2022;44:101283. DOI: 10.1016/j.eclinm.2022.101283.
3. Bhatta L., Klouman E., Deuba K. et al. Survival on antiretroviral treatment among adult HIV-infected patients in Nepal: a retrospective cohort study in Far-western region, 2006–2011 // *BMC Infect. Dis.* 2013;13:604. DOI: 10.1186/1471-2334-13-604.
4. Damtie S., Workneh L., Kiros T. et al. Hematological abnormalities of adult HIV-infected patients before and after initiation of highly active antiretroviral treatment at Debre Tabor Comprehensive Specialized Hospital, Northcentral Ethiopia: a cross-sectional study // *HIV AIDS (Auckl)*. 2021;13:477-484. DOI: 10.2147/HIV.S308422.
5. Руководство по гематологии: в 3 т. / Ю.Н. Андреев, З.С. Баркаган, А.Ю. Буланов и др. 3-е изд., перераб. и доп. М.: Ньюдиамед, 2005. Т. 3. 416 с.
6. Akinbami A., Oshinaike O., Adeyemo T. et al. Hematologic abnormalities in treatment-naïve HIV patients // *Infect. Dis. Res. Treat.* 2010. Vol. 3. DOI: 10.4137/IDRT.S6033.
7. Enawgaw B., Alem M., Addis Z., Melku M. Determination of hematological and immunological parameters among HIV positive patients taking highly active antiretroviral treatment and treatment naïve in the antiretroviral therapy clinic of Gondar University Hospital, Gondar, Northwest Ethiopia: a comparative cross-sectional study // *BMC Hematol.* 2014;14(1):8. DOI: 10.1186/2052-1839-14-8.
8. Shen Y., Wang J., Wang Z. et al. A cross-sectional study of leukopenia and thrombocytopenia among Chinese adults with newly diagnosed HIV/AIDS // *Biosci. Trends*. 2015;9(2):91-96. DOI: 10.5582/bst.2015.01024.
9. Канестри В.Г. Нарушение функционального состояния системы кроветворения у больных с ВИЧ-инфекцией // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По результатам оценки данных гемограмм и миелограмм можно сделать вывод о развитии у пациентов с ВИЧ-инфекцией и цитопенией по мере прогрессирования основного заболевания тяжелых гематологических нарушений, которые, в свою очередь, могут являться факторами риска неблагоприятного исхода ВИЧ-инфекции. В первую очередь к таким факторам можно отнести гипоклеточность костного мозга, угнетение гранулоцитарного роста и наличие признаков диспоэза в костном мозге.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

REFERENCES

1. Durandt C., Potgieter J.C., Mellet J. et al. HIV and haematopoiesis. *S. Afr. Med. J.* 2019;109(8b):40-45. DOI: 10.7196/SAMJ.2019.v109i8b.13829.
2. Cao G., Wang Y., Wu Y. et al. Prevalence of anemia among people living with HIV: A systematic review and meta-analysis. *EClinicalMedicine*. 2022;44:101283. DOI: 10.1016/j.eclinm.2022.101283.
3. Bhatta L., Klouman E., Deuba K. et al. Survival on antiretroviral treatment among adult HIV-infected patients in Nepal: a retrospective cohort study in Far-western region, 2006–2011. *BMC Infect. Dis.* 2013;13:604. DOI: 10.1186/1471-2334-13-604.
4. Damtie S., Workneh L., Kiros T. et al. Hematological abnormalities of adult HIV-infected patients before and after initiation of highly active antiretroviral treatment at Debre Tabor Comprehensive Specialized Hospital, Northcentral Ethiopia: a cross-sectional study. *HIV AIDS (Auckl)*. 2021;13:477-484. DOI: 10.2147/HIV.S308422.
5. Yu.N. Andreev, Z.S. Barkagan, A.Y. Bulanov et al. (2005). *Guide to Hematology*: in 3 vol., 3rd ed., revised. Moscow: Newdiamed. Vol. 3. 416 p. (In Russ.)
6. Akinbami A., Oshinaike O., Adeyemo T. et al. Hematologic abnormalities in treatment-naïve HIV patients. *Infect. Dis. Res. Treat.* 2010. Vol. 3. DOI: 10.4137/IDRT.S6033.
7. Enawgaw B., Alem M., Addis Z., Melku M. Determination of hematological and immunological parameters among HIV positive patients taking highly active antiretroviral treatment and treatment naïve in the antiretroviral therapy clinic of Gondar University Hospital, Gondar, Northwest Ethiopia: a comparative cross-sectional study. *BMC Hematol.* 2014;14(1):8. DOI: 10.1186/2052-1839-14-8.
8. Shen Y., Wang J., Wang Z. et al. A cross-sectional study of leukopenia and thrombocytopenia among Chinese adults with newly diagnosed HIV/AIDS. *Biosci. Trends*. 2015;9(2):91-96. DOI: 10.5582/bst.2015.01024.
9. Kanestri V.G. Disorders of hemopoiesis in HIV patients. *HIV infection and Immunosuppressive Disorders*. 2017;9(2):7-15. DOI: 10.22328/2077-9828-2017-9-2-7-15. (In Russ.)

- 2017;9(2):7-15. DOI: 10.22328/2077-9828-2017-9-2-7-15.
10. Ciccacci F., Lucaroni F., Latagliata R. et al. Hematologic alterations and early mortality in a cohort of HIV positive African patients // PLoS One. 2020;15(11):e0242068. DOI: 10.1371/journal.pone.0242068.
11. Johannessen A., Naman E., Ngowi B.J. et al. Predictors of mortality in HIV-infected patients starting antiretroviral therapy in a rural hospital in Tanzania // BMC Infect. Dis. 2008;8:52. DOI: 10.1186/1471-2334-8-52.
10. Ciccacci F., Lucaroni F., Latagliata R. et al. Hematologic alterations and early mortality in a cohort of HIV positive African patients. *PLoS One*. 2020;15(11):e0242068. DOI: 10.1371/journal.pone.0242068.
11. Johannessen A., Naman E., Ngowi B.J. et al. Predictors of mortality in HIV-infected patients starting antiretroviral therapy in a rural hospital in Tanzania. *BMC Infect. Dis.* 2008;8:52. DOI: 10.1186/1471-2334-8-52.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Калашникова Дарья Владимировна – ассистент кафедры госпитальной терапии, эндокринологии ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России; врач-гематолог отделения гематологии и химиотерапии БУЗОО «Областная клиническая больница», Омск, Россия.

Мордык Анна Владимировна – д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой фтизиатрии, фтизиохирургии и инфекционных болезней ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России, Омск, Россия.

Пузырева Лариса Владимировна – канд. мед. наук, доцент кафедры фтизиатрии, фтизиохирургии и инфекционных болезней ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России; врач-инфекционист БУЗОО «Клинический противотуберкулезный диспансер № 4», Омск, Россия.

ABOUT THE AUTHORS

Daria V. Kalashnikova – Assistant, Department of Hospital Therapy, Endocrinology, Omsk State Medical University; Hematologist, Department of Hematology and Chemotherapy, Regional Clinical Hospital, Omsk, Russia.

Anna V. Mordyk – Dr. Sci. (Med.), Professor, Head, Department of Phthisiology, Phthisiosurgery and Infectious Diseases, Omsk State Medical University, Omsk, Russia.

Larisa V. Puzyreva – Dr. Sci. (Med.), Associate Professor, Department of Phthisiology, Phthisiosurgery and Infectious Diseases, Omsk State Medical University; Infectious Disease Physician, Clinical Tuberculosis Dispensary No. 4, Omsk, Russia.

Оценка эффективности третьего этапа реабилитации пациентов после перенесенного COVID-19 в условиях дневного стационара

В.А. Дробышев¹, Л.А. Шпагина¹, С.А. Кармановская¹, Н.А. Сухатерина², Е.А. Заикина²

¹ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия

²ГБУЗ НСО «Городская клиническая больница № 2», Новосибирск, Россия

АННОТАЦИЯ

В е д е н и е . Пациентам с последствиями COVID-19 показано проведение реабилитационного комплекса для восстановления функции внешнего дыхания, утилизации тканями кислорода, повышения толерантности к физической нагрузке и др. Реабилитационные мероприятия включают аэробные нагрузки, адекватные состоянию и физическим возможностям пациента, дыхательную гимнастику и физиотерапевтические технологии.

Ц е л ь . Оценить эффективность третьего этапа реабилитации пациентов в возрасте 18–45 лет с последствиями COVID-19 (U07.1) в условиях дневного стационара многопрофильного лечебного учреждения.

М а т е р и а л ы и м е т о д ы . В условиях дневного стационара многопрофильного лечебного учреждения обследовано 139 пациентов в возрасте 18–45 лет с верифицированным диагнозом: Пневмония, ассоциированная с COVID-19 (U07.1). Пациенты были распределены на 2 группы: 107 пациентам 1-й группы проведен третий этап реабилитации; 32 чел., составившие 2-ю группу, отказались от проведения реабилитационных мероприятий. Выраженность одышки оценивалась по шкале MRC; функциональные нарушения в выполнении повседневных задач – по шкалам BDI и TDI; толерантность к физической нагрузке – по тесту 6-минутной ходьбы с оценкой переносимости физических нагрузок по модифицированной шкале Борга; выраженность тревоги и депрессии – по опроснику HADS; интенсивность боли – по визуально-аналоговой шкале (ВАШ); качество жизни – по Европейскому опроснику качества жизни EQ-5D. Проведена статистическая обработка полученных результатов.

Р е з у л ь т а т ы . В группе пациентов, получивших реабилитационные мероприятия в полном объеме, при повторном осмотре отмечено значительное уменьшение общих жалоб, нормализация ряда гемодинамических параметров, улучшение показателей теста шестиминутной ходьбы, снижение выраженности одышки по шкале MRC в 1.8 раза, снижение уровня тревоги по опроснику HADS в 2.1 раза, уменьшение болевых ощущений по ВАШ в 3.2 раза, улучшение переносимости физической нагрузки по модифицированной шкале Борга в 1.8 раза и качества жизни согласно опроснику EQ-5D в 1.4 раза. В группе пациентов, отказавшихся от реабилитации, изменение этих показателей не носило значимого характера.

З а к л ю ч е н и е . Пациентам, перенесшим пневмонию, ассоциированную с COVID-19, целесообразно проведение третьего этапа реабилитации в условиях дневного стационара с целью восстановления функций респираторной системы, повышения толерантности к физической нагрузке, снижения уровня тревожности и улучшения качества жизни.

Ключевые слова: реабилитация, пневмония, новая коронавирусная инфекция, COVID-19, шкала реабилитационной маршрутизации, сатурация, опросники, качество жизни.

Образец цитирования: Дробышев В.А., Шпагина Л.А., Кармановская С.А., Сухатерина Н.А., Заикина Е.А. Оценка эффективности третьего этапа реабилитации пациентов после перенесенного COVID-19 в условиях дневного стационара // Journal of Siberian Medical Sciences. 2023;7(2):17-28. DOI: 10.31549/2542-1174-2023-7-2-17-28

Поступила в редакцию 28.06.2022
Прошла рецензирование 30.06.2022
Принята к публикации 14.07.2022

Автор, ответственный за переписку
Дробышев Виктор Анатольевич: ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России. 630091, г. Новосибирск, Красный просп., 52.
E-mail: doctorvik@yandex.ru

Received 28.06.2022
Revised 30.06.2022
Accepted 14.07.2022

Corresponding author
Viktor A. Drobyshev: Novosibirsk State Medical University, 52, Krasny prosp., Novosibirsk, 630091, Russia.
E-mail: doctorvik@yandex.ru

Evaluation of the effectiveness of the third stage rehabilitation in patients after COVID-19 in a day hospital

V.A. Drobyshev¹, L.A. Shpagina¹, S.A. Karmanovskaya¹, N.A. Sukhaterina², E.A. Zaikina²

¹Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia

²City Clinical Hospital No. 2, Novosibirsk, Russia

ABSTRACT

Introduction. For patients with the consequences of COVID-19 it seems relevant to undergo a rehabilitation program to restore the respiratory function, oxygen uptake by tissues, increase exercise tolerance, etc. Rehabilitation includes aerobic-based exercises adequate to the patient's state and physical capabilities, breathing exercises and physiotherapy modalities.

Aim. To evaluate the effectiveness of the third stage rehabilitation in patients aged 18–45 years with the consequences of COVID-19 (U07.1) in a day hospital of multispecialty hospital.

Materials and methods. One hundred and thirty-nine patients aged 18–45 years with a verified diagnosis of pneumonia associated with COVID-19 (U07.1) were examined in a day hospital of multispecialty hospital. The patients were divided into 2 groups: 107 patients of the 1st group underwent the third stage rehabilitation; 32 people from who made up the 2nd group refused rehabilitation. The severity of dyspnea was assessed using the Medical Research Council (MRC) Dyspnea Scale; functional impairment in the performance of activities of daily living – according to the Baseline Dyspnea Index and Transitional Dyspnea Index scales; exercise tolerance – according to the 6-minute walk test and the modified Borg Scale; the severity of anxiety and depression – according to the Hospital Anxiety and Depression Scale (HADS); pain intensity – according to the Visual Analogue Scale (VAS); quality of life – according to the EuroQoL Five-Dimension Questionnaire (EQ-5D). Statistical processing of the obtained results was carried out.

Results. In the group of patients who completed rehabilitation, upon follow-up examination, there was a significant decrease in complaints, normalization of a number of hemodynamic parameters, an improvement in the 6-minute walk test scores, a decrease in the severity of dyspnea according to the MRC Dyspnea Scale by 1.8 times, a decrease in anxiety according to the HADS by 2.1 times, a decrease in pain according to the VAS by 3.2 times, an improvement in exercise tolerance according to the modified Borg Scale by 1.8 times and quality of life – according to the EQ-5D by 1.4 times. In the group of patients who refused rehabilitation, the change in these indicators was not significant.

Conclusion. For patients who have had pneumonia associated with SARS-CoV-2, it is advisable to go through the third stage rehabilitation in a day hospital in order to restore the respiratory functions, increase exercise tolerance, reduce anxiety and improve quality of life.

Keywords: rehabilitation, pneumonia, novel coronavirus infection, COVID-19, Rehabilitation Routing Scale, saturation, questionnaires, quality of life.

Citation example: Drobyshev V.A., Shpagina L.A., Karmanovskaya S.A., Sukhaterina N.A., Zaikina E.A. Evaluation of the effectiveness of the third stage rehabilitation in patients after COVID-19 in a day hospital. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2023;7(2):17–28. DOI: 10.31549/2542-1174-2022-7-2-17-28

ВВЕДЕНИЕ

Новая коронавирусная инфекция COVID-19, передаваемая воздушно-капельным, воздушно-пылевым и контактными путями, поставила перед специалистами здравоохранения задачи, связанные с диагностикой, оказанием медицинской помощи, а также реабилитацией пациентов [1, 2].

Начальным этапом заражения является проникновение SARS-CoV-2 в клетки-мишени, имеющие рецепторы ангиотензин-превращающего фермента II типа, что определяет развитие диффузного альвеолярного повреждения [3–8]. Для пациентов с коронавирусной инфекцией характерно развитие синдрома системной вос-

INTRODUCTION

A novel coronavirus infection (COVID-19), transmitted by airborne droplets and dust routes and through direct contact, has set challenges for health-care professionals related to diagnosis, medical care, and rehabilitation of patients [1, 2].

The initial stage of infection is the penetration of SARS-CoV-2 into target cells that have angiotensin-converting enzyme type II receptors, which determines the development of diffuse alveolar damage [3–8]. Patients with coronavirus infection are characterized by the development of a systemic inflammatory response syndrome, damage to the microcirculatory bed, activation of the coag-

палительной реакции, поражение микроциркуляторного русла, активирование свертывающей и подавление фибринолитической системы крови [9, 10].

Пациентам с последствиями COVID-19 показано проведение реабилитационного комплекса для восстановления функции внешнего дыхания, утилизации тканями кислорода, повышения толерантности к физической нагрузке и т.д. [11–14]. Этапность реабилитации определяется показателями шкалы реабилитационной маршрутизации (ШРМ), согласно которой значения в 2 и 3 балла диктуют необходимость направления пациента на третий этап, реализуемый в амбулаторных условиях и в условиях дневного стационара при участии специалистов мультидисциплинарной реабилитационной команды (МДРК) [1]. Реабилитационные мероприятия, согласно [1], включают аэробные нагрузки, адекватные состоянию и физическим возможностям пациента, дыхательную гимнастику и физиотерапевтические технологии [7, 8, 12]. Методами контроля эффективности реабилитации на третьем этапе служат показатели сатурации (SpO_2) в покое и при физической нагрузке; выраженности одышки по шкале Medical Research Council Dyspnea Scale – MRC; переносимости физической нагрузки по шкале Борга; интенсивности тревоги и депрессии по госпитальной шкале тревоги и депрессии (Hospital Anxiety and Depression Scale – HADS); функциональных нарушений, трудностей в выполнении повседневных задач, степени необходимых усилий по шкалам BDI (Baseline Dyspnea Index – исходный индекс одышки) и TDI (Transition Dyspnea Index – динамический индекс одышки). Качество жизни оценивалось с помощью Европейского опросника качества жизни EQ-5D [1].

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценить эффективность третьего этапа реабилитации пациентов с последствиями COVID-19 в условиях дневного стационара многопрофильного лечебного учреждения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

На базе клинко-диагностического центра ГБУЗ НСО «Городская клиническая больница № 2» г. Новосибирска (главный врач – проф. Л.А. Шпагина) специалистами МДРК обследовано 139 пациентов 18–45 лет (средний возраст 44.5 ± 5.5 года) с верифицированным диагнозом: Пневмония, ассоциированная с COVID-19 (вирус идентифицирован) (U07.1). Время от развития

ulation system and suppression of the fibrinolytic system [9, 10].

Patients with the consequences of COVID-19 have indications to undergo a rehabilitation program to restore the respiratory function, oxygen uptake by tissues, increase exercise tolerance, etc. [11–14]. The stages of rehabilitation are determined by the Rehabilitation Routing Scale (RRS) scores, according to which values of 2 and 3 points indicate the need to refer a patient to the third stage, implemented on an outpatient basis and in a day hospital with the participation of specialists from a multidisciplinary rehabilitation team (MDRT) [1]. Rehabilitation, according to [1], includes aerobic-based exercises, adequate to the state and physical capabilities of a patient, breathing exercises and physiotherapy modalities [7, 8, 12]. Monitoring the effectiveness of rehabilitation at the third stage comprises assessment of oxygen saturation (SpO_2) at rest and during exercise; dyspnea – according to the Medical Research Council (MRC) Dyspnea Scale; exercise tolerance – according to the Borg Scale; anxiety and depression – according to the Hospital Anxiety and Depression Scale (HADS); functional impairment, difficulties in daily living activities, and changes in magnitude of task and magnitude of effort according to the Baseline Dyspnea Index (BDI) and Transitional Dyspnea Index (TDI). Quality of life was assessed using the EuroQoL Five-Dimension Questionnaire (EQ-5D) [1].

AIM OF THE RESEARCH

To evaluate the effectiveness of the third stage rehabilitation in patients with the consequences of COVID-19 in a day hospital of multispecialty hospital.

MATERIALS AND METHODS

On the basis of the Clinical Diagnostic Center of the City Clinical Hospital No. 2, Novosibirsk (Chief Physician – Prof. L.A. Shpagina), MDRT specialists examined 139 patients aged 18–45 years (mean age 44.5 ± 5.5 years) with a verified diagnosis of pneumonia associated with COVID-19 (virus confirmed) (U07.1). The time from the development of pneumonia to inclusion into the study for all patients was 4–6 weeks, the period after discharge from the hospital was within 12–14 days. During the initial examination, patients complained of shortness of breath at rest and during exercise (83.3%), weakness, rapid fatigability (77.8%). According to the results of the clinical and functional examination, the patients revealed a residual interstitial lung process (52.2%),

пневмонии до момента включения в исследование у всех пациентов составляло 4–6 нед, период после выписки из стационара варьировал в пределах 12–14 дней. При первичном осмотре пациенты предъявляли жалобы на одышку в покое и при физической нагрузке (83.3 %), слабость, быструю утомляемость (77.8 %). По результатам клиничко-функционального обследования у пациентов выявляли остаточные явления интерстициального поражения легких (52.2 %), дыхательную недостаточность (46.7 %), астенический синдром (72.2 %), повышенную тревожность (85.5 %).

Критерии включения: 1) высокий и средний реабилитационный потенциал, соответствующий ШРМ 2–3 балла; 2) сохранение одышки при физической нагрузке – 1–3 балла по шкале MRC; 3) $SpO_2 > 95\%$; 4) тест шестиминутной ходьбы (ТШХ) – 301–425 м; 5) отрицательные результаты тестирования методом ПЦР (полимеразная цепная реакция) орофарингеальных мазков на РНК SARS-CoV-2.

Критерии исключения: 1) отрицательная динамика данных компьютерной томографии легких и/или маркеров воспаления; 2) высокие кардиологические риски; 3) $SpO_2 < 95\%$; 4) хроническая сердечная недостаточность (ХСН) III (по NYHA); 5) хронические заболевания печени, почек, сердца, легких в стадии декомпенсации.

Все пациенты дали согласие на участие в исследовании, в соответствии с международными этическими требованиями ВОЗ. На выполнение работы получено разрешение локального этического комитета.

Обследование пациентов включало: осмотры терапевта, пульмонолога, невролога, физиотерапевта, кардиолога, врача лечебной физкультуры (ЛФК), электрокардиографию, клинический и биохимический анализ крови.

Выраженность одышки оценивалась по шкале MRC [15]; функциональные нарушения в выполнении повседневных задач – по шкалам BDI и TDI [1]; толерантность к физической нагрузке – по тесту 6-минутной ходьбы [16] с оценкой переносимости физических нагрузок по модифицированной шкале Борга [17]; выраженность тревоги и депрессии – по опроснику HADS [18]; интенсивность боли – по визуально-аналоговой шкале (ВАШ); качество жизни – по Европейскому опроснику качества жизни EQ-5D [19].

Методом случайной выборки все обследованные были разделены на две группы, сопоставимые по гендерным и возрастным характеристикам: в 1-й группе (основной), включавшей 107 пациентов (62 женщины и 45 мужчин), на протя-

respiratory failure (46.7%), fatigue (72.2%), and a high level of anxiety (85.5%).

Inclusion criteria: 1) high and medium rehabilitation potential, corresponding to 2–3 points by the RRS; 2) persistence of shortness of breath during physical exertion – 1–3 grade by the MRC Dyspnea Scale; 3) $SpO_2 > 95\%$; 4) 6-minute walk test (6MWT) – 301–425 m; 5) negative polymerase chain reaction testing of oropharyngeal swabs for SARS-CoV-2 RNA.

Exclusion criteria: 1) negative dynamics according to computed tomography (CT) of the lungs and/or markers of inflammation; 2) high cardiac risks; 3) $SpO_2 < 95\%$; 4) chronic heart failure (CHF) (NYHA class III); 5) chronic diseases of the liver, kidneys, heart, lungs in the decompensation stage.

All patients gave consent to participate in the study, in accordance with international ethical requirements of the WHO. The study was approved by the Local Ethics Committee.

Examination of patients included: examinations by a general practitioner, pulmonologist, neurologist, physiatrist, cardiologist, physical medicine and rehabilitation physician, electrocardiography, complete blood count and blood chemistry.

The severity of dyspnea was assessed using the MRC Dyspnea Scale [15]; functional impairment – by daily living activity performance according to the BDI and TDI [1]; exercise tolerance – according to the 6-minute walk test [16] and the modified Borg Scale [17]; the severity of anxiety and depression – according to the HADS [18]; pain intensity – according to the Visual Analogue Scale (VAS); quality of life – according to the EQ-5D [19].

All participants of the study were randomised into two groups comparable in gender and age characteristics: in the 1st group (main), which included 107 patients (62 women and 45 men), the rehabilitation was carried out for 12–14 days, according to [1]. Patients of the 2nd group (comparison) – 32 people (18 women and 14 men) – for various reasons, refused to participate in rehabilitation.

Statistical processing of the results obtained was carried out on a personal computer using the statistical software package Statistica 6.0 (StatSoft). Variation statistics was used to determine the arithmetic mean (M), its error ($\pm m$), and the Student's *t*-test at different significance levels (*p*), and significance of difference was at $p < 0.05$. Data analysis was also carried out using SPSS 15.0 software.

RESULTS AND DISCUSSION

According to the data of computed tomography of the lungs at baseline, in both groups, more than 1/2

жении 12–14 дней проводилась реабилитация, согласно [1]. Пациенты 2-й группы (сравнения) – 32 чел. (18 женщин и 14 мужчин) – по различным причинам отказались от участия в реабилитационных мероприятиях.

Статистическая обработка полученных результатов осуществлялась на персональном компьютере с использованием пакета статистических программ Statistica 6.0 (StatSoft). С помощью метода вариационной статистики определялась средняя арифметическая (M), ее ошибка ($\pm m$), критерий Стьюдента (t) при различных уровнях значимости (p), достоверность при $p < 0.05$. Анализ данных также проводился с помощью статистического пакета программ SPSS 15.0.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Согласно исходным данным компьютерной томографии (КТ) легких, в обеих группах более 1/2 составили пациенты с поражением менее 25 % легочной ткани; поражение 2-й степени (25–50 %) выявлялось у 1/3 обследованных, поражение 3-й степени (50–75 %) – чуть больше чем у 1/10 и поражение 4-й степени – у 1/50 (табл. 1).

В ходе первичного осмотра было установлено, что пациенты обеих групп чаще всего жаловались на общую слабость, одышку, головную боль, повышенную потливость и тревожность (табл. 2).

При повторном осмотре у пациентов 1-й группы отмечено достоверное уменьшение частоты жалоб, в том числе общей слабости – в 1.7 раза ($p = 0.032$), одышки – в 1.9 раза ($p = 0.029$), кашля – в 2.5 раза ($p = 0.026$), головокружения – в 1.6 раза ($p = 0.036$), шума в ушах – в 2.7 раза ($p = 0.025$), головной боли – в 1.8 раза ($p = 0.034$), учащенного сердцебиения – в 1.4 раза ($p = 0.037$), потливости – в 2.2 раза ($p = 0.030$), тревожности и боли в грудной клетке – в 2.3 и 3.3 раза соответственно ($p = 0.028$ и 0.022 соответственно).

В то же время во 2-й группе изменения носили менее значимый характер: частота жалоб на шум

were patients with lesions of less than 25% of the lung tissue; 2nd degree lesion (25–50%) was detected in 1/3 of the examined, 3rd degree lung lesion (50–75%) – slightly more than in 1/10, and 4th degree lung lesion – in 1/50 (Table 1).

During the initial examination, it was found that patients in both groups most often complained of fatigue, shortness of breath, headache, excessive sweating, and anxiety (Table 2).

During the follow-up examination, patients of the 1st group showed a significant decrease in the frequency of complaints, including fatigue – by 1.7 times ($p = 0.032$), dyspnea – by 1.9 times ($p = 0.029$), cough – by 2.5 times ($p = 0.026$), dizziness – by 1.6 times ($p = 0.036$), tinnitus – by 2.7 times ($p = 0.025$), headache – by 1.8 times ($p = 0.034$), tachycardia – by 1.4 times ($p = 0.037$), excessive sweating – by 2.2 times ($p = 0.030$), anxiety and chest pain – by 2.3 and 3.3 times, respectively ($p = 0.028$ and 0.022 , respectively).

At the same time, in the 2nd group, the changes were less significant: the frequency of complaints of tinnitus, headache and excessive sweating decreased by 1.5 times ($p = 0.034$), and chest pain – by 3 times ($p = 0.027$). Attention was drawn to the fact that the decrease in complaints in the 1st group was significantly greater than in the 2nd one, despite a similar degree of lung lesions according to CT data.

The final examination of patients confirmed the effectiveness and safety of medical modalities used on the basis of [1] (Table 3): patients in group 1 showed a decrease in the severity of dyspnea according to the MRC Dyspnea Scale by 1.8 times compared with baseline values ($p = 0.029$); with comparison of the Baseline Dyspnea Index and Transitional Dyspnoea Index scores, functional impairment decreased by 1.3 times ($p = 0.036$); there was a significant decrease in the severity of anxiety according to the HADS by 2.1 times ($p = 0.021$) and a decrease in pain according to the VAS by 3.2 times ($p = 0.022$), as well as an improvement in exercise tolerance according to the Borg Scale by 1.8 times ($p = 0.031$).

Таблица 1. Распределение пациентов с последствиями COVID-19 в сравниваемых группах по степени поражения легких

Table 1. Distribution of patients with the consequences of COVID-19 in the compared groups according to the degree of the lung lesion

Степень поражения легочной ткани Degree of lung tissue lesion	1-я группа / 1st group ($n = 107$)		2-я группа / 2nd group ($n = 32$)	
	абс. / abs.	%	абс. / abs.	%
1 (<25%)	58	54.2	17	53.1
2 (25–50%)	34	31.8	10	31.3
3 (50–75%)	13	12.1	4	12.5
4 (>75%)	2	1.9	1	3.1

Таблица 2. Частота выявления жалоб у пациентов с последствиями COVID-19 в сравниваемых группах до и после лечения**Table 2.** The frequency of complaints in patients with the consequences of COVID-19 in the compared groups at baseline and after treatment

Показатель Indicator	1-я группа / 1st group (n = 107)				2-я группа / 2nd group (n = 32)			
	до лечения baseline		после лечения after treatment		до лечения baseline		после лечения after treatment	
	абс. / abs.	%	абс. / abs.	%	абс. / abs.	%	абс. / abs.	%
Общая слабость / Fatigue	107	100	62	57.9*	32	100	30	93.8
Одышка / Dyspnea	97	90.7	51	47.7*^	28	87.5	25	78.1
Кашель / Cough	32	29.9	13	12.6*^	9	28.1	8	25
Головокружение / Dizziness	16	15	10	9.3*^	5	15.6	5	15.6
Шум в голове, ушах Head noises, tinnitus	8	7.5*	3	2.8*^	3	9.3	2	6.3^
Головная боль / Headache	54	50.5	30	28*^	16	50	11	34.4^
Учащенное сердцебиение Tachycardia	27	25.2	19	17.8*^	8	25	7	21.9
Повышенная потливость Excessive sweating	50	46.7*	22	20.6*^	18	56.3	12	37.5^
Повышенная тревожность Increased anxiety	28	26.2	12	11.2*^	8	25	7	21.9
Боль в грудной клетке Chest pain	10	9.3	3	2.3*^	3	9.4	1	3.1^

* Критерий достоверности межгрупповых отличий ($p < 0.05$).Significance of difference between groups ($p < 0.05$).^ Критерий достоверности внутригрупповых различий ($p < 0.05$).Significance of intragroup difference ($p < 0.05$).

в голове, ушах, головную боль и повышенную потливость уменьшилась в 1.5 раза ($p = 0.034$), а на боль в грудной клетке – в 3 раза ($p = 0.027$). Обращал на себя внимание тот факт, что снижение жалоб в 1-й группе оказалось достоверно большим, чем в 2-й группе, несмотря на схожую степень поражения легочной ткани, согласно данным КТ.

Заключительное обследование пациентов подтвердило эффективность и безопасность медицинских мероприятий, проводимых на основании [1] (табл. 3): у пациентов в 1-й группе было выявлено снижение выраженности одышки по шкале MRC в 1.8 раза от исходных значений ($p = 0.029$), при сравнении исходного (BDI) и динамического (TDI) индекса одышки функциональные нарушения уменьшились в 1.3 раза ($p = 0.036$); отмечено достоверное снижение выраженности тревоги по опроснику HADS в 2.1 раза ($p = 0.021$) и уменьшение болевых ощущений по ВАШ в 3.2 раза ($p = 0.022$), а также улучшение переносимости физической нагрузки по модифицированной шкале Борга в 1.8 раза ($p = 0.031$). Качество жизни у пациентов 1-й группы после курса реабилитационных мероприятий по результатам опросника EQ-5D улучши-

According to the EQ-5D, the quality of life in patients of the 1st group improved by 1.4 times after a course of rehabilitation ($p = 0.034$). Whereas, in patients of the 2nd group, the changes were not significant, and made it possible to speak only of a trend towards improvement.

When comparing the results of the final examination, it turned out that the exercise tolerance according to the Borg Scale in patients of the 1st group exceeded that of the 2nd group by 1.7 times ($p = 0.031$). The severity of the pain syndrome according to the VAS, on the contrary, was 2.9 times higher in patients of group 2 than in group 1 ($p = 0.028$). In addition, patients of the 2nd group had more severe dyspnea according to the MRC Dyspnea Scale than patients of the 1st group, by 1.5 times ($p = 0.034$). With a comparable Baseline Dyspnea Index (BDI), by the end of the follow-up period, the patients of the 1st group had fewer functional disorders than patients of the 2nd group, by 1.6 times ($p = 0.037$); and the anxiety level indicator according to the HADS was 1.8 times lower ($p = 0.032$), respectively, while the quality of life indicator according to the EQ-5D questionnaire, on the contrary, exceeded the similar value in the 2nd group by 1.2 times ($p = 0.042$).

Таблица 3. Результаты обследования пациентов с последствиями COVID-19 в сравниваемых группах до и после лечения, баллы**Table 3.** The results of the examination of patients with the consequences of COVID-19 at baseline and after treatment, points

Шкала/опросник Tool	1-я группа / 1st group (n = 107)		2-я группа / 2nd group (n = 32)	
	до лечения baseline	после лечения after treatment	до лечения baseline	после лечения after treatment
Борга / Borg Scale	6.5 [6.4; 6.6]	3.6 [2.0; 5.2]*^	6.4 [5.2; 7.6]	6.0 [4.7; 7.3]
ВАШ / VAS	3.8 [1.5; 6.1]	1.2 [0.8; 1.6]*^	3.6 [6.0; 1.2]	3.5 [1.1; 5.9]
MRC Dyspnea Scale	2.4 [1.8; 3.0]	1.3 [0.7; 1.9]*^	2.5 [1.9; 3.1]	1.9 [1.1; 2.7]^
BDI	2.5 [2.0; 3.0]	–	2.5 [2.1; 2.9]	–
TDI	–	3.2 [2.9; 3.5]*^	–	2.0 [1.6; 2.4]
EQ-5D	5.5 [3.2; 7.8]	7.6 [6.0; 9.2]*^	5.4 [3.2; 7.6]	6.4 [4.0; 8.8]^
HADS:				
тревога / anxiety	5.5 [3.0; 7.0]	2.6 [1.4; 3.8]*^	5.3 [2.8; 7.8]	4.8 [2.3; 7.3]
депрессия / depression	2.2 [1.0; 3.4]	2.0 [0.9; 3.1]	2.1 [0.8; 3.4]	1.9 [0.6; 3.2]

* Критерий достоверности межгрупповых отличий ($p < 0.05$).Significance of difference between groups ($p < 0.05$).^ Significance of intragroup difference ($p < 0.05$).Критерий достоверности внутригрупповых различий ($p < 0.05$).

лось в 1.4 раза ($p = 0.034$). В то же время у осматриваемых во 2-й группе изменения не носили значимого характера и позволяли говорить лишь о тенденции к улучшению.

При сопоставлении результатов заключительного осмотра оказалось, что переносимость физических нагрузок по шкале Борга у пациентов 1-й группы превышала показатель 2-й группы в 1.7 раза ($p = 0.031$). Выраженность болевого синдрома по ВАШ, напротив, оказалась у пациентов 2-й группы выше, чем в 1-й, в 2.9 раза ($p = 0.028$). Кроме этого, пациенты 2-й группы имели более выраженную одышку по шкале MRC, чем пациенты 1-й группы, – в 1.5 раза ($p = 0.034$). При сопоставимом исходном динамическом индексе одышки (BDI) к завершению периода наблюдения пациенты 1-й группы имели меньше функциональных нарушений, чем пациенты 2-й группы, в 1.6 раза ($p = 0.037$), а показатели уровня тревожности по HADS были ниже в 1.8 раза ($p = 0.032$) соответственно, тогда как показатель качества жизни по опроснику EQ-5D, напротив, превышал аналогичное значение во 2-й группе в 1.2 раза ($p = 0.042$).

Изучение показателей сатурации кислорода в покое и при физической нагрузке свидетельствовало об улучшении функции респираторной системы к завершению реабилитационного курса (рис. 1). Так, у пациентов в 1-й группе было зафиксировано увеличение насыщенности легких кислородом, в то время как во 2-й группе аналогичные показатели не изменились.

Indicators of oxygen saturation at rest and during exercise indicated an improvement in the respiratory function by the end of the course of rehabilitation (Fig. 1). So, in patients in the 1st group, an increase in oxygen saturation was recorded, while in the 2nd group, similar indicators did not change.

The effectiveness of rehabilitation was confirmed by an increase in exercise tolerance of patients in the 1st group (Fig. 2): the results of the 6-minute walk test by the end of the follow-up period exceeded the baseline values by 1.2 times ($p = 0.038$), whereas in patients of the 2nd group, the changes in similar indicators were not noted.

When studying hemodynamic parameters, the following was found (Fig. 3): in patients of the 1st group, by the end of the course of rehabilitation, a more marked improvement in systolic blood pressure (SBP) and diastolic blood pressure (DBP) parameters was noted than in the 2nd group ($p > 0.005$).

So, if during the baseline examination, the average levels of SBP exceeded the reference values, then by the end of the course of rehabilitation in patients of the 1st group, their decrease to the level of high normal blood pressure was noted, while in the 2nd group, the SBP indicators continued to exceed the reference values.

Unidirectional changes were revealed for DBP, which, from the baseline high normal pressure values, decreased by the end of the follow-up in patients of the 1st group to fit the reference DBP values (<85 mm Hg). At the same time, in patients of the 2nd group, DBP indicators remained at the baseline level.

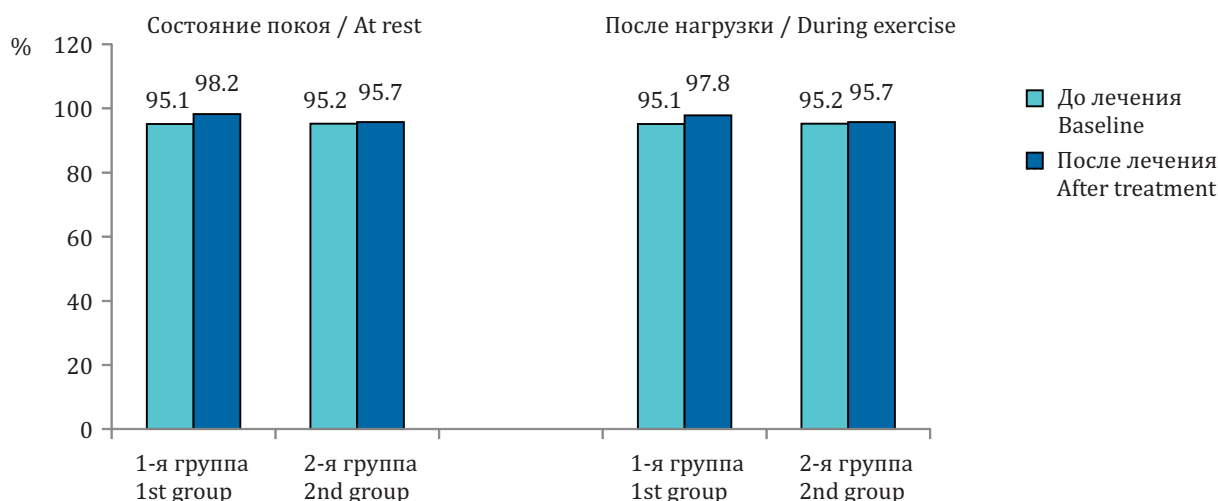


Рис. 1. Показатели сатурации в покое и после нагрузки у пациентов с последствиями COVID-19 в сравниваемых группах до и после лечения

Fig. 1. Oxygen saturation at rest and after exercises in patients with the consequences of COVID-19 at baseline and after treatment

Подтверждением эффективности реабилитационных мероприятий явилось увеличение физической выносливости пациентов 1-й группы (рис. 2): результаты теста шестиминутной ходьбы к завершению периода наблюдения превышали исходные значения в 1.2 раза ($p = 0.038$), тогда как у обследованных во 2-й группе изменений аналогичных показателей не отмечалось.

При изучении гемодинамических показателей было установлено следующее (рис. 3): у пациентов в 1-й группе к завершению курса реабилитационных мероприятий отмечалась более выраженная коррекция уровней систолического артериального давления (САД) и диастолического артериального давления (ДАД), чем во 2-й группе ($p > 0.005$).

Thus, for patients who had COVID-19 and an RRS score of 3 points, it is advisable to go through the third stage rehabilitation in a day hospital with the participation of MDRT specialists, which will contribute to restoration of the respiratory function, to an increase in the exercise tolerance, and, as a result, to daily living activities enhancement, as well as reducing the anxiety level and improving the quality of life.

Monitoring the overall activity in patients with the consequences of COVID-19 and the evaluation of the effectiveness of medical assistance should be carried out in accordance with the interim guidelines "Medical Rehabilitation for Novel Coronavirus Infection (COVID-19), version 2 (31.07.2020)," and include the assessment of oxygen saturation at rest and during

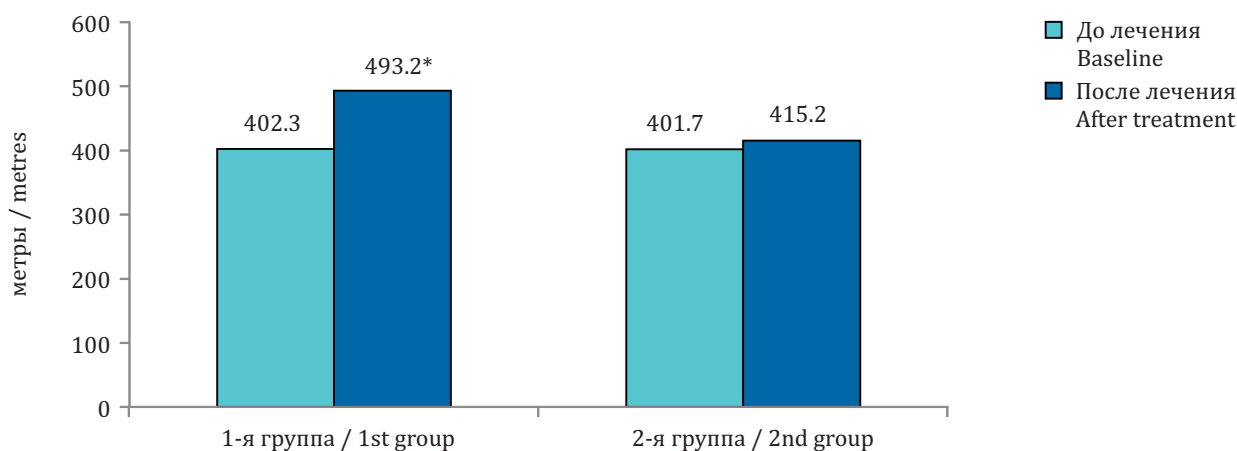


Рис. 2. Показатели теста шестиминутной ходьбы у пациентов с последствиями COVID-19 в сравниваемых группах до и после лечения (* критерий достоверности внутригрупповых различий ($p < 0.05$))

Fig. 2. The results of the six-minute walk test in patients with the consequences of COVID-19 in the compared groups at baseline and after treatment (*significance of intragroup difference ($p < 0.05$))

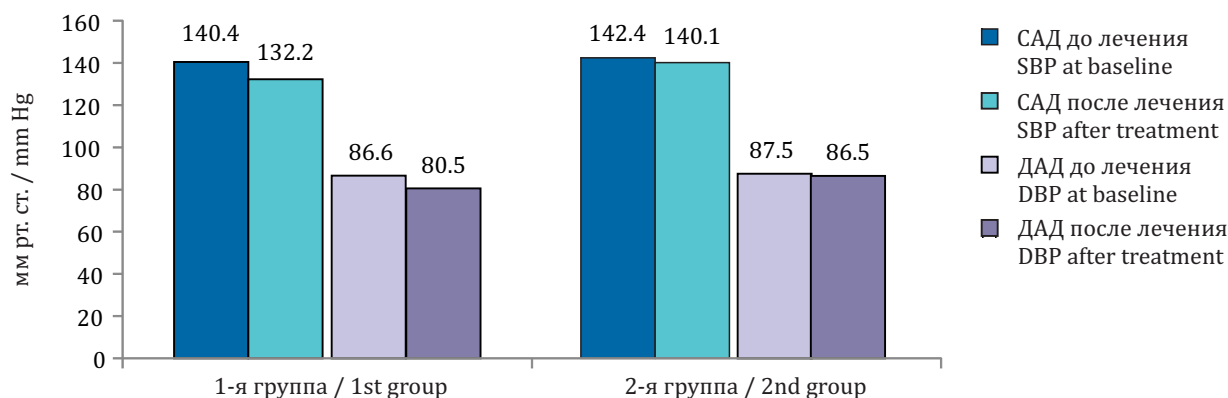


Рис. 3. Показатели системной гемодинамики у пациентов с последствиями COVID-19 в сравниваемых группах до и после лечения (САД – систолическое артериальное давление; ДАД – диастолическое артериальное давление)

Fig. 3. Indicators of systemic hemodynamics in patients with the consequences of COVID-19 at baseline and after treatment (SBP – systolic blood pressure; DBP – diastolic blood pressure)

Так, если при первичном осмотре средние уровни САД превышали нормативные значения, то к завершению реабилитационного курса у пациентов 1-й группы отмечалось их снижение до уровня высокого нормального давления, в то время как во 2-й группе показатели САД продолжали превышать нормативные значения.

Однонаправленные изменения касались показателей ДАД, которые от исходных цифр, соответствующих высокому нормальному давлению, к завершению наблюдения снизились у пациентов в 1-й группе до величин, подходящих под критерии нормального артериального давления (<85 мм рт. ст.). В то же время у пациентов 2-й группы показатели ДАД оставались на первоначальных уровнях.

Таким образом, пациентам, перенесшим COVID-19 и имеющим показатель ШРМ 3 балла, целесообразно проведение третьего этапа реабилитации в условиях дневного стационара амбулаторно-поликлинического подразделения, при участии специалистов МДРК, что способствует восстановлению функций респираторной системы, повышению толерантности к физической нагрузке, и, как следствие, – повседневной активности, снижению уровня тревожности и улучшению качества жизни.

Контроль нагрузок пациентам с последствиями COVID-19 и оценка эффективности реализуемых медицинских мероприятий должны проводиться в соответствии с временными методическими рекомендациями «Медицинская реабилитация при новой коронавирусной инфекции (COVID-19), версия 2 (31.07.2020)» и включать определение сатурации кислорода в покое и после нагрузки, контроль гемодинамических показателей, проведение теста шестиминутной

exercise, hemodynamic parameters, exercise tolerance (according to the 6-minute walk test and Borg Scales), severity of dyspnea (BDI, TDI), quality of life (EQ-5D), anxiety level (HADS), and RRS score.

CONCLUSION

The study allows us to draw the following conclusions:

1. For patients with the consequences of COVID-19, in the presence of 3 points according to the Rehabilitation Routing Scale, rehabilitation in a day hospital contributes to the improvement of clinical symptoms, including a decrease in the frequency of complaints of fatigue – by 1.7 times, dyspnea – by 1.9 times, cough – by 2.5 times, dizziness – by 1.6 times, and anxiety – by 2.3 times.

2. Carrying out the third stage rehabilitation for patients with the consequences of COVID-19 in a day hospital improves functional parameters, including a decrease in dyspnea according to the MRC Dyspnea Scale and BDI by 1.8 and 1.3 times, respectively, a decrease in pain according to the VAS by 3.2 times, and an improvement of exercise tolerance according to the modified Borg Scale by 1.8 times, a decrease in the severity of anxiety according to the HADS by 2.1 times, and an improvement in the quality of life by 1.4 times according to the EQ-5D.

3. Rehabilitation programs for patients with the consequences of COVID-19 in a day hospital increase oxygen saturation, improve systemic hemodynamics, which determines an increase in exercise tolerance according to the 6-minute walk test by the end of the follow-up by 1.2 times compared to baseline values.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

ходьбы, анализ результатов по шкалам Борга, BDI, TDI, опросникам EQ-5D, HADS и определение показателя по ШРМ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное исследование позволяет сделать следующие выводы:

1. Пациентам с последствиями COVID-19, при наличии показателей по шкале реабилитационной маршрутизации 3 балла, проведение реабилитации в условиях дневного стационара многопрофильного лечебного учреждения способствует коррекции клинической симптоматики, в том числе снижению частоты жалоб на общую слабость – в 1.7 раза, одышку – в 1.9 раза, кашля – в 2.5 раза, головокружения – в 1.6 раза, тревожности – в 2.3 раза.

2. Проведение пациентам с последствиями COVID-19 третьего этапа реабилитации в условиях дневного стационара многопрофильного лечебного учреждения позволяет улучшить

функциональные показатели, включая уменьшение одышки по данным шкал MRC и BDI в 1.8 и 1.3 раза соответственно, уменьшение болевых ощущений по ВАШ в 3.2 раза, улучшение переносимости физической нагрузки по модифицированной шкале Борга в 1.8 раза, снижение выраженности тревоги по опроснику HADS в 2.1 раза и улучшение качества жизни в 1.4 раза по опроснику EQ-5.

3. Реабилитационные мероприятия пациентам с последствиями COVID-19 в условиях дневного стационара многопрофильной больницы увеличивают сатурацию кислорода, корректируют параметры системной гемодинамики, что определяет повышение толерантности к физической нагрузке по тесту шестиминутной ходьбы к завершению периода наблюдения в 1.2 раза от исходных значений.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Медицинская реабилитация при новой коронавирусной инфекции (COVID-19). Версия 2 (31.07.2020). Временные методические рекомендации. 2020. URL: https://edu.rosminzdrav.ru/fileadmin/user_upload/specialists/COVID-19/dop-materials/VMR_medreabilitacija_COVID_versija2.pdf (дата обращения: 06.12.2022).
2. Brann D.H., Tsukahara T., Weinreb C. et al. Non-neuronal expression of SARS-CoV-2 entry genes in the olfactory system mechanisms underlying COVID-19-associated anosmia // *bioRxiv*. 2020;6(31):1-19. DOI: 10.1101/2020.03.25.009084.
3. Li Y.C., Bai W.Z., Hashikawa T. The neuroinvasive potential of SARS-CoV2 may play a role in the respiratory failure of COVID-19 patients // *Med. Virol.* 2020;92(6):552-555. DOI: 10.1002/jmv.25728.
4. Wu Y., Xu X., Chen Z. et al. Nervous system involvement after infection with COVID-19 and other coronaviruses // *Brain Behav. Immun.* 2020;87:18-22. DOI: 10.1016/j.bbi.2020.03.031.
5. Yang X., Yu Y., Xu J. et al. Clinical course and outcomes of critically ill patients with SARS-CoV-2 pneumonia in Wuhan, China: a single-centered, retrospective, observational study // *Lancet Respir. Med.* 2020;8(5):475-481. DOI: 10.1016/S2213-2600(20)30079-5.
6. Handbook of COVID-19. Prevention and Treatment / T. Liang, H. Cai, Y. Chen et al. 2020. URL: https://www.researchgate.net/publication/339998871_Handbook_of_COVID-19_Prevention_and_Treatment (дата обращения: 11.05.2020).
7. Vitacca M., Carone M., Cini E.M. et al. Joint statement on the role of respiratory rehabilitation in the COVID-19 crisis: the Italian position paper // *Respiration*. 2020;99(6):493-499. DOI: 10.1159/000508399.

REFERENCES

1. Medical rehabilitation for a novel coronavirus infection (COVID-19). Version 2 (31.07.2020). Interim guidelines. (2020). URL: https://edu.rosminzdrav.ru/fileadmin/user_upload/specialists/COVID-19/dop-materials/VMR_medreabilitacija_COVID_versija2.pdf (accessed 06.12.2022).
2. Brann D.H., Tsukahara T., Weinreb C. et al. Non-neuronal expression of SARS-CoV-2 entry genes in the olfactory system mechanisms underlying COVID-19-associated anosmia // *bioRxiv*. 2020;6(31):1-19. DOI: 10.1101/2020.03.25.009084.
3. Li Y.C., Bai W.Z., Hashikawa T. The neuroinvasive potential of SARS-CoV2 may play a role in the respiratory failure of COVID-19 patients. *Med. Virol.* 2020;92(6):552-555. DOI: 10.1002/jmv.25728.
4. Wu Y., Xu X., Chen Z. et al. Nervous system involvement after infection with COVID-19 and other coronaviruses. *Brain Behav. Immun.* 2020;87:18-22. DOI: 10.1016/j.bbi.2020.03.031.
5. Yang X., Yu Y., Xu J. et al. Clinical course and outcomes of critically ill patients with SARS-CoV-2 pneumonia in Wuhan, China: a single-centered, retrospective, observational study. *Lancet Respir. Med.* 2020;8(5):475-481. DOI: 10.1016/S2213-2600(20)30079-5.
6. Handbook of COVID-19. Prevention and Treatment / T. Liang, H. Cai, Y. Chen et al. 2020. URL: https://www.researchgate.net/publication/339998871_Handbook_of_COVID-19_Prevention_and_Treatment (accessed 06.12.2022).
7. Vitacca M., Carone M., Cini E.M. et al. Joint statement on the role of respiratory rehabilitation in the COVID-19 crisis: the Italian position paper. *Respiration*. 2020;99(6):493-499. DOI: 10.1159/000508399.
8. Brugliera L., Spina A., Castellazzi P. et al. Rehabilitation of COVID-19 patients. *J. Rehab. Med.* 2020;52(4):jrm00046. DOI: 10.2340/16501977-2678.

8. Brugliera L., Spina A., Castellazzi P. et al. Rehabilitation of COVID-19 patients // *J. Rehab. Med.* 2020;52(4):jrm00046. DOI: 10.2340/16501977-2678.
9. Huang L., Lin G., Tang L. et al. Special attention to nurses' protection during the COVID-19 epidemic // *Crit. Care.* 2020;24:120. DOI: 10.1186/s13054-020-2841-7.
10. МР 3.1.0170-20. 3.1. Профилактика инфекционных болезней. Эпидемиология и профилактика COVID-19. Методические рекомендации (утв. Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации 30.03.2020) (ред. от 30.04.2020). 2020. URL: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_350140/ (дата обращения: 06.12.2022).
11. Zhao H.M., Xie Y.X., Wang C. Recommendations for respiratory rehabilitation in adults with coronavirus disease 2019 // *Chin. Med. J.* 2020;133(13):1595-1602. DOI: 10.1097/CM9.0000000000000848.
12. Белкин А.А., Авдюнина И.А., Варако Н.А. и др. Реабилитация в интенсивной терапии. Клинические рекомендации // *Вестн. восстановительной медицины.* 2017;2(78):139-143.
13. Анестезиолого-реанимационное обеспечение пациентов с новой коронавирусной инфекцией COVID-19: метод. рекомендации, версия № 2 от 18.04.2020 / Федерация анестезиологов и реаниматологов. URL: http://mzdnr.ru/system/files/air_obespechenie_patsientov_s_covid_19_versia_18_04.pdf (дата обращения: 06.12.2022).
14. Stam H.J., Stucki G., Bickenbach J. Covid-19 and post intensive care syndrome: a call for action // *J. Rehabil. Med.* 2020;52(4):jrm00044. DOI: 10.2340/16501977-2677.
15. Ceravolo M.G., Arienti C., De Sire A. et al. Rehabilitation and Covid-19: the Cochrane Rehabilitation 2020 rapid living systematic review // *Eur. J. Phys. Rehabil. Med.* 2020;56(5):642-651. DOI: 10.23736/S1973-9087.20.06501-6.
16. Butland R.J., Pang J., Gross E.R. et al. Two-, six, and 12-minute walking tests in respiratory disease // *Br. Med. J. (Clin. Res. Ed.)* 1982;284:1607-1608. DOI: 10.1136/bmj.284.6329.1607.
17. Borg G.A. Psychophysical bases of perceived exertion // *Med. Sci. Sports Exerc.* 1982;14(5):377-381. DOI: 10.1249/00005768-198205000-00012.
18. Prinsie J.C., Fiest K.M., Coutts S.B. et al. Validating screening tools for depression in stroke and transient ischemic attack patients // *Int. J. Psychiatry Med.* 2016;51(3):262-277. DOI: 10.1177/0091217416652616.
19. EuroQol Group. EuroQol – a new facility for the measurement of health-related quality of life // *Health Policy.* 1990;16(3):199-208. DOI: 10.1016/0168-8510(90)90421-9.
9. Huang L., Lin G., Tang L. et al. Special attention to nurses' protection during the COVID-19 epidemic. *Crit. Care.* 2020;24:120. DOI: 10.1186/s13054-020-2841-7.
10. Guidelines 3.1.0170-20. 3.1. Prevention of infectious diseases. Epidemiology and prevention of COVID-19. Guidelines (approved by Chief Public Health Physician of the Russian Federation on 30.03.2020) (ed. from 30.04.2020). 2020. URL: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_350140/ (accessed 06.12.2022). (In Russ.)
11. Zhao H.M., Xie Y.X., Wang C. Recommendations for respiratory rehabilitation in adults with coronavirus disease 2019. *Chin. Med. J.* 2020;133(13):1595-1602. DOI: 10.1097/CM9.0000000000000848.
12. Belkin A.A., Avdyunina I.A., Varako N.A. et al. Rehabilitation in intensive care. Clinical guidelines. *Bulletin of Rehabilitation Medicine.* 2017;2(78):139-143. (In Russ.)
13. Anesthesiology and resuscitation for patients with a novel coronavirus infection COVID-19. Guidelines, version No. 2 dated 18.04.2020 / Federation of Anesthesiologists and Intensive Care Practitioners. URL: http://mzdnr.ru/system/files/air_obespechenie_patsientov_s_covid_19_versia_18_04.pdf (accessed 06.12.2022). (In Russ.)
14. Stam H.J., Stucki G., Bickenbach J. Covid-19 and post intensive care syndrome: a call for action. *J. Rehabil. Med.* 2020;52(4):jrm00044. DOI: 10.2340/16501977-2677.
15. Ceravolo M.G., Arienti C., De Sire A. et al. Rehabilitation and Covid-19: the Cochrane Rehabilitation 2020 rapid living systematic review. *Eur. J. Phys. Rehabil. Med.* 2020;56(5):642-651. DOI: 10.23736/S1973-9087.20.06501-6.
16. Butland R.J., Pang J., Gross E.R. et al. Two-, six, and 12-minute walking tests in respiratory disease. *Br. Med. J. (Clin. Res. Ed.)* 1982;284:1607-1608. DOI: 10.1136/bmj.284.6329.1607.
17. Borg G.A. Psychophysical bases of perceived exertion. *Med. Sci. Sports Exerc.* 1982;14(5):377-381. DOI: 10.1249/00005768-198205000-00012.
18. Prinsie J.C., Fiest K.M., Coutts S.B. et al. Validating screening tools for depression in stroke and transient ischemic attack patients. *Int. J. Psychiatry Med.* 2016;51(3):262-277. DOI: 10.1177/0091217416652616.
19. EuroQol Group. EuroQol – a new facility for the measurement of health-related quality of life. *Health Policy.* 1990;16(3):199-208. DOI: 10.1016/0168-8510(90)90421-9.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Дробышев Виктор Анатольевич – д-р мед. наук, профессор кафедры госпитальной терапии и медицинской реабилитации ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0002-7093-3071.

ABOUT THE AUTHORS

Viktor A. Drobyshev – Dr. Sci. (Med.), Professor, Department of Hospital Therapy and Medical Rehabilitation, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0002-7093-3071.

Lyubov A. Shpagina – Dr. Sci. (Med.), Professor, Head, Department of Hospital Therapy and Medical Rehabilitation, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0003-0871-7551.

Svetlana A. Karmanovskaya – Dr. Sci. (Med.), Associate Professor, Department of Hospital Therapy and

Шпагина Любовь Анатольевна – д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой госпитальной терапии и медицинской реабилитации ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0003-0871-7551.

Кармановская Светлана Александровна – д-р мед. наук, доцент кафедры госпитальной терапии и медицинской реабилитации ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0003-3446-8018.

Сухатерина Наталья Александровна – канд. мед. наук, врач-терапевт ГБУЗ НСО «Городская клиническая больница № 2», Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0002-1455-7075.

Заикина Екатерина Алексеевна – врач-реабилитолог, врач-физиотерапевт ГБУЗ НСО «Городская клиническая больница № 2», Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0002-9157-002X.

Medical Rehabilitation, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0003-3446-8018.

Natalya A. Sukhaterina – Cand. Sci. (Med.), General Practitioner, City Clinical Hospital No. 2, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0002-1455-7075.

Ekaterina A. Zaikina – Physical Medicine Physician, City Clinical Hospital No. 2, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0002-9157-002X.

Факторный анализ влияния микронутриентного статуса на физическое и когнитивное развитие младших школьников

М.А. Чебаргина, О.А. Сенькевич, Ю.Г. Ковальский

ФГБОУ ВО «Дальневосточный государственный медицинский университет» Минздрава России, Хабаровск, Россия

АННОТАЦИЯ

В в е д е н и е . Обеспечение адекватного микронутриентного статуса является одной из составляющих здоровья детского населения с формированием нормальных показателей физической конституции и интеллектуального развития.

Ц е л ь . Оценить влияние уровня обеспеченности элементами и витамином D детей 7–8 лет, проживающих в Хабаровском крае, на их физическое и когнитивное развитие.

М а т е р и а л ы и м е т о д ы . Проведено обсервационное, аналитическое, поперечное исследование с анализом распространенности отклонений микронутриентного статуса условно здоровых детей 7–8 лет, проживающих на территории Хабаровского края ($n = 60$). Физическое развитие детей оценивали путем расчета показателей Z-scores массы тела, роста и индекса массы тела (ИМТ). Анализ сформированности когнитивных способностей детей осуществлялся с использованием стандартных методик. Количественный анализ элементов (Mg, Zn, Ca, Se, Cu, Fe, Mn, Cr) в волосах и сыворотке крови детей проводился методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой. Обеспеченность организма детей йодом определялась по его содержанию в разовой порции утренней мочи арсенитно-цериевым методом. Определение 25-гидрокситамина D (25(OH)D) в сыворотке крови детей проводили методом твердофазного иммуноферментного анализа.

Р е з у л ь т а т ы . Выявлено снижение темпов роста при уменьшении содержания Ca, Cu, Se, Zn и увеличении концентрации Fe в организме ребенка, уменьшение показателей ИМТ при дефиците Ca, Cu, Zn, Cr и увеличение при недостаточной обеспеченности I и 25(OH)D. Отмечено снижение показателей когнитивного профиля у детей при дефиците Mg, Ca, I, Cu, витамина D и избыточном содержании Fe. При проведении факторного анализа методом множественной корреляции выявлено сочетанное влияние Ca, Zn и Fe в равной степени как на показатели роста, так и на параметры ИМТ ($p < 0.05$). Показано совокупное влияние концентрации Cu, Ca, I и витамина D в сыворотке крови младших школьников на формирование кратковременной памяти ($p < 0.01$). Выявлена взаимосвязь между уровнем развития словесно-логического мышления и концентрациями Mg и Ca ($p < 0.05$), а также Fe и Ca ($p < 0.05$), при этом сочетание элементов с 25(OH)D в сыворотке крови повышало достоверность взаимосвязей ($p < 0.01$).

З а к л ю ч е н и е . Проведенное исследование демонстрирует необходимость комплексного подхода к оценке обеспеченности организма детей элементами и витамином D в связи с наличием коморбидности дефицитных и избыточных состояний, сочетанным влиянием на физическое и когнитивное развитие с целью предотвращения развития алиментарно-зависимых заболеваний.

Ключевые слова: микронутриентный статус, младшие школьники, когнитивное развитие, физическое развитие.

Образец цитирования: Чебаргина М.А., Сенькевич О.А., Ковальский Ю.Г. Факторный анализ влияния микронутриентного статуса на физическое и когнитивное развитие младших школьников // Journal of Siberian Medical Sciences. 2023;7(2):29-41. DOI: 10.31549/2542-1174-2023-7-2-29-41

Поступила в редакцию 18.09.2022
Прошла рецензирование 12.10.2022
Принята к публикации 02.11.2022

Автор, ответственный за переписку
Сенькевич Ольга Александровна: ФГБОУ ВО «Дальневосточный государственный медицинский университет» Минздрава России. 680000, г. Хабаровск, ул. Муравьева-Амурского, 35.
E-mail: senkevicholga@ya.ru

Received 18.09.2022
Revised 12.10.2022
Accepted 02.11.2022

Corresponding author
Olga A. Senkevich: Far-Eastern State Medical University, 35, Muraviev-Amursky str., Khabarovsk, 680000, Russia.
E-mail: senkevicholga@ya.ru

Factor analysis of the impact of micronutrient status on the physical and cognitive development of younger schoolchildren

M.A. Chebargina, O.A. Senkevich, Yu.G. Kovalsky

Far-Eastern State Medical University, Khabarovsk, Russia

ABSTRACT

Introduction. Maintenance of an adequate micronutrient status is one of the components of the children's health with the formation of normal indicators of the physical and intellectual development.

Aim. To evaluate the influence of the microelement and vitamin D adequacy of 7–8-year-old children living in the Khabarovsk Territory on their physical and cognitive development.

Materials and methods. An observational, analytical, cross-sectional study was performed with an analysis of the prevalence of micronutrient imbalances among apparently healthy children aged 7–8 years living in the Khabarovsk Territory ($n = 60$). The physical development of children was assessed by calculating the Z-scores of body weight, height and body mass index (BMI). The assessment of the children's cognitive abilities was carried out using conventional methods. Quantification of elements (Mg, Zn, Ca, Se, Cu, Fe, Mn, Cr) in the hair and blood serum of children was carried out by inductively coupled plasma mass spectrometry. The iodine adequacy in children was determined by its content in the first-morning urine using the cerium arsenite method. Determination of 25-hydroxyvitamin D (25(OH)D) in the blood serum of children was carried out by the enzyme-linked immunosorbent assay.

Results. A slowing down in growth rates was revealed with a decrease in the content of Ca, Cu, Se, Zn, and an increase in the concentration of Fe; a decrease in BMI with deficiency of Ca, Cu, Zn, Cr, and an increase with an I and 25(OH)D intake inadequacy. A decrease in cognitive profile indicators was noted in children with deficiency of Mg, Ca, I, Cu, vitamin D, and an excess of Fe. The factor analysis using the multiple correlation method revealed a combined effect of Ca, Zn, and Fe equally on both indicators of growth and BMI parameters ($p < 0.05$). The cumulative effect of concentrations of Cu, Ca, I, and vitamin D in the blood serum of younger schoolchildren on the formation of short-term memory was shown ($p < 0.01$). A relationship was found between the level of development of verbal-logical reasoning and the concentration of Mg and Ca ($p < 0.05$), as well as Fe and Ca ($p < 0.05$), while the combination of elements with 25(OH)D in the blood serum increased the significance of correlations ($p < 0.01$).

Conclusion. The study demonstrates the need for an integrated approach to evaluate the microelement and vitamin D adequacy in children, in connection with the presence of comorbidity of deficient and excess conditions, a combined effect on physical and cognitive development in order to prevent the development of nutritional diseases.

Keywords: micronutrient status, younger schoolchildren, cognitive development, physical development.

Citation example: Chebargina M.A., Senkevich O.A., Kovalsky Yu.G. Factorial analysis of the impact of micronutrient status on the physical and cognitive development of younger schoolchildren. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2023;7(2):29-41. DOI: 10.31549/2542-1174-2022-7-2-29-41

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время миллионы детей во всем мире не достигают оптимального роста и развития, и есть доказательства того, что распространенность задержки в когнитивном развитии повышается почти повсеместно [1, 2]. Здоровье и качество жизни детей, как наиболее уязвимой группы населения, ввиду относительно высоких физиологических потребностей, во многом зависят от питания с обеспечением адекватного витаминно-элементного статуса [3–6].

Одной из причин развития дефицитных состояний у детей является неадекватное поступление нутриентов в результате несбалансированного питания [6]. Пищевая избирательность, недостаток разнообразия в рационе, потребление огра-

INTRODUCTION

Currently, millions of children around the world do not achieve optimal growth and development, and there is evidence that the prevalence of cognitive delay is increasing almost universally [1, 2]. The health and quality of children life, as the most vulnerable group of the population, due to relatively high physiological needs, largely depend on nutrition providing vitamin and microelement adequacy [3–6].

One of the reasons for the development of deficiencies in children is inadequate intake of nutrients as a result of unbalanced diet [6]. Food selectivity, lack of dietary diversity, consumption of a limited number of foods, non-traditional dietary patterns often lead to the fact that children have very low lev-

ниченного количества продуктов, нетрадиционные типы питания часто приводят к тому, что дети имеют очень низкие уровни важных нутриентов в организме [7–9]. Кроме того, анализ более 23 000 упакованных пищевых продуктов в разных странах, приведенный в Глобальном отчете по питанию, показал, что 69 % из них имели относительно низкое качество питательных веществ [10].

Еще одной причиной дисбаланса нутритивного статуса является наличие биогеохимических провинций с обеднением или избыточным обогащением объектов окружающей среды элементами и их постоянно протекающей биогенной миграцией, что влияет на химический состав продуктов местного производства, используемых для продовольственного обеспечения жителей этих территорий, и впоследствии отражается на состоянии их здоровья [11].

Отсутствие мониторинга микронутриентного статуса у детей с последующей организацией превентивных мероприятий с целью предупреждения дефицитных и/или избыточных состояний может привести к широкомасштабным негативным последствиям для здоровья детей с формированием задержки физического и нервно-психического развития, ростом как инфекционных, так и неинфекционных алиментарно-зависимых заболеваний, повышающих показатели детской инвалидности и смертности [12, 13].

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценить влияние уровня обеспеченности элементами и витамином D детей 7–8 лет, проживающих в Хабаровском крае, на их физическое и когнитивное развитие.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведено обсервационное, аналитическое, поперечное исследование с анализом распространенности отклонений микронутриентного статуса условно здоровых детей 7–8 лет, проживающих на территории нижнего течения реки Амур Хабаровского края ($n = 60$), отобранных методом случайной выборки. Для определения влияния отклонений витаминно-элементного статуса на когнитивное и физическое развитие младших школьников выполнен анализ взаимосвязи показателей Z-scores, интеллектуальных способностей и содержания элементов и витамина D в организме детей.

Критерии включения: организованные дети в возрасте 7–8 лет, проживающие в Хабаровском крае с рождения, доношенные, практически здо-

елы essential nutrients in the body [7–9]. In addition, an analysis of more than 23 000 packaged food products in different countries, given in the Global Nutrition Report, showed that 69% of them had relatively poor nutrient quality [10].

Another reason for nutritional imbalance is the presence of biogeochemical provinces with depletion or excessive enrichment of environmental objects with elements and their constant biogenic migration, which affects the chemical composition of local products used to provide food to the inhabitants of these territories, and subsequently affects their health [11].

The lack of monitoring of micronutrient status in children with the subsequent organization of preventive measures to avoid deficiency and excess of microelements, can lead to large-scale negative consequences for the health of children with the formation of a delay in physical and neuropsychic development, an increase in both infectious and non-infectious nutritional diseases that increase the rates of childhood disability and mortality [12, 13].

AIM OF THE RESEARCH

To evaluate the influence of the level of microelements and vitamin D adequacy among 7–8-year-old children living in the Khabarovsk Territory on their physical and cognitive development.

MATERIALS AND METHODS

An observational, analytical, cross-sectional study was performed with an analysis of the prevalence of micronutrient imbalances among apparently healthy children aged 7–8 years living in the Lower Amur River in the Khabarovsk Territory ($n = 60$), selected by random sampling. To determine the impact of micronutrient imbalance on the cognitive and physical development of younger schoolchildren, an analysis was made of the correlation between Z-scores, intellectual abilities, and the content of microelements and vitamin D in the body of children.

Inclusion criteria: 7–8-year-old schoolchildren living in the Khabarovsk Territory from birth, full-term, apparently healthy (health group 1–2 confirmed by a pediatrician during the current health examination), whose parents or legal representatives gave a written voluntary informed consent to participate in the study.

Exclusion criteria: 7–8-year-old out-of-school children the presence of congenital malformations and/or chronic diseases, clinical and laboratory manifestations of infection at the time of the study.

The physical development of children was assessed by calculating the Z-scores of body weight,

ровые (1–2-я группа здоровья, установленная педиатром в ходе текущего профилактического осмотра), родители или законные представители которых дали письменное добровольное информированное согласие на участие в исследовании.

Критерии не включения: неорганизованные дети исследуемого возраста, наличие врожденных пороков развития и/или хронических заболеваний, клинико-лабораторных проявлений инфекции на момент проведения исследования.

Физическое развитие детей оценивали путем расчета показателей Z-scores массы тела, роста и индекса массы тела (ИМТ) с поправкой на возраст и пол ребенка с применением программного обеспечения ВОЗ AnthroPlus 1.0.4. Анализ сформированности когнитивных способностей детей осуществлялся с использованием стандартных методик: теста Лурия (запоминания 10 слов) с целью исследования кратковременной памяти, методики «Фигурные таблицы» Пьерона-Ружера для определения объема и концентрации произвольного внимания, тестов «Последовательные картинки», «Перцептивное моделирование» Л.А. Венгера и методики оценки формирования умозаключения для анализа уровня развития словесно-логического мышления, также проводилась диагностика мелкой моторики и умения работать по образцу [14].

Количественный анализ элементов (кальция (Ca), магния (Mg), цинка (Zn), меди (Cu), железа (Fe), марганца (Mn), хрома (Cr), селена (Se)) в волосах и сыворотке крови детей ($n = 60$) проводился методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой (ИСП-МС), который регламентирован методическими указаниями (МУ) 4.1.1483-03 для определения химических элементов в биологических субстратах. Был использован масс-спектрометр с индуктивно связанной плазмой ELAN DRC II (PerkinElmer, США), для калибровки которого применяли стандартные поли- и моноэлементные растворы (PerkinElmer). Подготовку проб к анализу проводили согласно требованиям Международного агентства по атомной энергии (1988), Евразийского экономического союза, Российской Федерации (2003).

Обеспеченность организма детей ($n = 60$) йодом (I) определялась по его содержанию в разовой порции утренней мочи арсенитно-цериевым методом, который регламентирован МУ 2.3.7.1064-01. В связи с тем, что известна роль йода для биосинтеза гормонов щитовидной железы, было проведено физикальное обследование щитовидной железы и исследован тирео-

height and body mass index (BMI) adjusted for age and sex of the child using WHO AnthroPlus 1.0.4 software. The analysis of the formation of children's cognitive abilities was carried out using standard methods: the A.R. Luria Memory Words Test (memorizing a series of 10 words) for assessment of short-term memory; the Method of Pieron-Ruzer to determine the volume and concentration of voluntary attention, the Successive Pictures Test, the Perceptual Modeling (L.A. Wenger) and methods for assessing the inference formation to analyze the level of development of verbal and logical reasoning. Diagnostics of fine motor skills and the ability to perform according to a model were also carried out [14].

Quantification of elements (calcium (Ca), magnesium (Mg), zinc (Zn), copper (Cu), iron (Fe), manganese (Mn), chromium (Cr), selenium (Se)) in the hair and blood serum of children ($n = 60$) was carried out by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS), which is regulated by Guidelines 4.1.1483-03 for the determination of chemical elements in biological substrates. An ELAN DRC II mass spectrometer (PerkinElmer, USA) was used, for calibration of which standard multi- and mono-element solutions (PerkinElmer) were used. Sample preparation for analysis was carried out in accordance with the requirements of the International Atomic Energy Agency (1988), the Eurasian Economic Union, the Russian Federation (2003).

The iodine (I) adequacy in children ($n = 60$) was determined by its content in the first-morning urine by cerium arsenite method, which is regulated by Guidelines 2.3.7.1064-01. Due to the fact that the role of iodine for biosynthesis of thyroid hormones is known, a physical examination of the thyroid gland was performed and the thyroid status was assessed: the concentration of free thyroxine fraction (T₄), thyroid-stimulating hormone (TSH), and anti-thyroperoxidase antibodies (anti-TPO) in the blood serum by enzyme immunoassay using a kit from JSC Vector-Best (Russia).

Quantification of 25-hydroxyvitamin D (25(OH) D) in the blood serum of children was performed by the enzyme-linked immunosorbent assay using an ELISA kit (DRG Instruments GmbH, Germany). Laboratory diagnostics was performed on the basis of the Immunological Laboratory of the Central Research Laboratory of the Far-Eastern State Medical University using a BIO-RAD Model 680 microplate reader (USA).

The study was approved by the Local Ethics Committee at the Far-Eastern State Medical University (protocol No. 10 dated June 10, 2020), conducted in accordance with the ethical principles for medical

идный статус: концентрации свободной фракции тироксина (Т₄), тиреотропного гормона (ТТГ) и антител к тиреопероксидазе (анти-ТПО) в сыворотке крови детей методом иммуноферментного анализа с помощью набора реагентов АО «Вектор-БЕСТ» (Россия).

Количественное определение 25-гидроксивитамина D (25(OH)D) в сыворотке крови детей проводили методом твердофазного иммуноферментного анализа, основанного на принципе конкурентного связывания, с использованием набора реагентов 25-OH-Vitamin D ELISA (DRG Instruments GmbH, Германия). Лабораторная диагностика выполнена на базе иммунологической лаборатории Центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО «Дальневосточный государственный медицинский университет» на фотометре BIO-RAD Model 680 (США).

Исследование одобрено локальным этическим комитетом при ФГБОУ ВО «Дальневосточный государственный медицинский университет» (протокол от 10.06.2020 № 10), проведено согласно этическим принципам, установленным для медицинских исследований с участием людей в качестве субъектов (Хельсинки, 1964; пересмотр – Шотландия, октябрь 2000).

Полученные результаты были подвергнуты статистической обработке. Вычисляли: медиану (Me), 25-й и 75-й процентиля; результаты приводятся в форме «относительная величина $\pm$ $\pm$ ошибка». Для оценки взаимосвязи показателей физического и когнитивного развития с исследуемыми факторами, представленными в виде отклонений витаминно-элементного статуса, а также с целью установления совокупного влияния факторов на результативные переменные использовали корреляционный анализ Спирмена и метод множественной корреляции. Статистическая значимость оценивалась при помощи *t*-критерия Стьюдента ($p < 0.05$). Статистический анализ результатов исследования проводили с использованием программ Microsoft Office Excel 2019 для Windows XP, STATISTICA, версия 12.0 (StatSoft Inc., США).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведенного исследования было установлено, что витаминно-элементный статус обследованных младших школьников, проживающих на территории Хабаровского края, характеризовался дефицитом Mg, Zn, Ca, Se, Cu, I и витамина D, а также избытком Fe, Mn и Cr. При анализе обеспеченности микронутриентами

research involving human subjects (Helsinki, 1964; revised: Scotland, October 2000).

The results obtained were statistically processed. Median (Me), 25th and 75th percentiles were calculated; the results are given as “relative value $\pm$ error.” The Spearman’s correlation analysis and multiple correlation method were used to assess the correlation between indicators of physical and cognitive development with the studied factors, presented as micronutrient imbalances, and also to reveal the cumulative effect of factors on the resulting variables. Statistical significance was assessed using the Student’s *t*-test ($p < 0.05$). Statistical analysis of the study results was performed using Microsoft Office Excel 2019 for Windows XP, STATISTICA v. 12.0 (StatSoft Inc., USA).

RESULTS AND DISCUSSION

As a result of the study, it was found that micronutrient status of the younger schoolchildren living in the Khabarovsk Territory was characterized by the deficiency of Mg, Zn, Ca, Se, Cu, I and vitamin D, as well as the excess of Fe, Mn and Cr. When analyzing the micronutrient adequacy, it was revealed that all participants of the study were in a state of hidden hunger and had at least two deficiencies. A high prevalence of element multi-deficiency was revealed: more than 2/3 of schoolchildren suffered from deficiency of four or more micronutrients. At the same time, 80.0 $\pm$ 5.2% of children had an excess of one or more elements in the body (Table 1).

During the study, the elements were identified, the adequacy of which was observed in 100% of children aged 7–8 years living in the Khabarovsk Territory, and the lowest adequacy in comparison with other micronutrients was characteristic of Se, while an excessive level was determined for Fe (see Table 1). At the same time, the median of Se in the hair of children was 0.09 mg/kg, and was 7 times lower than the reference value, 0.65 mg/kg [15], while the median of Fe concentration in the blood serum was 1403.9 μ g/dl and exceeded 11 times the upper limit of the reference range (120 μ g/dl) [16] (Table 2).

The median values of Ca, Cu, I and vitamin D were also below the reference values: serum Ca concentration was below 8800 μ g/dl [16]; Cu content in children’s hair, ioduria levels and vitamin D values were less than 10 mg/kg [17], 100 μ g/l [18], and 30 ng/ml [19], respectively (see Table 2). The upper limits of the reference range of Mn and Cr in the hair of children were 0.93 and 0.70 mg/kg, respectively [15]; i.e. in our study, the excess of the established reference values by 3 and 1.7 times, respectively, was found (see Table 2).

было определено, что все участники исследования находились в состоянии «скрытого голода» и имели как минимум два дефицитных состояния. Выявлена высокая распространенность полидефицита элементов: более 2/3 младших школьников страдали недостаточной обеспеченностью четырьмя и более микронутриентами. В то же время у 80.0 ± 5.2 % детей выявлено избыточное содержание одного или нескольких элементов в организме (табл. 1).

В ходе исследования выявлены элементы, обеспеченность которыми наблюдалась у 100 % детей 7–8-летнего возраста, проживающих на территории Хабаровского края, причем наиболее низкая обеспеченность по сравнению с остальными микронутриентами была характерна для Se, а избыточное содержание наблюдалось при определении концентрации Fe (см. табл. 1). При этом медиана Se в волосах детей составляла 0.09 мг/кг и была в 7 раз ниже референсного значения – 0.65 мг/кг [15], в то время как медиана концентрации Fe в сыворотке крови была равна 1403.9 мкг/дл и превышала в 11 раз верхнюю гра-

An analysis of the deviation degree of the median values for the content of micronutrients in the bodies of children [15–19] showed the decreased concentration levels of Ca, Cu, Se, I and vitamin D, that is below the lower reference limit by –10.9%, –43.5%, –86.2%, –28.0%, –46.1%, respectively, as well as an exceeding of the upper reference limits for Fe, Mn, and Cr by 1069.9%, 201.1%, and 72.9%, respectively (Fig. 1).

Severe deficiency of Se in the population is probably associated with a low content of the trace element in the soil, in plant and animal food of the region, as a result of the influence of the biogeochemical province [20], which is also characterized by deficit and imbalance of I, F, Ca, Mg, Cu in objects of the environment [21]. In turn, an excess of Fe in children is due to its high content in the waters of the Amur River which has been determined over the long period since 2006 [22]. In addition, an increase in the content of Mn in the water resources of the region over the past decade has been noted [22].

Vitamin D deficiency was revealed in 56.7 ± 6.4 % of younger schoolchildren (see Table 1), of which

Таблица 1. Распространенность дефицитных и избыточных состояний витаминно-элементного статуса у младших школьников Хабаровского края

Table 1. The prevalence of deficiency and excess of micronutrients among younger schoolchildren of the Khabarovsk Territory

Состояние State	Элемент/Количество микронутриентов Element/Number of micronutrients	Частота (%) Rate (%)
Дефицит элементов и витамина D Element and vitamin D deficiency	Mg	23.3 ± 5.5
	Ca	75.0 ± 5.6
	Cu	81.7 ± 5.0
	Zn	26.7 ± 5.7
	Se	100.0
	I	83.3 ± 4.8
	Витамин D / Vitamin D	56.7 ± 6.4
Избыток элементов Excess of elements	Fe	100.0
	Mn	81.7 ± 5.0
	Cr	88.3 ± 4.2
Дефицитные состояния Deficiency	1	0.0
	2	3.3 ± 2.3
	3	18.3 ± 5.0
	4	33.3 ± 6.1
	5	36.7 ± 6.2
	6	8.3 ± 3.6
Избыточные состояния Excess	0	20.0 ± 5.2
	1	35.0 ± 6.1
	2	28.3 ± 5.8
	3	16.7 ± 4.8

Таблица 2. Содержание изучаемых элементов и витамина D в организме детей 7–8 лет, Ме (25 %; 75 %)
Table 2. The content of the studied elements and vitamin D in children aged 7–8 years, Me (25%; 75%)

Элемент / Element	Волосы (мг/кг) / Hair (mg/kg)	Сыворотка крови (мкг/дл) / Blood serum (µg/dl)
Mg	40.4 (16.7; 76.1)	2220.7 (2005.0; 2516.3)
Ca	242.7 (147.7; 517.0)	7842.6 (6132.5; 8921.9)
Cu	5.65 (3.52; 8.84)	242.3 (158.8; 294.5)
Zn	96.8 (68.4; 162.7)	202.1 (127.2; 256.2)
Se	0.09 (0.03; 0.14)	5.85 (4.55; 6.96)
Fe	50.6 (32.3; 72.7)	1403.9 (683.2; 2282.6)
Mn	2.80 (1.39; 7.47)	41.5 (15.3; 84.1)
Cr	1.21 (1.02; 1.49)	17.6 (14.8; 39.4)
I*	–	72.0 (54.5; 91.5)
Витамин D / Vitamin D**	–	16.7 (13.5; 29.5)

* Содержание йода (I) определялось в разовой порции утренней мочи (мкг/л).

The content of iodine (I) was measured in the first-morning urine (µg/l).

** Единицы измерения витамина D в сыворотке крови – нг/мл.
 Units of measurement of vitamin D in blood serum are ng/ml.

ницу нормального диапазона (120 мкг/дл) [16] (табл. 2).

Также ниже установленных референсных показателей находились медианные значения Ca, Cu, I и витамина D: концентрация Ca в сыворотке крови была ниже 8800 мкг/дл [16], содержание Cu в волосах детей, показатели йодурии и витамина D – менее 10 мг/кг [17], 100 мкг/л [18] и 30 нг/мл [19] соответственно (см. табл. 2). Верхние границы референсного диапазона Mn и Cr в волосах детей составляли 0.93 и 0.70 мг/кг соответственно [15], в нашем исследовании выявлено превышение установленных показателей в 3 и 1.7 раза соответственно (см. табл. 2).

Анализ степени отклонений медианных значений содержания микронутриентов в организме детей от референсных значений [15–19] показал отрицательное отклонение концентраций Ca, Cu, Se, I и витамина D от нижней границы нормального диапазона на –10.9 %, –43.5 %, –86.2 %, –28.0 %, –46.1 % соответственно, а также превышение верхней границы референсного интервала для Fe, Mn и Cr на 1069.9 %, 201.1 % и 72.9 % соответственно (рис. 1).

Выраженный популяционный дефицит Se, вероятно, связан с низким содержанием микроэлемента в почве, в растительных и животных продуктах питания региона, как результат влияния биогеохимической провинции [20], которая также характеризуется недостаточным содержанием и дисбалансом I, F, Ca, Mg, Cu в объектах окружающей среды [21]. В свою очередь, избыток Fe в организме детей обусловлен его высоким содержанием в водах реки Амур, определяемым

$11.7 \pm 4.1\%$ had severe deficiency; vitamin D deficiency was in $20.0 \pm 5.2\%$ of cases. A low vitamin D status is associated with low insolation in setting of relatively high latitudes (>35 degrees north latitude, especially in winter) [23], which leads to a decrease in cutaneous synthesis of endogenous vitamin D₃, and the inability to compensate for the need for vitamin D with diet [19].

As a result of the study, physical development disorders were revealed in the form of short stature, underweight and overweight or obesity, and a cognitive profile below the average reference value was noted in $46.7 \pm 6.4\%$ of children.

To determine the impact of micronutrient status on the anthropometric parameters of children, a correlation analysis was carried out which showed the correlation between the content of Ca, Zn, Se, Cu, I, Cr in younger schoolchildren and the values of height and BMI ($p < 0.05$).

When assessing the associations between the concentration of Ca in the blood serum of children and the level of physical development, according to the data of the correlation analysis, the positive correlations were obtained indicating a decrease in height and BMI with Ca deficiency ($r = 0.316$, $r = 0.302$, respectively, $p < 0.05$). Thus, we have confirmed that Ca deficiency increases the risk of short stature and malnutrition in children.

When performing a correlation analysis to determine the role of I in the physical development of younger schoolchildren, a negative correlation was revealed between the iodine concentration and body weight indices and BMI ($r = -0.426$, $r = -0.520$, respectively, $p < 0.01$). Consequently, iodine defi-

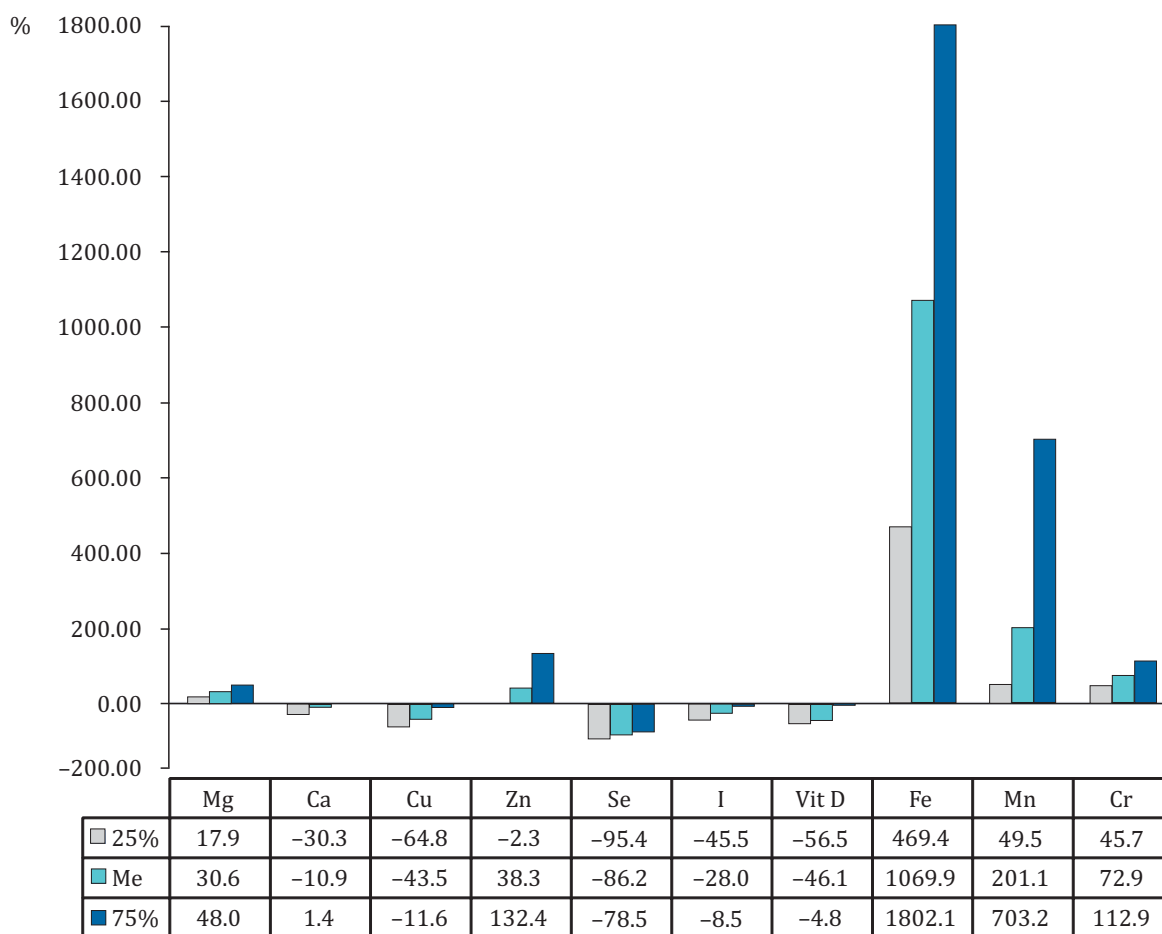


Рис. 1. Процентное отклонение содержания микронутриентов от референсного диапазона (нормальный диапазон референсных значений был принят за 100 %; расчет процентного отклонения дефицитов микронутриентов проводился от нижней границы референсного диапазона, избыточных состояний микронутриентов – от верхней)

Fig. 1. Relative deviation of micronutrient content from the reference range (the normal range of reference values was taken as 100%; the calculation of the relative deviation of micronutrient deficiencies was carried out from the lower reference limit, and micronutrient excess – from the upper one)

в течение многолетнего периода, начиная с 2006 г. [22]. Кроме того, отмечено нарастание содержания Mn в водных ресурсах края за последнее десятилетие [22].

Дефицит витамина D был выявлен у 56.7 ± 6.4 % младших школьников (см. табл. 1), из которых 11.7 ± 4.1 % имели дефицит тяжелой степени, недостаточность витамина D наблюдалась в 20.0 ± 5.2 % случаев. Низкий статус витамина D связан с недостаточной инсоляцией при проживании в относительно высоких широтах ($>35^\circ$ северной широты, особенно зимой) [23], приводящей к снижению кожного синтеза эндогенного витамина D₃, и невозможностью компенсировать потребность в витамине D алиментарным путем [19].

В результате исследования выявлены нарушения физического развития в виде низкорослости, недостаточной и избыточной массы тела или

ciency can lead to overweight and obesity in children, which is probably associated with the participation of I in the biosynthesis of thyroid hormones and, as a result, ensuring metabolic processes in the body [18].

The high prevalence of iodine deficiency is associated with the risk of endemic goiter, which served as the basis for assessment of thyroid status in younger schoolchildren and physical examination of the thyroid gland. Laboratory tests showed an elevated TSH level in 16.7 ± 4.8 % of children (with normal values of free thyroxine fraction and size of the thyroid gland on palpation), which indicates the presence of subclinical hypothyroidism. Further analysis confirmed the already available data on an increase in body weight with an elevated TSH concentration ($r = 0.406$, $p < 0.01$) and decreased free thyroxine fraction ($r = -0.441$, $p < 0.01$) in the blood serum.

During the study, a number of correlations were determined between the content of micronutrients

ожирения, а также установлен когнитивный профиль ниже среднего развития у 46.7 ± 6.4 % детей.

Для определения влияния микронутриентного статуса на антропометрические параметры детей был проведен факторный корреляционный анализ, который показал наличие взаимосвязи между содержанием Ca, Zn, Se, Cu, I, Cr в организме младших школьников и значениями роста и ИМТ ($p < 0.05$).

При установлении взаимосвязи концентрации Ca в сыворотке крови детей и уровня физического развития по данным корреляционных отношений были получены прямые связи, свидетельствующие о снижении показателей роста и ИМТ при дефиците Ca ($r = 0.316$, $r = 0.302$ соответственно, $p < 0.05$). Таким образом, нами получено подтверждение того, что недостаточная обеспеченность организма Ca увеличивает риск формирования низкорослости и недостаточности питания у детей.

При проведении корреляционного анализа с целью определения роли I в физическом развитии младших школьников была выявлена отрицательная взаимосвязь между концентрацией I и показателями массы тела и ИМТ ($r = -0.426$, $r = -0.520$ соответственно, $p < 0.01$). Следовательно, дефицит I может приводить к развитию избыточной массы тела и ожирения у детей, что, вероятно, связано с участием I в биосинтезе гормонов щитовидной железы и, как следствие, обеспечении метаболических процессов в организме [18].

Высокая распространенность йодной недостаточности связана с риском развития эндемического зоба, что послужило основанием для исследования тиреоидного статуса младших школьников и физикального обследования щитовидной железы. В результате лабораторного исследования был выявлен повышенный уровень ТТГ у 16.7 ± 4.8 % детей (при нормальных значениях свободной фракции тироксина и пальпаторных размерах щитовидной железы), что свидетельствует о наличии субклинического гипотиреоза. Дальнейший анализ подтвердил уже имеющиеся данные об увеличении массы тела при повышении концентрации ТТГ ($r = 0.406$, $p < 0.01$) и уменьшении свободной фракции тироксина ($r = -0.441$, $p < 0.01$) в сыворотке крови.

В ходе исследования был определен ряд взаимосвязей между содержанием микронутриентов и показателями ИМТ у детей: отмечено снижение массы тела при уменьшении концентраций Cu, Zn, Cr ($r = 0.355$, $r = 0.289$, $r = 0.325$ соответ-

and BMI in children: a decrease in body weight was noted with a decrease in the concentrations of Cu, Zn and Cr ($r = 0.355$, $r = 0.289$, $r = 0.325$, respectively, $p < 0.05$) and an increase in the content of vitamin D in the body ($r = -0.331$, $p < 0.05$). A positive correlation was found between the Cu concentration and the growth rates of younger schoolchildren ($r = 0.289$, $p < 0.05$), indicating a potential risk of short stature in case of Cu deficiency. Also, tendencies of growth retardation were revealed in children with Fe excess ($r = -0.209$, $p > 0.05$) and Se and Zn deficiency ($r = 0.267$, $r = 0.253$, respectively, $p > 0.05$).

Factor analysis using the multiple correlations revealed a combined effect of Ca, Zn, and Fe equally on both growth rates and BMI indices ($p < 0.05$). With regard to the cognitive development of children, the conventional analysis (carried out on the basis of a general linear model) showed a significant effect of the serum concentration of Cu ($p < 0.05$), Ca ($p < 0.05$) and I ($p < 0.05$) of younger schoolchildren, as well as their combined effect in conjunction with the concentration of vitamin D ($p < 0.01$) on the formation of short-term memory. The dependence between the level of Mg and Ca adequacy in children and the indicators of the formation of the conceptual and categorical framework was confirmed ($p < 0.05$), while the combination of trace elements with the concentration of vitamin D increased significance of this correlation ($p < 0.01$). In addition, a significant effect of the combination of Fe and Ca concentrations on the level of development of verbal and logical reasoning was found ($p < 0.01$).

When considering the correlation between the content of micronutrients in children's bodies and cognitive abilities, a decrease in the level of development of verbal and logical reasoning was noted with iodine deficiency and Fe excess ($r = 0.408$, $p < 0.01$; $r = -0.314$, $p < 0.05$). It was also found that the higher iodine and vitamin D adequacy, the better their mnemonic functioning ($r = 0.351$, $r = 0.308$, respectively, $p < 0.05$).

When comparing the serum vitamin D content of children and the child's ability to establish logical links and relations between concepts, a positive correlation was revealed ($r = 0.407$, $p < 0.01$), indicating a decrease in the child's ability to reasoning as a result of vitamin D deficiency. In addition, it was noted that a deficient vitamin D status results in reduced development of fine motor skills ($r = 0.295$, $p < 0.05$).

The ensuring of micronutrient adequacy is one of the components of the normal central nervous system development [6, 12, 13, 19]. Iodine deficiency is

ственно, $p < 0.05$) и увеличении содержания витамина D в организме ($r = -0.331$, $p < 0.05$). Установлена положительная корреляционная связь между концентрацией Cu и показателями роста младших школьников ($r = 0.289$, $p < 0.05$), указывающая на потенциальный риск формирования низкорослости в случае дефицита Cu. Также выявлены тенденции замедления темпов роста при избыточной обеспеченности организма детей Fe ($r = -0.209$, $p > 0.05$) и дефиците Se и Zn ($r = 0.267$, $r = 0.253$ соответственно, $p > 0.05$).

При проведении факторного анализа методом множественной корреляции выявлено сочетанное влияние Ca, Zn и Fe в равной степени как на показатели роста, так и на параметры ИМТ ($p < 0.05$). В отношении когнитивного развития детей традиционная схема анализа (осуществляемого на основе общей линейной модели) показала значимое влияние на формирование кратковременной памяти концентрации Cu ($p < 0.05$), Ca ($p < 0.05$), I ($p < 0.05$) в сыворотке крови младших школьников, а также их сочетанное влияние в совокупности с концентрацией витамина D ($p < 0.01$). Подтверждена зависимость между уровнем обеспеченности организма детей Mg и Ca и показателями развития понятийно-категориального аппарата ($p < 0.05$), при этом сочетание элементов с концентрацией витамина D повышало достоверность данной взаимосвязи ($p < 0.01$). Кроме того, было установлено значимое влияние совокупности концентраций Fe и Ca на уровень развития словесно-логического мышления ($p < 0.01$).

При рассмотрении корреляционных отношений между содержанием микронутриентов в организме детей и когнитивными способностями отмечено снижение уровня развития словесно-логического мышления при дефиците I и избыточном содержании Fe ($r = 0.408$, $p < 0.01$; $r = -0.314$, $p < 0.05$). Также установлено, что чем выше обеспеченность детей I и витамином D, тем лучше их мнестические показатели ($r = 0.351$, $r = 0.308$ соответственно, $p < 0.05$).

При сопоставлении содержания витамина D в сыворотке крови детей и способности ребенка устанавливать логические связи и отношения между понятиями выявлена прямая связь ($r = 0.407$, $p < 0.01$), свидетельствующая о снижении способности ребенка к умозаключениям в результате дефицита витамина D. Кроме того, отмечено, что низкий статус витамина D приводит к снижению уровня развития мелкой моторики ($r = 0.295$, $p < 0.05$).

the world's leading cause of preventable mental impairments [24]. A causal relationship of iodine deficiency with impaired brain development and learning disabilities has been proven, which aggravates the development of human resources and the country as a whole [25]. Vitamin D deficiency is also associated with decline in cognitive abilities, a high incidence of externalized behavior problems and attention deficit in children and adolescents [26–28]. Previous cohort studies of children and experimental studies *in vivo* indicate impaired cognitive and motor development as a result of Fe overload in the body [29].

CONCLUSION

In the present study, children aged 7–8 years living in the Lower Amur River of the Khabarovsk Territory revealed the micronutrient imbalances in the form of iron, manganese and chromium excess and a high frequency of multiple micronutrient deficiency represented by selenium, iodine, copper, magnesium, zinc, calcium and vitamin D deficiency.

Our study demonstrates the need for an integrated approach to assessing the provision of children with trace elements and vitamin D due to the presence of comorbidity of deficient and excess conditions, the combined effect on physical and cognitive development in order to prevent the development of nutritional diseases.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Обеспечение адекватного микронутриентного статуса является одной из составляющих нормального развития центральной нервной системы [6, 12, 13, 19]. Дефицит йода – ведущая мировая причина предотвратимого психического расстройства [24]. Доказана причинно-следственная связь йододефицита с нарушением развития головного мозга и неспособностью к обучению, что ухудшает развитие человеческих ресурсов и страны в целом [25]. Низкая обеспеченность витамином D также связана со сниженными когнитивными способностями, высокой частотой экстернализированных поведенческих проблем и дефицитом внимания у детей и подростков [26–28]. Ранее проведенные когортные исследования детей и экспериментальные исследования *in vivo* свидетельствуют о нарушении когнитивного и моторного развития в результате перегрузки организма Fe [29].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящем исследовании у детей 7–8 лет, проживающих на территории нижнего течения реки Амур Хабаровского края, выявлены отклонения микронутриентного статуса в виде избыточного содержания железа, марганца и хрома и высокой частоты множественной микронутриентной недостаточности, представленной дефицитом селена, йода, меди, магния, цинка, кальция и витамина D.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Clark H., Coll-Seck A.M., Banerjee A. et al. A future for the world's children? A WHO–UNICEF–Lancet Commission // *Lancet*. 2020;395(10224):605–658. DOI: 10.1016/S0140-6736(19)32540-1.
2. Levels and Trends in Child Malnutrition: UNICEF/WHO/The World Bank Group Joint Child Malnutrition Estimates: key findings of the 2021 edition. 32 p.
3. Black R.E., Victora C.G., Walker S.P. et al. Maternal and child undernutrition and overweight in low-income and middle-income countries // *Lancet*. 2013;382(9890):427–451. DOI: 10.1016/S0140-6736(13)60937-X.
4. Jirout J., LoCasale-Crouch J., Turnbull K. et al. How lifestyle factors affect cognitive and executive function and the ability to learn in children // *Nutrients*. 2019;11(8):1953. DOI: 10.3390/nu11081953.
5. Eaton J.C., Rothpletz-Puglia P., Dreker M.R. et al. Effectiveness of provision of animal-source foods for supporting optimal growth and development in children 6 to 59 months of age // *Cochrane Database Syst. Rev.* 2019;2(2):CD012818. DOI: 10.1002/14651858.CD012818.pub2.
6. Национальная программа по оптимизации обеспеченности витаминами и минеральными веществами детей России (и использованию витаминных и витаминно-минеральных комплексов и обогащенных продуктов в педиатрической практике). М.: ПедиатрЪ, 2017. 152 с.
7. Ясаков Д.С., Макарова С.Г., Фисенко А.П. и др. Вегетарианство и здоровье детей // *Педиатрия. Журн. им. Г.Н. Сперанского*. 2022;101(1):161–170. DOI: 10.24110/0031-403X-2022-101-1-161-170.
8. Esteban-Figuerola P., Canals J., Fernández-Cao J.C., Arija Val V. Differences in food consumption and nutritional intake between children with autism spectrum disorders and typically developing children: A meta-analysis // *Autism*. 2019;23(5):1079–1095. DOI: 10.1177/1362361318794179.
9. Горелова Ж.Ю., Соловьева Ю.В., Летучая Т.А. Предпочтения обучающихся в школьном питании образовательных организаций г. Москвы // *Рос. вестн. перинатологии и педиатрии*. 2021;66(4):340.
10. 2018 Global Nutrition Report: Shining a light to spur action on nutrition. Bristol, UK: Development Initiatives, 2018. 165 p.
11. Тришевская А.В., Зубков В.А., Михеева Е.В., Байtimirowa Е.А. Природные биогеохимические провинции как фактор риска для здоровья населения

Проведенное нами исследование демонстрирует необходимость комплексного подхода к оценке обеспеченности организма детей элементами и витамином D в связи с наличием коморбидности дефицитных и избыточных состояний, сочетанным влиянием на физическое и когнитивное развитие с целью предотвращения развития алиментарно-зависимых заболеваний.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

REFERENCES

1. Clark H., Coll-Seck A.M., Banerjee A. et al. A future for the world's children? A WHO–UNICEF–Lancet Commission. *Lancet*. 2020;395(10224):605–658. DOI: 10.1016/S0140-6736(19)32540-1.
2. *Levels and Trends in Child Malnutrition: UNICEF/WHO/The World Bank Group Joint Child Malnutrition Estimates: key findings of the 2021 edition*. 32 p.
3. Black R.E., Victora C.G., Walker S.P. et al. Maternal and child undernutrition and overweight in low-income and middle-income countries. *Lancet*. 2013;382(9890):427–451. DOI: 10.1016/S0140-6736(13)60937-X.
4. Jirout J., LoCasale-Crouch J., Turnbull K. et al. How lifestyle factors affect cognitive and executive function and the ability to learn in children. *Nutrients*. 2019;11(8):1953. DOI: 10.3390/nu11081953.
5. Eaton J.C., Rothpletz-Puglia P., Dreker M.R. et al. Effectiveness of provision of animal-source foods for supporting optimal growth and development in children 6 to 59 months of age. *Cochrane Database Syst. Rev.* 2019;2(2):CD012818. DOI: 10.1002/14651858.CD012818.pub2.
6. *National Program to Optimize the Supply of Vitamins and Minerals to Children in Russia (and the Use of Vitamin and Vitamin-mineral Complexes and Fortified Products in Pediatric Practice)*. (2017). Moscow. 152 p. (In Russ).
7. Yasakov D.S., Makarova S.G., Fisenko A.P. et al. Vegetarianism and children's health. *Pediatrics*. 2022;101(1):161–170. DOI: 10.24110/0031-403X-2022-101-1-161-170. (In Russ.)
8. Esteban-Figuerola P., Canals J., Fernández-Cao J.C., Arija Val V. Differences in food consumption and nutritional intake between children with autism spectrum disorders and typically developing children: A meta-analysis. *Autism*. 2019;23(5):1079–1095. DOI: 10.1177/1362361318794179.
9. Gorelova Zh.Yu., Soloveva Yu.V., Letuchaya T.A. Preferences of students in school meals of educational organizations in Moscow. *Rossiyskiy Vestnik Perinatologii i Peditrii*. 2021;66(4):340. (In Russ.)
10. *2018 Global Nutrition Report: Shining a Light to Spur Action on Nutrition*. (2018). Bristol, UK: Development Initiatives. 165 p.
11. Trishevskaya A.V., Zubkov V.A., Mikheeva E.V., Baytimirowa E.A. (2019). Natural biogeochemical provinces as a risk factor for public health: assessment of primary morbidity. In *Earth Sciences and Civilization: Collec-*

- ния: оценка первичной заболеваемости // Науки о Земле и Цивилизация: коллективная монография. Т. XI. СПб.: Изд-во Рос. гос. пед. ун-та им. А.И. Герцена, 2019. С. 84–88.
12. Global Nutrition Report 2016: From Promise to Impact: Ending Malnutrition by 2030. Washington, DC, USA: International Food Policy Research Institute, 2016. 180 p.
 13. 2020 Global Nutrition Report: Action on equity to end malnutrition. Bristol, UK: Development Initiatives, 2020. 172 p.
 14. Семаго Н.Я., Семаго М.М. Теория и практика оценки психического развития ребенка. Дошкольный и младший школьный возраст. СПб.: Речь, 2005. 384 с.
 15. Скальный А.В. Референтные значения концентрации химических элементов в волосах, полученные методом ИСП-АЭС (АНО Центр биотической медицины) // Микроэлементы в медицине. 2003;4(1):55-56.
 16. Pagana K.D., Pagana T.J., Pagana T.N. Mosby's Diagnostic and Laboratory Test Reference. 14th ed. St. Louis, Mo: Elsevier, 2019. 1088 p.
 17. Trace elements in human nutrition and health. World Health Organization. Geneva, 1996. URL: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/37931> (дата обращения: 11.01.2023).
 18. Assessment of Iodine Deficiency Disorders and Monitoring Their Elimination: A Guide for Programme Managers. 3rd ed. Geneva, Switzerland: WHO, 2007. 97 p.
 19. Национальная программа: Недостаточность витамина D у детей и подростков Российской Федерации: современные подходы к коррекции. М.: ПедиатрЪ, 2021. 116 с.
 20. Сенькевич О.А., Ковальский Ю.Г., Голубкина Н.А. Мониторинг содержания селена в некоторых пищевых продуктах Хабаровска // Вопросы питания. 2018;87(6):89-94. DOI: 10.24411/0042-8833-2018-10070.
 21. Григорьева Е.А., Суховеева А.Б., Калманова В.Б. Эколого-климатические и медико-социальные факторы как предикторы качества жизни и репродуктивного здоровья населения среднего Приамурья: постановка проблемы // Региональные проблемы. 2018;21(3):71-81. DOI: 10.31433/1605-220X-2018-21-3-71-81.
 22. О состоянии и использовании водных ресурсов Российской Федерации в 2017 году: государственный доклад. М.: НИА-Природа, 2018. 298 с.
 23. Roth D.E., Abrams S.A., Aloia J. et al. Global prevalence and disease burden of vitamin D deficiency: a roadmap for action in low- and middle-income countries // Ann. N.Y. Acad. Sci. 2018;1430(1):44-79. DOI: 10.1111/nyas.13968.
 24. Iodine Global Network. Annual Report 2020. URL: https://www.ign.org/cm_data/IGN-Annual-Report-2020.pdf (дата обращения: 11.01.2023).
 25. Pandav C.S., Yadav K., Srivastava R. et al. Iodine deficiency disorders (IDD) control in India // Indian J. Med. Res. 2013;138(3):418-433.
 26. Elshorbagy H.H., Barseem N.F., Abdelghani W.E. et al. Impact of vitamin D supplementation on attention-deficit hyperactivity disorder in children. Ann. Pharmacother. 2018;52(7):623-631. DOI: 10.1177/1060028018759471.
 27. Bahrami A., Khayatzadeh S.S., Jaber N. et al. Common polymorphisms in genes related to vitamin D metabolism affect the response of cognitive ability Monograph. Vol. XI. St. Petersburg. P. 84–88. (In Russ.)
 12. Global Nutrition Report 2016: From Promise to Impact: Ending Malnutrition by 2030. (2016). Washington, DC, USA: International Food Policy Research Institute. 180 p.
 13. 2020 Global Nutrition Report: Action on Equity to End Malnutrition. (2020). Bristol, UK: Development Initiatives. 172 p.
 14. Semago N.Ya., Semago M.M. (2005). Theory and Practice of Evaluation the Mental Development of a Child. Preschool and Primary School Age. St. Petersburg: Rech. 384 p. (In Russ.)
 15. Skalny A.V. Reference values of chemical elements concentration in hair, obtained by means of ICP-AES (ANO Center for Biotic Medicine). Trace Elements in Medicine. 2003;4(1):55-56. (In Russ.)
 16. Pagana K.D., Pagana T.J., Pagana T.N. (2019). Mosby's Diagnostic and Laboratory Test Reference. 14th ed. St. Louis, Mo: Elsevier. 1088 p.
 17. Trace elements in human nutrition and health. World Health Organization. Geneva, 1996. URL: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/37931> (accessed 11.01.2023).
 18. Assessment of Iodine Deficiency Disorders and Monitoring Their Elimination: A Guide for Programme Managers. (2007). 3rd ed. Geneva, Switzerland: WHO. 97 p.
 19. National Program: Vitamin D Deficiency in Children and Adolescents of the Russian Federation: Modern Approaches to Correction. (2021). Moscow: Paediatrician. 116 p. (In Russ.)
 20. Senkevich O.A., Koval'sky Yu.G., Golubkina N.A. Monitoring of selenium content in some food of residents of the Khabarovsk. Problems of Nutrition. 2018;87(6):89-94. DOI: 10.24411/0042-8833-2018-10070. (In Russ.)
 21. Grigorieva E.A., Sukhoveeva A.B., Kalmanova V.B. Environmental, climatic and medical-social factors as predictors of life quality and reproductive health in the Middle Amur Region of the Russian Far East. Regional Problems. 2018;21(3):71-81. DOI: 10.31433/1605-220X-2018-21-3-71-81. (In Russ.)
 22. On the Condition and Use of Water Resources of the Russian Federation in 2017: State Report. (2018). Moscow. 298 p. (In Russ.)
 23. Roth D.E., Abrams S.A., Aloia J. et al. Global prevalence and disease burden of vitamin D deficiency: a roadmap for action in low- and middle-income countries. Ann. N.Y. Acad. Sci. 2018;1430(1):44-79. DOI: 10.1111/nyas.13968.
 24. Iodine Global Network. Annual Report 2020. URL: https://www.ign.org/cm_data/IGN-Annual-Report-2020.pdf (accessed 11.01.2023).
 25. Pandav C.S., Yadav K., Srivastava R. et al. Iodine deficiency disorders (IDD) control in India. Indian J. Med. Res. 2013;138(3):418-433.
 26. Elshorbagy H.H., Barseem N.F., Abdelghani W.E. et al. Impact of vitamin D supplementation on attention-deficit hyperactivity disorder in children. Ann. Pharmacother. 2018;52(7):623-631. DOI: 10.1177/1060028018759471.
 27. Bahrami A., Khayatzadeh S.S., Jaber N. et al. Common polymorphisms in genes related to vitamin D metabolism affect the response of cognitive ability

- Ann. Pharmacother. 2018;52(7):623-631. DOI: 10.1177/1060028018759471.
27. Bahrami A., Khayyatadeh S.S., Jaberi N. et al. Common polymorphisms in genes related to vitamin D metabolism affect the response of cognitive abilities to vitamin D supplementation // J. Mol. Neurosci. 2019;69(1):150-156. DOI: 10.1007/s12031-019-01344-6.
28. Grung B., Sandvik A.M., Hjelle K. et al. Linking vitamin D status, executive functioning and self-perceived mental health in adolescents through multivariate analysis: A randomized double-blind placebo control trial // Scand. J. Psychol. 2017;58(2):123-130. DOI: 10.1111/sjop.12353.
29. Lönnnerdal B. Excess iron intake as a factor in growth, infections, and development of infants and young children // Am. J. Clin. Nutr. 2017;106(6):1681S-1687S. DOI: 10.3945/ajcn.117.156042.
- ties to vitamin D supplementation. J. Mol. Neurosci. 2019;69(1):150-156. DOI: 10.1007/s12031-019-01344-6.
28. Grung B., Sandvik A.M., Hjelle K. et al. Linking vitamin D status, executive functioning and self-perceived mental health in adolescents through multivariate analysis: A randomized double-blind placebo control trial. Scand. J. Psychol. 2017;58(2):123-130. DOI: 10.1111/sjop.12353.
29. Lönnnerdal B. Excess iron intake as a factor in growth, infections, and development of infants and young children. Am. J. Clin. Nutr. 2017;106(6):1681S-1687S. DOI: 10.3945/ajcn.117.156042.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Чебаргина Мария Александровна – ассистент кафедры педиатрии, неонатологии и перинатологии с курсом неотложной медицины Института непрерывного профессионального образования и аккредитации ФГБОУ ВО «Дальневосточный государственный медицинский университет» Минздрава России, Хабаровск, Россия. ORCID: 0000-0001-8022-3279.

Сенькевич Ольга Александровна – д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой педиатрии, неонатологии и перинатологии с курсом неотложной медицины Института непрерывного профессионального образования и аккредитации ФГБОУ ВО «Дальневосточный государственный медицинский университет» Минздрава России, Хабаровск, Россия. ORCID: 0000-0003-4195-2350.

Ковальский Юрий Григорьевич – д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой биологической химии и клинической лабораторной диагностики ФГБОУ ВО «Дальневосточный государственный медицинский университет» Минздрава России, Хабаровск, Россия. ORCID: 0000-0003-1803-9168.

ABOUT THE AUTHORS

Maria A. Chebargina – Assistant, Department of Pediatrics, Neonatology and Perinatology with a course of Emergency Medicine, Institute of Ongoing Professional Education and Accreditation, Far-Eastern State Medical University, Khabarovsk, Russia. ORCID: 0000-0001-8022-3279.

Olga A. Senkevich – Dr. Sci. (Med.), Professor, Head, Department of Pediatrics, Neonatology and Perinatology with a course of Emergency Medicine, Institute of Ongoing Professional Education and Accreditation, Far-Eastern State Medical University, Khabarovsk, Russia. ORCID: 0000-0003-4195-2350.

Yuri G. Kovalsky – Dr. Sci. (Med.), Professor, Head, Department of Biological Chemistry and Clinical Laboratory Diagnostics, Far-Eastern State Medical University, Khabarovsk, Russia. ORCID: 0000-0003-1803-9168.

Клинико-морфологическое обоснование использования добутамина при ожоговом шоке

Е.И. Верещагин¹, И.Ю. Саматов^{1, 2}, Н.Г. Ощепкова¹, Д.Н. Востриков², В.И. Дудин²,
Д.П. Коновалов², Р.И. Селиверстов², С.В. Савченко¹

¹ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия

²ГБУЗ НСО «Государственная Новосибирская областная клиническая больница», Новосибирск, Россия

АННОТАЦИЯ

В в е д е н и е . Эффективным способом снизить объем инфузии (рестриктивная стратегия) при гиповолемическом, в частности при ожоговом, шоке являются инвазивный мониторинг центральной гемодинамики и выбор оптимальной схемы использования инотропных агентов с учетом полученных данных. Однако использование инотропных препаратов при гиповолемическом шоке по-прежнему вызывает дискуссию. Наиболее острым является вопрос выбора эффективных доз инотропных препаратов.

Ц е л ь . Обоснование необходимости назначения инотропных препаратов и оценка безопасности и эффективности использования добутамина при ожоговом шоке.

М а т е р и а л ы и м е т о д ы . В пилотное клиническое исследование, проводившееся в 2021–2022 гг., было включено 9 пациентов в возрасте 15–70 лет, госпитализированных в отделение реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ) ожоговой травмы ГБУЗ НСО «Государственная Новосибирская областная клиническая больница» с общей площадью ожогов > 40 % (II–III ст.), в большинстве случаев – термоингаляционная травма, находившихся в ОРИТ более 3 сут. Интенсивная терапия ожоговой травмы в острый период проводилась согласно принятым клиническим рекомендациям.

Образцы миокарда для морфологического и иммуногистохимического исследования были получены от 34 пациентов, умерших от ожогового шока (27 мужчин и 7 женщин, возраст – от 21 до 51 года) в период с 2015 по 2019 г. Забор образцов осуществляли *post mortem* при минимальных атеросклеротических изменениях венечных артерий (стенозирование не более 20–25 %). Контрольную группу для морфологического и иммуногистохимического исследования составили образцы, полученные от 25 лиц, умерших вследствие внезапной остановки кровообращения (19 мужчин, 6 женщин).

Р е з у л ь т а т ы . Проведенные исследования показали снижение сократительной способности миокарда у больных с ожоговым шоком. Морфологическое исследование выявило различной степени контрактурные повреждения отдельных кардиомиоцитов, а также очаги первичного глыбчатого распада мышечных волокон и миоцитолизиса. При иммуногистохимическом исследовании срезов миокарда отмечали снижение экспрессии актина в 2.4 раза ($p < 0.05$) и десмина в 2 раза ($p < 0.05$) в сравнении с группой контроля. Результаты клинического исследования показали, что добутамин, назначаемый со скоростью до 5.0 мкг/кг/мин, не вызывает аритмогенного эффекта и/или лактоацидоза.

З а к л ю ч е н и е . Полученные данные о структурных изменениях миокарда подтверждают необходимость использования препаратов инотропного действия при ожоговом шоке. Добутамина, назначаемый со скоростью до 5.0 мкг/кг/мин, позволяет обеспечить рестриктивную стратегию инфузионной терапии и ускоренное выведение из ожогового шока.

Ключевые слова: ожоговая травма, ожоговый шок, интенсивная терапия, инотропные препараты, добутамин, инфузионная терапия.

Образец цитирования: Верещагин Е.И., Саматов И.Ю., Ощепкова Н.Г., Востриков Д.Н., Дудин В.И., Коновалов Д.П., Селиверстов Р.И., Савченко С.В. Клинико-морфологическое обоснование использования добутамина при ожоговом шоке // Journal of Siberian Medical Sciences. 2023;7(2):42-53. DOI: 10.31549/2542-1174-2023-7-2-42-53

Поступила в редакцию 15.08.2022
Прошла рецензирование 22.08.2022
Принята к публикации 15.09.2022

Автор, ответственный за переписку
Верещагин Евгений Иванович: ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России. 630091, г. Новосибирск, Красный просп., 52.
E-mail: eivv1961@gmail.com

Received 15.08.2022
Revised 22.08.2022
Accepted 15.09.2022

Corresponding author
Evgeny I. Vereshchagin: Novosibirsk State Medical University, 52, Krasnyy prosp., Novosibirsk, 630091, Russia.
E-mail: eivv1961@gmail.com

Clinical and morphological justification of dobutamine use in burn shock

E.I. Vereshchagin¹, I.Yu. Samatov^{1, 2}, N.G. Oshchepkova¹, D.N. Vostrikov², V.I. Dudin², D.P. Konovalov², R.I. Seliverstov², S.V. Savchenko¹

¹Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia

²Novosibirsk State Regional Clinical Hospital, Novosibirsk, Russia

ABSTRACT

Introduction. An effective way to reduce the volume of infusion (restrictive strategy) in hypovolemic shock, in particular in burn shock, is invasive hemodynamic monitoring and choosing the appropriate regimen for the use of inotropic agents, considering the data obtained. However, the use of inotropic agents in hypovolemic shock is still controversial. The most cutting issue is the choice of effective doses of inotropic agents.

Aim. Justification of the need to use inotropic agents and assessment of the safety and effectiveness of dobutamine use in burn shock.

Materials and methods. The pilot clinical study conducted in 2021–2022 included 9 patients aged 15–70 years who were admitted to the intensive care unit (ICU) of the Burn Center of the Novosibirsk State Regional Clinical Hospital with a total body surface area burned > 40% (II–III degree), in most cases – thermal inhalation injury, who were in the ICU for over 3 days. Intensive care of burn injury in the acute phase was performed according to conventional clinical recommendations.

Myocardial samples for morphological and immunohistochemical studies were taken from 34 patients who died from burn shock (27 men and 7 women, aged from 21 to 51 years) from 2015 to 2019. The samples were taken *post mortem*, and with minimal atherosclerotic changes of the coronary arteries (lesions no more than 20–25%). The control group for morphological and immunohistochemical studies comprised samples which were taken from 25 individuals who died because of sudden circulatory arrest (19 men, 6 women).

Results. Studies have shown a decrease in myocardial contractility in patients with burn shock. Morphological examination revealed contraction lesions of individual cardiomyocytes of varying degree, as well as foci of primary clumping of myofibrils' cytoplasm and myocytolysis. The immunohistochemical study of myocardial sections showed a decrease in the actin expression by 2.4 times ($p < 0.05$) and desmin – by 2 times ($p < 0.05$) in comparison with the control group. The results of the clinical study showed that dobutamine at a rate of up to 5.0 µg/kg/min does not cause an arrhythmogenic effect and/or lactic acidosis.

Conclusion. The data obtained on structural changes of the myocardium confirm the need for the use of inotropic agent in burn shock. Dobutamine at a rate of up to 5.0 µg/kg/min allows for a restrictive strategy of fluid resuscitation and rapid recovery from burn shock.

Keywords: burn injury, burn shock, intensive care, inotropic agents, dobutamine, fluid resuscitation.

Citation example: Vereshchagin E.I., Samatov I.Yu., Oshchepkova N.G., Vostrikov D.N., Dudin V.I., Konovalov D.P., Seliverstov R.I., Savchenko S.V. Clinical and morphological justification of dobutamine use in burn shock. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2023;7(2):42–53. DOI: 10.31549/2542-1174-2022-7-2-42-53

ВВЕДЕНИЕ

Вопросы относительно объема, темпа и качественного состава регидратации при ожоговом шоке (ОШ) являются предметом дискуссии: многочисленные формулы не учитывают индивидуальные особенности пациента, преморбидный фон, комбинированность травмы, продолжительность шока. Многие исследователи отмечают, что реальный объем инфузионной терапии (ИТ) у пациентов с тяжелой ожоговой травмой превышает рассчитанный по классической формуле Parkland [1, 2]. Терапия ОШ требует больших объемов инфузии также вследствие исполь-

INTRODUCTION

Questions regarding the volume, rate and agents used for rehydration in burn shock (BSh) are a matter of debate: numerous formulas do not consider the individual characteristics of a patient, premorbidity, the combined nature of injury, and the duration of shock. Various researchers note that the actual volume of resuscitation fluid in patients with severe burn injury exceeds that calculated according to the classic Parkland formula [1, 2]. Burn care requires high volumes of resuscitation fluid, also because of the use of narcotic analgesic drugs and benzodiazepines [3].

зования наркотических анальгетиков и бензодиазепинов [3].

Вместе с тем делается акцент на негативных эффектах больших объемов жидкости: пролонгированный период зависимости от искусственной вентиляции легких, повышенные риски развития абдоминального компартмент-синдрома, острого респираторного дистресс-синдрома, пневмонии, полиорганной недостаточности и увеличение летальности [4, 5]. Одним из способов снизить объем ИТ является инвазивный мониторинг центральной гемодинамики и выбор оптимальной схемы использования инотропных агентов с учетом полученных данных [6]. В эксперименте показано, что совместное использование ИТ и добутамина обладает достоверным позитивным эффектом при ОШ по сравнению с простым восполнением гиповолемии. Однако использование инотропных препаратов при гиповолемическом или септическом шоке по-прежнему вызывает дискуссию.

Исследование E. Rivers et al. [7] показало, что использование добутамина одновременно с норадреналином значительно улучшало результаты терапии у больных с септическим шоком. Согласно полученным результатам, в группе с благоприятным исходом добутамин использовался в 15 раз чаще, чем в группе с негативными результатами лечения [7]. Однако попытки объяснить позитивные эффекты добутамина только инотропным действием не дали убедительных результатов, поэтому эти данные можно считать недооцененными. Более того, поддержание с помощью добутамина супранормального сердечного индекса (СИ) и фракции изгнания левого желудочка (ФИЛЖ) в пределах 35–50 % не сопровождалось повышением выживаемости при септическом шоке [8]. В другом исследовании использование добутамина при тяжелой сердечной недостаточности и низком СИ (1.7–2.5 л/мин/м²) также не снижало летальность при септическом шоке [9].

Хотя добутамин эффективно повышает СИ и спланхничный кровоток [10], потребление миокардом кислорода, риск тахикардии и ишемии миокарда также достоверно повышается [11]. Наиболее опасна фибрилляция предсердий, увеличивающая риск летального исхода при сепсисе [12]. На основе полученных данных были сделаны следующие выводы. Положительная динамика со стороны гемодинамических параметров contractильности (СИ, ФИЛЖ) не всегда свидетельствует о положительных сдвигах макроклинических

At the same time, emphasis is placed on the adverse effects of large fluid volumes: prolonged period of dependence on mechanical ventilation, increased risks of abdominal compartment syndrome, acute respiratory distress syndrome, pneumonia, multiple organ failure and increased mortality [4, 5]. One way to reduce the resuscitation fluid volume is the invasive hemodynamic monitoring and the choice of the optimal regimen for the use of inotropic agents, considering the data obtained [6]. The experiment showed that the combined use of infusion therapy and dobutamine has a significant positive effect in BSh compared with simple correction of hypovolemia. However, the use of inotropic agents in hypovolemic or septic shock is still controversial.

A study by Rivers et al. [7] showed that the use of dobutamine with norepinephrine improved the results of therapy in patients with septic shock. According to the results obtained, in the group with a favorable outcome, dobutamine was used 15 times more often than in the group with adverse outcomes [7]. However, attempts to explain the positive effects of dobutamine only by inotropic action have not yielded convincing results, so this data can be considered underestimated. Moreover, the maintenance of the supranormal cardiac index (CI) and left ventricular ejection fraction (LVEF) with dobutamine within the range of 35–50% was not accompanied by an increase in survival in septic shock [8]. In another study, the use of dobutamine in severe heart failure and low CI (1.7–2.5 l/min/m²) also did not reduce mortality in septic shock [9].

Although dobutamine effectively increases the CI and splanchnic tissue perfusion [10], myocardial oxygen consumption, the risk of tachyarrhythmia and myocardial ischemia also significantly increases [11]. The most dangerous is the atrial fibrillation which increases the risk of death in sepsis [12]. Based on the data obtained, the following conclusions were made. Positive changes in hemodynamic parameters of contractility (CI, LVEF) do not always indicate an improvement in clinical indicators on the macro-level, such as mortality, for example. On the contrary, there is an evidence of worsening of the disease prognosis, despite the improvement on the part of surrogate markers [13]. Over the past decade, dobutamine has become the most used inotropic agent and is recognized as a first-line drug for circulatory shock treatment by the absolute majority of respondents. The most complete study on the use of inotropic agents, and dobutamine in particular, was published in 2021 [14]. The study involved 839 physicians from 82 countries. Experts agreed on 11

показателей, таких, например, как летальность. Напротив, существуют доказательства ухудшения прогноза заболевания, несмотря на улучшение со стороны суррогатных маркеров [13]. Вместе с тем в течение последнего десятилетия добутамин стал наиболее используемым инотропным агентом и признан препаратом первой линии при циркуляторном шоке абсолютным большинством респондентов. Наиболее полное исследование по использованию инотропных препаратов, и в частности добутамина, опубликовано в 2021 г. [14]. В исследовании принимали участие 839 специалистов из 82 стран. Эксперты определили 11 строгих рекомендаций, которые базировались на согласии 80–100 % респондентов. Данное исследование подтвердило, что гиповолемический шок, как правило, не является показанием для использования инотропных агентов. Однако показания для использования добутамина значительно расширились и сегодня не ограничиваются снижением сердечного выброса при кардиогенном шоке. В частности, наиболее строгими рекомендациями являются: клинические признаки гипоперфузии тканей, сохраняющиеся, несмотря на адекватную, в том числе максимальную, вазопрессорную и волемическую коррекцию; низкая венозная сатурация гемоглобина и снижение артериовенозной разницы по O_2 ; сохраняющаяся артериальная гипотензия; брадикардия. В целом две трети респондентов подтвердили использование инотропных препаратов при персистирующих признаках тканевой гипоперфузии и гиперлактатемии, несмотря на использование адекватных объемов инфузионной терапии и вазопрессоров, при этом только 44 % исследователей учитывают низкую ФИЛЖ. Также менее половины респондентов ставят целью достижение нормального сердечного выброса. Вместе с тем в использовании добутамина по-прежнему остаются вопросы. Учитывая аритмогенный эффект добутамина, обычно проявляющийся при использовании рекомендованных терапевтических доз препарата (5–10 мкг/кг/мин), и развитие лактоацидоза, необходима оценка эффективности субаритмогенных доз добутамина, поскольку при скоростях инфузии менее 5.0 мкг/кг/мин частота сердечных сокращений возрастает незначительно. Добутамина, как известно, вызывает повышение сердечного выброса, но приводит к росту общего периферического сосудистого сопротивления. Констрикторное воздействие на артерии значительно уступает действию норадреналина и в различных дозах не превышает 7 % (при использовании малых доз), 25 % (средних) и 45 % (макси-

strong recommendations all of which were based on excellent or good (80–100%) agreement. This study confirmed that hypovolemic shock, as a rule, is not a argument for the use of inotropic agents. However, the indications for the use of dobutamine have significantly expanded and today are not limited to a decrease in cardiac output in cardiogenic shock. In particular, the most strongest recommendations are clinical signs of tissue hypoperfusion that persist despite an adequate, including maximum, correction of hypotension and volemic status; low venous hemoglobin saturation and a decrease in arteriovenous oxygen difference; persistent arterial hypotension; bradycardia. In general, two-thirds of the respondents confirmed the use of inotropic agents with persistent tissue hypoperfusion and hyperlactatemia, despite the use of adequate volumes of resuscitation fluid and vasopressors, while only 44% of researchers take account of low LVEF. Also, less than half of the respondents aim to achieve a normal cardiac output. However, there are still questions about the use of dobutamine. Considering the arrhythmogenic effect of dobutamine, usually manifested when using the standard doses of the drug (5–10 $\mu\text{g/kg/min}$) and the development of lactic acidosis, it is necessary to evaluate the effectiveness of dobutamine doses below the arrhythmia threshold, since at infusion rate less than 5.0 $\mu\text{g/kg/min}$, heart rate increases slightly. Dobutamine is known to cause an increase in cardiac output, but leads to an elevation of total peripheral vascular resistance. The vasopressor effect on the arteries is significantly inferior to the action of norepinephrine and at various doses does not exceed 7% (when using low doses), 25% (moderate doses) and 45% (maximum doses) of the effectiveness of norepinephrine. This once again confirms that dobutamine has a stimulating effect on vascular α -adrenergic receptors. However, the most significant effect is the effect on venous tone. Dobutamine in experimental *in vitro* models of isolated blood vessels also demonstrated a selective vasoconstrictive action on the veins (selective venotonic effect). In addition, the venous return under dobutamine increased by more than 3 times compared with norepinephrine (49 ± 10 ml vs 14 ± 6 ml, respectively) [15]. The venotonic effect of dobutamine in acute and chronic heart failure is undesirable and, as a rule, ignored. However, in case of burn or septic shock, the venous tone recovery can significantly reduce the need for fluid therapy, which corresponds to the modern concept of restrictive tactics of fluid resuscitation. Apparently, it is the venotonic action of dobutamine that explains the positive effect of this drug in septic shock [7]. Thus, the use of

мальных) от эффективности норадреналина. Это еще раз подтверждает, что добутамин оказывает стимулирующее влияние на сосудистые α -адренорецепторы. Однако наиболее значимым эффектом является действие на венозный тонус. Добутамина в экспериментах *in vitro* на изолированных сосудах также продемонстрировал селективное вазоконстрикторное действие именно на вены (веноселективное воздействие). Кроме того, венозный возврат при действии добутамина увеличивался более чем в 3 раза по сравнению с норадреналином (49 ± 10 мл vs 14 ± 6 мл соответственно) [15]. Венотонический эффект добутамина при острой и хронической сердечной недостаточности является нежелательным и, как правило, игнорируется. Однако при ожоговом или септическом шоке восстановление венозного тонуса позволяет значительно снизить потребность в инфузионной терапии, что соответствует современной концепции о рестриктивной тактике инфузионной терапии. По-видимому, именно венотоническим действием добутамина и объясняется позитивный эффект этого препарата при септическом шоке [7]. Таким образом, использование добутамина при ожоговом шоке получает дополнительное теоретическое обоснование.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Обоснование назначения инотропных препаратов, а также оценка безопасности и эффективности использования добутамина при ОШ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В пилотное клиническое исследование было включено 9 пациентов с тяжелой ожоговой травмой, госпитализированных в отделение реанимации и интенсивной терапии ожоговой травмы ГБУЗ НСО «Государственная Новосибирская областная клиническая больница» в период с 2021 по 2022 г.

Исследование одобрено локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России и соответствует Правилам клинической практики в РФ (приказ МЗ РФ от 19.06.2003 № 266).

Критерии включения: пациенты в возрасте от 15 до 70 лет с общей площадью ожогов $> 40\%$ (II–III ст.) $\pm$ наличие термоингаляционной травмы, которые находились в отделении реанимации и интенсивной терапии более 3 сут.

Интенсивная терапия ожоговой травмы в острый и подострый период осуществлялась

dobutamine in burn shock receives additional theoretical justification.

AIM OF THE RESEARCH

Justification of the use of inotropic agents, as well as an assessment of the safety and effectiveness of the use of dobutamine in BSh.

MATERIALS AND METHODS

The pilot clinical study included 9 patients with severe burn injury admitted to the Intensive Care Unit of the Burn Center of the Novosibirsk State Regional Clinical Hospital from 2021 to 2022.

The study was approved by the Local Ethics Committee of the Novosibirsk State Medical University and conforms with the Rules of Clinical Practice in the Russian Federation (Order of the Ministry of Health of the Russian Federation No. 266 dated 19.06.2003).

Inclusion criteria: patients aged 15 to 70 years with a total body surface area burned $> 40\%$ (II–III degree) $\pm$ the presence of thermal inhalation injury, who stayed in the Intensive Care Unit for more than 3 days.

Intensive care of burn injury in the acute and subacute phase was carried out according to conventional clinical recommendations [16]. PiCCO monitoring was used for additional evaluation of central hemodynamics, volemic status and fluid accumulation in the extravascular space of the lungs. All patients, taking into account the hemodynamic profile in burn shock, were administered dobutamine for correction of cardiac dysfunction following the emergency fluid replacement. In order to avoid arrhythmogenic effects and lactic acidosis increase, the infusion of dobutamine was started at a minimum rate of $1.5\text{--}2.5\text{ }\mu\text{g/kg/min}$, which gradually, for 30 minutes, increased to the arrhythmogenic threshold and did not exceed $5.0\text{ }\mu\text{g/kg/min}$. Fluid resuscitation was carried out with balanced crystalloid solutions with a hypooncotic 5% albumin solution (up to $600\text{--}800\text{ ml/day}$) from the second half of the first day after injury. The difference between the estimated volume of infusion according to the Parkland formula and the actual volume of infused fluid was taken into account:

$$\Delta V (\%) = (V_{\text{est}} - V_{\text{act}}) / V_{\text{act}} \times 100.$$

Morphological study. Myocardial samples were taken from 34 patients who died of the burn shock: 27 men and 7 women aged 21 to 51 years (2015–2019). Myocardial samples were taken with minimal (lesions no more 20–25%) atherosclerotic changes in the coronary arteries.

согласно принятым клиническим рекомендациям [16]. Для дополнительного контроля центральной гемодинамики, состояния волемического статуса и оценки накопления жидкости во внесосудистом пространстве легких использовался PiCCO-мониторинг. Всем пациентам, учитывая гемодинамический профиль при ожоговом шоке, с целью кардиотонической поддержки после проведения экстренной регидратации назначался добутамин. Во избежание аритмогенных эффектов и усиления лактоацидоза введение добутамина начинали с минимальной скорости 1.5–2.5 мкг/кг/мин, которая постепенно, в течение 30 мин, увеличивалась до «аритмогенного порога» и не превышала 5.0 мкг/кг/мин. Инфузионная терапия проводилась сбалансированными кристаллоидными растворами с включением в ее состав гипонатрического 5% раствора альбумина (до 600–800 мл/сут) со второй половины первых суток от момента травмы. Учитывалась разница между рассчитанным по формуле Parkland объемом инфузии и фактически инфузируемым объемом:

$$\Delta V (\%) = (V_{\text{расч}} - V_{\text{реал}}) / V_{\text{расч}} \times 100.$$

Морфологические исследования.

Образцы миокарда для морфологического исследования были получены от 34 пациентов, умерших от ожогового шока: 27 мужчин и 7 женщин в возрасте от 21 до 51 года (2015–2019 гг.). Забор образцов миокарда осуществляли при минимальных (стенозирование не более 20–25 %) атеросклеротических изменениях венечных артерий.

Световая и поляризационная микроскопия миокарда. Исследование микропрепаратов проводили на микроскопе Axio Scope.A1 (Zeiss, Германия), снабженного анализатором и поляризатором, с фотокамерой AxioCam MRc 5 (Zeiss, Германия) с использованием программного обеспечения Zen Blue (Zeiss, Германия).

Иммуногистохимическое исследование миокарда. Окрашивание срезов миокарда проводили в соответствии с рекомендациями фирмы-производителя антител и согласно стандартам, представленным в [17]. Определение объемной плотности миофибрилл при оценке экспрессии актина и десмина проводили методом подсчета числа попаданий точек (пересечений тестовых линий) тестовой решетки на профили исследуемых структур в гистологическом срезе. Каждый параметр просчитывали по 25 изображениям с увеличением 40×10.

Polarized light microscopy of the myocardium. The study of microslides was carried out on an Axio Scope.A1 microscope (Zeiss, Germany) equipped with an analyzer and polarizer, with an AxioCam MRc 5 camera (Zeiss, Germany) and Zen Blue software (Zeiss, Germany).

Immunohistochemical study of the myocardium. The staining of the myocardial sections was carried out under the recommendations of the antibody's manufacturer and according to [17]. The determination of volume density of myofibrils in assessing the expression of actin and desmin was performed by counting the number of points, that hit intersections of the test grid lines, on the profiles of the studied structures of the histological section. Each parameter was calculated from 25 images at a magnification of 40×10.

Characteristics of the morphological control group. The control group for pathomorphological study of the myocardium and biomolecular analysis of the heart muscle and blood plasma included samples which were taken from 25 individuals of both sexes (19 men and 6 women) who died of a sudden circulatory arrest, aged 21 to 45 years. Post-mortem changes in the coronary arteries were presented by a stage of lipidosis or liposclerosis without significant stenosis.

RESULTS

The need for morphological study. Most researchers refers BSh to the hypovolemic type of circulatory shock. Thus, myocardial lesion is mostly not considered in therapy, and a decrease in the cardiac index is associated with a decrease in cardiac preload. The morphological studies of the myocardium in burn shock are few and mainly experimental [18]. This shows the need to study changes in myocardial morphology in the acute phase of burn injury to clarify the indications for the use of inotropic agents.

The pathomorphological and immunohistochemical assessment of the myocardial changes in burn shock. When assessing the state of the myocardium, a combination of fragmentation of muscle fibers and their wavelike deformity was revealed. Polarized microscopy revealed various degrees of contraction-induced damage to individual cardiomyocytes, as well as foci of primary clumpy degeneration of myofibrils and myocytolysis.

Immunohistochemical study of myocardial sections showed a decrease in the expression of actin by 2.4 times ($p < 0.05$) and desmin by 2 times ($p < 0.05$) in comparison with the control group (Fig. 1). The data obtained indicate the presence of acute myocar-

Характеристика морфологической контрольной группы. В контрольную группу для патоморфологического исследования миокарда и молекулярно-биологического исследования мышцы сердца и плазмы крови вошли образцы, полученные от 25 лиц обоего пола (19 мужчин и 6 женщин), умерших вследствие внезапной остановки кровообращения, в возрасте от 21 до 45 лет. Изменения венечных артерий на аутопсии были представлены стадиями липойдоза или липосклероза без значимых стенозирующих изменений.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Необходимость морфологического исследования. ОШ большинством исследователей относится к гиповолемическому типу циркуляторного шока. Таким образом, поражение миокарда в основном в терапии не учитывается, а снижение сердечного индекса связывается со снижением преднагрузки. Существующие морфологические исследования миокарда при ожоговом шоке немногочисленны и проведены преимущественно в эксперименте [18]. Это указывает на необходимость исследования изменений морфологии миокарда в остром периоде ожоговой травмы для уточнения показаний к использованию инотропных препаратов.

Оценка патоморфологических и иммуногистохимических изменений миокарда при ожоговом шоке. При оценке состояния миокарда выявляли сочетание фрагментации мышечных волокон и их волнообразной деформации. При микроскопическом исследовании в поляризованном свете были выявлены различной степени контрактурные повреждения отдельных кардиомиоцитов, а также очаги первичного глыбчатого распада мышечных волокон и миоцитолиза.

При иммуногистохимическом исследовании срезов миокарда отмечали снижение экспрессии актина в 2.4 раза ($p < 0.05$) и десмина в 2 раза ($p < 0.05$) в сравнении с группой контроля (рис. 1). Полученные данные свидетельствуют о наличии острой ишемии миокарда, при которой происходит активация протеаз, разрушающих белки цитоскелета, обеспечивающих структурную и механическую целостность кардиомиоцита в процессе сокращения.

Клинические результаты. Эффективность противошоковой терапии оценивалась по динамике показателей гематокрита, скорости снижения лактата, рН и дефицита оснований (BE) артериальной крови, темпу мочеотделения. Учитыва-

л dial ischemia, in which proteases are activated, that destroy cytoskeletal proteins ensuring the structural and mechanical integrity of the cardiomyocyte during contraction.

Clinical results. The effectiveness of resuscitation was assessed by the dynamics of hematocrit, the rate of decrease in lactate, pH and base deficit in arterial blood, as well as the rate of urine secretion. The difference between the calculated volume of infusion according to the Parkland formula and the actual volume, expressed as a percentage, on the first day after injury was considered.

The use of dobutamine in the comprehensive intensive care strategy, which allows patients to be resuscitated from shock in an average of 48 hours, with the drug infusion at a rate of 2.5–5.0 $\mu\text{g/kg/min}$, was not accompanied by an arrhythmogenic effect and an increase in lactic acidosis. Normalization of the main parameters was considered as a resuscitation from shock: achievement of hemodilution, plasma lactate level ($<2.0 \text{ mmol/l}$), reference indicators of pH and BE, rate of urine secretion ($>1 \text{ ml/kg/h}$). The need for vasopressor support arose only in 30% of patients. Using dobutamine, among other things, made it possible to ensure, as far as possible, the restrictive strategy of fluid resuscitation in all patients included in the study and to reduce the volume of resuscitation fluid calculated according to the Parkland formula by an average of 20–25%, which amounted to 3.0–3.5 l/day.

Clinical case study. Patient N., 47 years old: Flame burn (I–III degree) of the head, neck, trunk, upper and lower extremities. The body surface area burned is 65% (deep burns – 55%). Thermal inhalation injury. Burn shock, III degree.

Vasopressor support from the end of the first day was by norepinephrine (up to 0.4 $\mu\text{g/kg/min}$), inotropic support – by dobutamine (2.5 $\mu\text{g/kg/min}$).

Fluid balance: intravenous infusion (V_{act}) on the 1st day was 11 200 ml. The estimated volume (V_{est}) according to the Parkland formula ($4 \times 75 \text{ kg} \times 50\%$) was 15 000 ml. Thus, the difference $V_{\text{est}} - V_{\text{act}}$ was 3.8 l. Intravenous infusion on the 2nd day was 8800 ml, on the 3rd – 5430 ml. Enterally: 1st day – 250 ml, 2nd day – 1200 ml, 3rd day – 2100 ml.

Clinical dynamics: Blood pressure on the 1st day was 110/65–130/75 mm Hg in the setting of vasopressor and inotropic support. By the end of the 1st day after injury, there was a critical decrease in contractility ($\text{CI} - 1.71 \text{ l/min/m}^2$) and an increase in the extravascular lung water index (ELWI) to 10 ml/kg. Normalization of these parameters was noted by the end of the 2nd day: $\text{CI} - 3.8 \text{ l/min/m}^2$, ELWI – 6 ml/kg. Diuresis on the 1st day was 1300 ml, on the

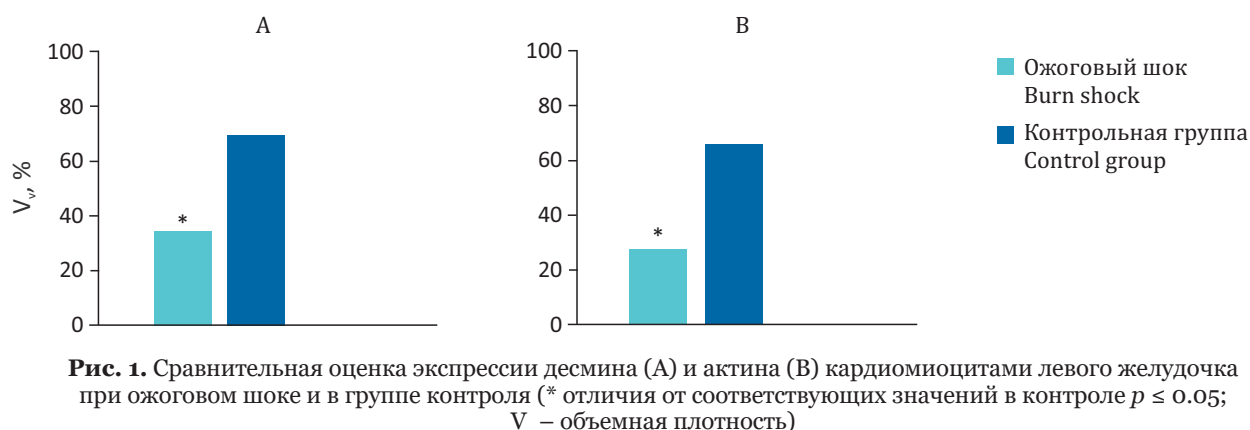


Рис. 1. Сравнительная оценка экспрессии десмина (А) и актина (В) кардиомиоцитами левого желудочка при ожоговом шоке и в группе контроля (* отличия от соответствующих значений в контроле $p \leq 0.05$; V_v – объемная плотность)

Fig. 1. Comparative evaluation of the expression of desmin (A) and actin (B) by cardiomyocytes of the left ventricle in burn shock and in the control group (* differences from the corresponding values of the control group $p \leq 0.05$; V_v – volume density)

лась разница между рассчитанным объемом инфузии по формуле Parkland и фактическим объемом, выраженная в процентах, в первые сутки после травмы.

Использование добутина в комплексной противошоковой терапии, позволяющей вывести пациентов из состояния шока в среднем за 48 ч, со скоростью 2.5–5.0 мкг/кг/мин не сопровождалось аритмогенным эффектом и нарастанием лактоацидоза. Выведением из шока считалась нормализация основных критериев: достижение гемодилюции, уровня лактата плазмы (<2.0 ммоль/л), pH и BE, темпа диуреза (>1 мл/кг/ч). Необходимость в назначении вазопрессорной поддержки возникла только у 30 % пациентов. Использование добутина в том числе позволило обеспечить, насколько это было возможно, рестриктивную стратегию инфузионной терапии у всех включенных в клиническое исследование пациентов и снизить рассчитанный по формуле Parkland объем регидратации в среднем на 20–25 %, что в абсолютных цифрах составило 3.0–3.5 л/сут.

Клинический пример. Пациент Н., 47 лет: Ожог пламенем (I–III ст.) головы, шеи, туловища, верхних и нижних конечностей. Площадь ожогов – 65 % (глубоких – 55 %). Термоингаляционная травма. Ожоговый шок 3-й ст.

Вазопрессорная поддержка с конца первых суток проводилась норадреналином (до 0.4 мкг/кг/мин), инотропная – добутином (2.5 мкг/кг/мин).

Гидробаланс: в/венная инфузия ($V_{\text{реал}}$) в 1-е сутки составила 11 200 мл. Расчетный объем ($V_{\text{расч}}$) по формуле Parkland ($4 \times 75 \text{ кг} \times 50 \%$) – 15 000 мл. Таким образом, разница $V_{\text{расч}} - V_{\text{реал}}$ составила 3.8 л. В/венная инфузия во 2-е сутки составила 8800 мл, в 3-е – 5430 мл. Энтерально:

2nd day – 2000 мл, on the 3rd – 2750 мл. Acid-base balance (ABB) of arterial blood at admission: pH – 7.25, oxygen partial pressure (PO_2) – 114 mm Hg, partial pressure of carbon dioxide (PCO_2) – 21.3 mm Hg, SBE – 16 mmol/l, lactate – 3.5 mmol/l. On day after: pH – 7.36, PO_2 – 85 mm Hg, PCO_2 – 42.1 mm Hg, SBE – 1.4 mmol/l, lactate – 2.1 mmol/l. Normalization of pH and BE was noted by the end of the first day, and 48 hours after normalization of arterial blood lactate concentration (1.2 mmol/l) occurred. Thus, already during the first day, it was possible to compensate for hemodynamic disorders, which was evidenced by normalization of the ABB parameters and urinary flow rate. The vasopressor agent was canceled, the dobutamine at doses below arrhythmia threshold had been continued. Within 48 hours, almost all parameters of central hemodynamics, ABB and urine secretion corresponded to the reference values.

The resuscitation of the patient from burn shock was recorded, full enteral nutrition was started, and the volume of infusion therapy was reduced.

DISCUSSION

The data obtained on structural myocardial lesions in burn shock confirm the need for the use of inotropic agents in this pathology. Thus, BSh should be considered not only as a classic hypovolemic shock, in which a decrease in cardiac output is only a consequence of a decrease in preload. It is obvious that myocardial lesions also plays a significant role.

However, a significant problem with the use of inotropic agents, in particular dobutamine, is a marked arrhythmogenic effect, which manifests itself in an increase in tachycardia when using the recommended doses (5–10 $\mu\text{g/kg/min}$). Since the blood supply to the myocardium is performed dur-

1-е сутки – 250 мл, 2-е сутки – 1200 мл, 3-и сутки – 2100 мл.

Клиническая динамика: АД в 1-е сутки 110/65–130/75 мм рт. ст. на фоне вазопрессорной и инотропной поддержки. К концу 1-х суток после травмы отмечалось критическое снижение показателей контрактильности (СИ – 1.71 л/мин/м²) и нарастание индекса внесосудистой воды в легких (ELWI) до 10 мл/кг. Нормализация данных показателей отмечена к концу 2-х суток: СИ – 3.8 л/мин/м², ELWI – 6 мл/кг. Диурез в 1-е сутки составил 1300 мл, во 2-е сутки – 2000 мл, в 3-е – 2750 мл. Кислотно-щелочное состояние (КЩС) артериальной крови при поступлении: pH – 7.25, парциальное давление кислорода (PO₂) – 114 мм рт. ст., парциальное давление углекислого газа (PCO₂) – 21.3 мм рт. ст., SBE – 16 ммоль/л, лактат – 3.5 ммоль/л. Через 24 ч: pH – 7.36, PO₂ – 85 мм рт. ст., PCO₂ – 42.1 мм рт. ст., SBE – 1.4 ммоль/л, лактат – 2.1 ммоль/л. Нормализация pH и BE отмечена к концу первых суток, а через 48 ч произошла нормализация значений лактата артериальной крови (1.2 ммоль/л). Таким образом, уже в течение первых суток удалось добиться компенсации нарушений гемодинамики, что отразилось в нормализации параметров КЩС и темпа мочеотделения. Вазопрессорный препарат был отменен, продолжалось введение добутамина в субаритмогенных дозах. В течение 48 ч практически все параметры центральной гемодинамики, КЩС и темп диуреза соответствовали нормальным референсным значениям. Констатируется выведение пациента из ожогового шока, начато полноценное энтеральное питание, снижены объемы инфузионной терапии.

ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные данные о структурных поражениях миокарда при ожоговом шоке подтверждают необходимость использования препаратов инотропного действия при данной патологии. Таким образом, ОШ следует рассматривать не только как классический гиповолемический шок, при котором снижение сердечного выброса является только следствием снижения преднагрузки. Очевидно, что повреждение миокарда также играет значимую роль.

Однако существенной проблемой использования препаратов инотропного действия, в частности добутамина, является выраженный аритмогенный эффект, что проявляется в нарастании тахикардии при использовании рекомендуемых доз (5–10 мкг/кг/мин). Поскольку кровоснабжение миокарда осуществляется в диастолу, а повы-

ing diastole, and an increase in heart rate is accompanied by a decrease in myocardial perfusion, already at a heart rate > 90 bpm, the risk of death in heart failure significantly increases. The development of tachycardia should be considered as a damaging factor causing myocardial ischemia/hypoxia in the setting of increased O₂ consumption. In addition, a natural disadvantage of the use of adrenoceptor agonists is an increase in lactic acidosis, which is a serious limitation for their use in circulatory shock.

Thus, the task of the study was not only to justify the use of dobutamine in BSh, but also to choose a safe and effective rate of its administration.

Individual doses at the threshold of tachyarrhythmia were selected as a goal for dobutamine. In this study, the infusion rate is in the range of 2.5–5.0 µg/kg/min. Based on the results obtained, it can be concluded that the use of dobutamine doses that are at the lower end of recommended range made it possible to compensate for hemodynamic disorders and implement a restrictive strategy of fluid resuscitation. In particular, the difference between the estimated volume of infusion therapy and the actual volume ($V_{est} - V_{act}$) on the first day after injury was up to 3.0–3.5 l. In all the studied cases, despite the severity of burn injury, rapid normalization of central hemodynamics, restoration of tissue perfusion and, ultimately, the resuscitation of patients from the burn shock in an average of 48 hours was noted.

CONCLUSION

The research allows us to draw the following conclusions:

1. A decrease in myocardial contractility in burn patients with shock is associated, among other things, with the formation of acute focal myocardial lesions, a decrease in the expression of cardiomyocyte marker – actin (2.4 times, $p < 0.05$) and desmin (2 times, $p < 0.05$) and is accompanied by a decrease in the cardiac index, stroke volume and ejection fraction. The data obtained on structural changes of the myocardium in burn shock confirm the need for the use of inotropic agents.

2. Dobutamine at a rate of up to 5.0 µg/kg/min does not cause arrhythmia and/or lactic acidosis, but contributes as part of comprehensive resuscitation measures to ensure the maximum restrictive strategy of fluid resuscitation and elimination of burn shock manifestations.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

шение пульса сопровождается снижением перфузии миокарда, уже при частоте сердечных сокращений >90 уд./мин достоверно повышается риск летального исхода при сердечной недостаточности. Развитие тахикардии следует рассматривать как повреждающий фактор, вызывающий ишемию/гипоксию миокарда на фоне повышенного потребления O_2 . Кроме того, естественный недостаток использования адреностимуляторов – нарастание лактоацидоза, что является серьезным ограничением в использовании при циркуляторном шоке.

Таким образом, задачей исследования стало не только обоснование использования добутамина при ОШ, но и выбор безопасной и эффективной скорости его введения.

В качестве ориентира при назначении добутамина выбраны индивидуальные дозы на пороге тахикардии. В данном исследовании – скорость введения в диапазоне 2.5–5.0 мкг/кг/мин. Основываясь на полученных результатах, можно заключить, что использование субаритмогенных доз добутамина позволило обеспечить компенсацию нарушений гемодинамики и реализацию рестриктивной стратегии инфузионной терапии. В частности, разница между расчетным объемом инфузионной терапии и фактическим объемом ($V_{расч} - V_{реал}$) в первые сутки после травмы составила до 3.0–3.5 л. Во всех исследованных случаях, несмотря на тяжесть ожогового поврежде-

ния, отмечена быстрая стабилизация центральной гемодинамики, восстановление перфузии тканей и в конечном итоге выведение пациентов из ожогового шока в среднем за 48 ч.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное исследование позволяет сделать следующие выводы:

1. Снижение сократительной способности миокарда у ожоговых больных с шоком связано, в том числе, с образованием острых очаговых повреждений миокарда, снижением экспрессии белков-маркеров кардиомиоцитов – актина (в 2.4 раза, $p < 0.05$) и десмина (в 2 раза, $p < 0.05$) и сопровождается уменьшением сердечного индекса, ударного объема и глобальной фракции изгнания. Полученные данные о структурных изменениях миокарда при ожоговом шоке подтверждают необходимость использования препаратов инотропного действия.

2. Добутамин, назначаемый со скоростью до 5.0 мкг/кг/мин, не вызывает аритмогенного эффекта и/или лактоацидоза, но помогает в составе комплексных противошоковых мероприятий обеспечить максимально возможную рестриктивную стратегию инфузионной терапии и устранить проявления ожогового шока.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Cancio L.C., Chavez S., Alvarado-Ortega M. et al. Predicting increased fluid requirements during the resuscitation of thermally injured patients // *J. Trauma*. 2004;56(2):404-413. DOI: 10.1097/01.TA.0000075341.43956.E4.
2. Friedrich J.B., Sullivan S.R., Engrav L.H. et al. Is supra-Baxter resuscitation in burn patients a new phenomenon? // *Burns*. 2004;30(5):464-466. DOI: 10.1016/j.burns.2004.01.021.
3. Cochran A., Morris S.E., Edelman L.S., Saffle J.K. Burn patient characteristics and outcomes following resuscitation with albumin // *Burns*. 2007;33(1):25-30.
4. Ivy M.E., Atweh N.A., Palmer J. et al. Intra-abdominal hypertension and abdominal compartment syndrome in burn patients // *J. Trauma*. 2000;49(3):387-391. DOI: 10.1097/00005373-200009000-00001.
5. Sullivan S.R., Friedrich J.B., Engrav L.H. et al. "Opioid creep" is real and may be the cause of "fluid creep" // *Burns*. 2004;30(6):583-590. DOI: 10.1016/j.burns.2004.03.002.
6. Кузьков В.В., Киров М.Ю. Инвазивный мониторинг гемодинамики в интенсивной терапии и анестезиологии. Архангельск: СГМУ, 2015. 392 с.
7. Rivers E., Nguyen B., Havstad S. et al. Early goal-directed therapy in the treatment of severe sepsis and

REFERENCES

1. Cancio L.C., Chavez S., Alvarado-Ortega M. et al. Predicting increased fluid requirements during the resuscitation of thermally injured patients. *J. Trauma*. 2004;56(2):404-413. DOI: 10.1097/01.TA.0000075341.43956.E4.
2. Friedrich J.B., Sullivan S.R., Engrav L.H. et al. Is supra-Baxter resuscitation in burn patients a new phenomenon? *Burns*. 2004;30(5):464-466. DOI: 10.1016/j.burns.2004.01.021.
3. Cochran A., Morris S.E., Edelman L.S., Saffle J.K. Burn patient characteristics and outcomes following resuscitation with albumin. *Burns*. 2007;33(1):25-30.
4. Ivy M.E., Atweh N.A., Palmer J. et al. Intra-abdominal hypertension and abdominal compartment syndrome in burn patients. *J. Trauma*. 2000;49(3):387-391. DOI: 10.1097/00005373-200009000-00001.
5. Sullivan S.R., Friedrich J.B., Engrav L.H. et al. "Opioid creep" is real and may be the cause of "fluid creep". *Burns*. 2004;30(6):583-590. DOI: 10.1016/j.burns.2004.03.002.
6. Kuzkov V.V., Kirov M.Yu. (2015). *Invasive Hemodynamic Monitoring in Intensive Care and Anesthesiology*. Arkhangelsk. 392 p. (In Russ.)
7. Rivers E., Nguyen B., Havstad S. et al. Early goal-directed therapy in the treatment of severe sepsis and

- septic shock // *N. Engl. J. Med.* 2001;345(19):1368-1377. DOI: 10.1056/NEJMoa010307.
8. Hayes M.A., Timmins A.C., Yau E.H. et al. Elevation of systemic oxygen delivery in the treatment of critically ill patients // *N. Engl. J. Med.* 1994;330(24):1717-1722. DOI: 10.1056/NEJM199406163302404.
 9. Tacon C.L., McCaffrey J., Delaney A. Dobutamine for patients with severe heart failure: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials // *Intensive Care Med.* 2012;38(3):359-367. DOI: 10.1007/s00134-011-2435-6.
 10. Reyad A.R., Elkhartoutly W., Wahba A., Elmorsheidi M., Hasaneen N.A. Effect of intraoperative dobutamine on splanchnic tissue perfusion and outcome after Whipple surgery // *J. Crit. Care.* 2013;28(4):531.e7-531.e15. DOI: 10.1016/j.jcrc.2013.02.017.
 11. Triposkiadis F., Parissis J.T., Starling R.C., Skoularigis J., Louridas G. Current drugs and medical treatment algorithms in the management of acute decompensated heart failure // *Expert Opin. Investig. Drugs.* 2009;18(6):695-707. DOI: 10.1517/13543780902922660.
 12. Morelli A., Ertmer C., Westphal M. et al. Effect of heart rate control with esmolol on hemodynamic and clinical outcomes in patients with septic shock: a randomized clinical trial // *JAMA.* 2013;310(16):1683-1691. DOI: 10.1001/jama.2013.278477.
 13. Sato R., Nasu M. Time to re-think the use of dobutamine in sepsis // *J. Intensive Care.* 2017;5:65. DOI: 10.1186/s40560-017-0264-6.
 14. Scheeren T.W.L., Bakker J., Kaufmann T. et al. Current use of inotropes in circulatory shock // *Ann. Intensive Care.* 2021;11(1):21. DOI: 10.1186/s13613-021-00806-8.
 15. Pollock G.D., Bowling N., Tuttle R.R., Hayes J.S. Effects of S-dobutamine on venous blood return and organ nutrient blood flow // *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 1992;20(5):742-749.
 16. Ожоги термические и химические. Ожоги солнечные. Ожоги дыхательных путей. Клинические рекомендации. М., 2021. 179 с.
 17. Buchwalow I., Böcker W. *Immunohistochemistry. Basics and Methods.* Heidelberg: Springer, 2010. 153 p.
 18. Савченко С.В., Ощепкова Н.Г., Новоселов В.П. и др. Ультраструктура кардиомиоцитов при тяжелом ожоговом шоке // *Современные проблемы науки и образования.* 2021. № 2. С. 130. DOI: 10.17513/spno.30615.
 - septic shock. *N. Engl. J. Med.* 2001;345(19):1368-1377. DOI: 10.1056/NEJMoa010307.
 8. Hayes M.A., Timmins A.C., Yau E.H. et al. Elevation of systemic oxygen delivery in the treatment of critically ill patients. *N. Engl. J. Med.* 1994;330(24):1717-1722. DOI: 10.1056/NEJM199406163302404.
 9. Tacon C.L., McCaffrey J., Delaney A. Dobutamine for patients with severe heart failure: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Intensive Care Med.* 2012;38(3):359-367. DOI: 10.1007/s00134-011-2435-6.
 10. Reyad A.R., Elkhartoutly W., Wahba A., Elmorsheidi M., Hasaneen N.A. Effect of intraoperative dobutamine on splanchnic tissue perfusion and outcome after Whipple surgery. *J. Crit. Care.* 2013;28(4):531.e7-531.e15. DOI: 10.1016/j.jcrc.2013.02.017.
 11. Triposkiadis F., Parissis J.T., Starling R.C., Skoularigis J., Louridas G. Current drugs and medical treatment algorithms in the management of acute decompensated heart failure. *Expert Opin. Investig. Drugs.* 2009;18(6):695-707. DOI: 10.1517/13543780902922660.
 12. Morelli A., Ertmer C., Westphal M. et al. Effect of heart rate control with esmolol on hemodynamic and clinical outcomes in patients with septic shock: a randomized clinical trial. *JAMA.* 2013;310(16):1683-1691. DOI: 10.1001/jama.2013.278477.
 13. Sato R., Nasu M. Time to re-think the use of dobutamine in sepsis. *J. Intensive Care.* 2017;5:65. DOI: 10.1186/s40560-017-0264-6.
 14. Scheeren T.W.L., Bakker J., Kaufmann T. et al. Current use of inotropes in circulatory shock. *Ann. Intensive Care.* 2021;11(1):21. DOI: 10.1186/s13613-021-00806-8.
 15. Pollock G.D., Bowling N., Tuttle R.R., Hayes J.S. Effects of S-dobutamine on venous blood return and organ nutrient blood flow. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 1992;20(5):742-749.
 16. *Burns: Thermal and Chemical. Sunburns. Inhalation Burns. Clinical Recommendations* (2021). Moscow. 179 p. (In Russ.)
 17. Buchwalow I., Böcker W. *Immunohistochemistry. Basics and Methods.* Heidelberg: Springer, 2010. 153 p.
 18. Savchenko S.V., Oshchepkova N.G., Novoselov V.P. et al. (2021). Pathomorphological and ultrastructural assessment of the myocardium in burn shock. *Modern Problems of Science and Education.* 2021;2:130. DOI: 10.17513/spno.30615. (In Russ.)

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Верещагин Евгений Иванович – д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой анестезиологии и реаниматологии им. проф. И.П. Верещагина ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0003-1366-3420.

Саматов Игорь Юрьевич – канд. мед. наук, доцент кафедры анестезиологии и реаниматологии им. проф. И.П. Верещагина ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России; врач – анестезиолог-реаниматолог, заведующий отделением реанимации и

ABOUT THE AUTHORS

Evgeny I. Vereshchagin – Dr. Sci. (Med.), Professor, Head, Department of Anesthesiology and Resuscitation named after Prof. I.P. Vereshchagin, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0003-1366-3420.

Igor Y. Samatov – Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Department of Anesthesiology and Resuscitation named after Prof. I.P. Vereshchagin, Novosibirsk State Medical University; Anesthesiologist and Emergency Physician, Head, Burn Intensive Care Unit, Novosi-

интенсивной терапии ожоговой травмы ГБУЗ НСО «Государственная Новосибирская областная клиническая больница», Новосибирск, Россия.

Ощепкова Наталья Геннадьевна – канд. мед. наук, ассистент кафедры судебной медицины ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия.

Востриков Дмитрий Николаевич – врач – анестезиолог-реаниматолог отделения реанимации и интенсивной терапии ожоговой травмы ГБУЗ НСО «Государственная Новосибирская областная клиническая больница», Новосибирск, Россия.

Дудин Вадим Иванович – врач – анестезиолог-реаниматолог отделения реанимации и интенсивной терапии ожоговой травмы ГБУЗ НСО «Государственная Новосибирская областная клиническая больница», Новосибирск, Россия.

Коновалов Денис Петрович – врач – анестезиолог-реаниматолог отделения реанимации и интенсивной терапии ожоговой травмы ГБУЗ НСО «Государственная Новосибирская областная клиническая больница», Новосибирск, Россия.

Селиверстов Роман Игоревич – врач – анестезиолог-реаниматолог отделения реанимации и интенсивной терапии ожоговой травмы ГБУЗ НСО «Государственная Новосибирская областная клиническая больница», Новосибирск, Россия.

Савченко Сергей Владимирович – д-р мед. наук, профессор кафедры судебной медицины ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия.

Novosibirsk State Regional Clinical Hospital, Novosibirsk, Russia.

Natalia G. Oshchepkova – Cand. Sci. (Med.), Assistant, Department of Forensic Medicine, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia.

Dmitry N. Vostrikov – Anesthesiologist and Emergency Physician, Burn Intensive Care Unit, Novosibirsk State Regional Clinical Hospital, Novosibirsk, Russia.

Vadim I. Dudin – Anesthesiologist and Emergency Physician, Burn Intensive Care Unit, Novosibirsk State Regional Clinical Hospital, Novosibirsk, Russia.

Denis P. Kononov – Anesthesiologist and Emergency Physician, Burn Intensive Care Unit, Novosibirsk State Regional Clinical Hospital, Novosibirsk, Russia.

Roman I. Seliverstov – Anesthesiologist and Emergency Physician, Burn Intensive Care Unit, Novosibirsk State Regional Clinical Hospital, Novosibirsk, Russia.

Sergey V. Savchenko – Dr. Sci. (Med.), Professor, Department of Forensic Medicine, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia.

Особенности строения эпифиза экспериментальных животных при иммуностимуляции

А.А. Захаров, А.А. Дикая

ГУ ЛНР «Луганский государственный медицинский университет им. Святителя Луки», Луганск, Луганская Народная Республика

АННОТАЦИЯ

В в е д е н и е . В последнее время регистрируется большое количество заболеваний, связанных с нарушениями функционирования нейроэндокринно-иммунной системы, вызванными ростом психоэмоциональных нагрузок и резким ухудшением экологической обстановки. Эпифиз занимает центральное место в эндокринной и иммунной системах.

Ц е л ь и с с л е д о в а н и я . Изучение структурных преобразований эпифиза при иммуностимуляции.

М а т е р и а л ы и м е т о д ы . Исследование проведено на 60 крысах-самцах зрелого возраста репродуктивного периода массой 240–280 г. Животным экспериментальной группы ($n = 30$) вводили имунофан пятикратно на 1, 7, 15, 30 и 60-е сутки в дозе 0.7 мкг/кг массы тела. Животные контрольной группы ($n = 30$) получали 0.9% р-р NaCl в эквивалентном объеме и по той же схеме. У животных обеих групп определяли абсолютную и относительную массу эпифиза, его больший и меньший диаметр, объем, а также количественное соотношение клеток, больший/меньший диаметр и объем пинеалоцитов, больший/меньший диаметр и объем ядер пинеалоцитов.

Р е з у л ь т а т ы и с с л е д о в а н и я . Изменения параметров эпифиза наблюдались на 15, 30 и 60-е сутки наблюдения. Так, в экспериментальной группе больший и меньший диаметр пинеалоцитов увеличился на 3.93, 8.24, 13.15 и 7.04, 9.37, 10.54 % соответственно по сравнению с аналогичными показателями в группе контроля. Аналогичные изменения отмечались для большего и меньшего диаметра ядра, как показателя функциональной активности клетки, – на 4.48, 7.23, 4.45 и 4.05, 7.66, 10.16 % соответственно.

З а к л ю ч е н и е . Полученные результаты позволяют судить об активной реакции со стороны эпифиза крыс зрелого возраста в ответ на иммуностимуляцию, вызванную применением имунофана.

Ключевые слова: эпифиз, крысы репродуктивного периода, имунофан, морфометрия, иммуностимуляция.

Образец цитирования: Захаров А.А., Дикая А.А. Особенности строения эпифиза экспериментальных животных при иммуностимуляции // Journal of Siberian Medical Sciences. 2023;7(2):54-61. DOI: 10.31549/2542-1174-2023-7-2-54-61

Features of the epiphysis structure of experimental animals during immunostimulation

A.A. Zakharov, A.A. Dikaya

St. Luka Lugansk State Medical University, Lugansk, Lugansk People's Republic

ABSTRACT

I n t r o d u c t i o n . Recently, a large number of diseases associated with an impairment of the neuroendocrine-immune system caused by an increase in psycho-emotional stress and a severe environmental deterioration has been registered. The epiphysis is central to the endocrine and immune systems.

A i m . To study of structural transformations of the epiphysis during immunostimulation.

Поступила в редакцию 15.08.2022
Прошла рецензирование 20.09.2022
Принята к публикации 11.10.2022

Автор, ответственный за переписку
Дикая Алина Александровна: ГУ ЛНР «Луганский государственный медицинский университет им. Святителя Луки. 91045, г. Луганск, квартал 50-летия Обороны Луганска 1Г.
E-mail: alina-wilder@mail.ru

Received 15.08.2022
Revised 20.09.2022
Accepted 11.10.2022

Corresponding author
Alina A. Dikaya: St. Luka Lugansk State Medical University, 1G, quarter of the 50th anniversary of the Defense of Lugansk, Lugansk, 91045, Lugansk People's Republic.
E-mail: alina-wilder@mail.ru

Materials and methods. The study was carried out on 60 mature male rats of the reproductive period weighing 240–280 g. Animals of the experimental group ($n = 30$) were injected with imunofan fivefold on the 1st, 7th, 15th, 30th and 60th day at a dose of 0.7 $\mu\text{g/kg}$ of body weight. Animals of the control group ($n = 30$) received 0.9% NaCl in an equivalent volume and the same regimen. In animals of both groups, the absolute and relative weight of the epiphysis, its maximal and minimal diameter, volume, as well as the cell ratio, maximal/minimal diameter and volume of pinealocytes, the maximal/minimal diameter and volume of pinealocyte nuclei were determined.

Results. Changes in the parameters of the epiphysis were observed on the 15th, 30th, and 60th day the experiment. So, in the experimental group, the maximal and minimal diameter of pinealocytes increased by 3.93, 8.24, 13.15 and 7.04, 9.37, 10.54%, respectively, compared with the same indicators in the control group. Similar changes were noted for the maximal and minimal diameters of cell nuclei as an indicator of functional activity by 4.48, 7.23, 4.45 and 4.05, 7.66 and 10.16%, respectively.

Conclusion. The results obtained make it possible to judge the active reaction of the epiphysis of mature rats in response to imunofan-induced immunostimulation.

Keywords: epiphysis, rats of the reproductive period, imunofan, morphometry, immunostimulation.

Citation example: Zakharov A.A., Dikaya A.A. Features of the epiphysis structure of experimental animals during immunostimulation. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2023;7(2):54-61. DOI: 10.31549/2542-1174-2022-7-2-54-61

ВВЕДЕНИЕ

В последнее время регистрируется большое количество заболеваний, связанных с нарушениями функционирования нейроэндокринно-иммунной системы, вызванными ростом психо-эмоциональных нагрузок и резким ухудшением экологического состояния окружающей среды. Особое место занимают иммунодефицитные состояния, развитие которых связано с интенсивным влиянием неблагоприятных антропогенных факторов [1]. К настоящему времени проведено немало клинических исследований по этой теме, однако результаты изучения морфологических особенностей органов и систем в данных условиях немногочисленны [2]. Эпифиз занимает центральное место в эндокринной и иммунной системах, однако данная взаимосвязь изучена недостаточно и сведения о морфологической изменчивости органа в онтогенезе требуют актуализации и систематизации на фоне накопления большого количества экспериментальных и клинических данных. Наряду с этим сведения о качественных и количественных изменениях строения органа при изменениях состояния иммунной системы практически отсутствуют в доступной литературе.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучение структурных преобразований эпифиза при иммуностимуляции.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперимент проводился в осенне-зимний период на 60 крысах-самцах зрелого возраста

INTRODUCTION

Recently, a large number of diseases associated with an impairment of the neuroendocrine-immune system caused by an increase in psycho-emotional stress and a severe environmental deterioration has been registered. A special place is occupied by immunodeficiency states, the development of which is associated with the strong influence of unfavorable anthropogenic factors [1]. To date, many clinical studies were carried out on this subject but the results of studying the morphological features of organs and systems under these conditions are few [2]. The epiphysis is central to the endocrine and immune systems, however, this relationship has not been investigated enough and the information on its morphological variability in ontogenesis requires updating and classification in the setting of the accumulation of a large amount of experimental and clinical data. Along with that, the information concerning qualitative and quantitative changes in the structure of the organ with changes in the immune system state is virtually absent in the literature.

AIM OF THE RESEARCH

To study of structural transformations of the epiphysis during immunostimulation.

MATERIALS AND METHODS

The experiment was carried out in autumn-winter period on 60 mature male rats of the reproductive period weighing 240–280 g, obtained from the vivarium of the St. Luka Lugansk State Medical University. The experimental group included 30 animals (6 for each follow-up period), the control group

репродуктивного периода массой 240–280 г, полученных из вивария ГУ ЛНР «Луганский государственный медицинский университет им. Святителя Луки». Экспериментальная группа включала 30 животных (по 6 на каждый срок наблюдения), аналогично была сформирована контрольная группа из 30 крыс. Иммуноактивное состояние моделировали путем введения имунофана внутримышечно пятикратно в дозе 0.7 мкг/кг массы тела [1]. Животные группы контроля получали 0.9% раствор NaCl в эквивалентном объеме по той же схеме. Животных выводили из эксперимента путем декапитации под эфирным наркозом на 1, 7, 15, 30 и 60-е сутки наблюдения в одно и то же время суток. Забор органа осуществлялся с учетом положений Директивы 2010/63/EU Европейского Парламента и Совета Европейского Союза, а также требований и рекомендаций «Руководства по содержанию и использованию лабораторных животных» [3–5]. У крыс извлекали эпифиз с последующей его фиксацией в 10% растворе нейтрального формалина и подвергали стандартной гистологической проводке. Срезы толщиной 5–7 мкм окрашивали гематоксилином и эозином.

Абсолютную массу органа измеряли с помощью аналитических весов ВЛА-200, относительную – рассчитывали путем отношения указанного параметра к массе тела животного. Объем эпифиза определяли методом вытеснения воды в градуированном цилиндре. Линейные размеры органа измеряли с помощью автоматизированного морфометрического комплекса. На морфометрическом уровне изучались больший и меньший диаметры, объем клетки и ядра, количество светлых и темных пинеалоцитов с помощью автоматизированного комплекса, включавшего микроскоп Olympus CX41 с фотоадаптером фирмы «Арстек» (Москва), с возможностью переноса полученных цифровых изображений в программу «Компас-3D» («Аскон», Санкт-Петербург) для последующих морфометрических измерений с использованием калибровочных файлов. Количество отдельных клеток рассчитывалось на стандартную единицу площади (2025 мкм²) с помощью того же программного обеспечения. Полученные данные обрабатывались с использованием программы STATISTICA v.6.0 (StatSoft Inc., USA). Проверка нормальности распределения данных проводилась с помощью критерия согласия Шапиро – Уилка. Достоверность различий между показателями определялась с помощью критериев Стьюдента и Фишера ($p < 0.05$).

($n = 30$) was similarly formed. The immunoactive state was modeled by intramuscular administering imunofan fivefold at a dose of 0.7 µg/kg of body weight [1]. Animals of the control group received 0.9% NaCl in an equivalent volume and the same regimen. The animals were decapitated under ether anesthesia on the 1st, 7th, 15th, 30th, and 60th day of the experiment at the same time of a day. Organ sampling was carried out taking into account the provisions of Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the European Union Council, as well as the appropriate requirements and recommendations of Guide for the Care and Use of Laboratory Animals [3–5]. The epiphysis was removed from rats with its subsequent fixation in 10% neutral formalin and standard histological processing. Sections of 5–7 µm thick were stained with hematoxylin and eosin.

The absolute weight of the organ was measured using a VLA-200 analytical balance, the relative weight was calculated using the ratio of the absolute organ weight to the body weight of an animal. The volume of the epiphysis was determined by the method of water displacement in a graduated cylinder. The linear dimensions of the organ were measured using an automated morphometric tool. With morphometric technique, we have analyzed the maximal and minimal diameters, the volume of a cell and nucleus, light and dark pinealocyte count using a hardware and software system that included an Olympus CX41 microscope with a photo adapter (Arstek, Moscow), with the possibility of transferring the digital images obtained to Compass-3D software (Ascon, St. Petersburg) for the subsequent morphometric analysis using calibration files. The number of individual cells was calculated per standard area unit (2025 µm²) using the same software. The data obtained were processed using STATISTICA v.6.0 software (StatSoft Inc., USA). Checking the normality of data distribution was carried out using the Shapiro-Wilk test. The significance of difference between the variables was determined using the Student's test and Fisher's test ($p < 0.05$).

RESULTS

The structural features of the epiphysis of mature rats in the control group, including its organometric parameters, were described in detail earlier [6].

On light microscopy the animals of the control groups showed changes in the studied parameters corresponding to the age characteristics of the organ (Table 1). Data on the experimental group of animals treated with imunofan are presented in Table 2.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Особенности строения эпифиза половозрелых крыс контрольной группы, в том числе его органомерметрические показатели, были подробно описаны ранее [6].

На светооптическом уровне у животных контрольных групп отмечались изменения изученных показателей, соответствующие возрастным особенностям органа (табл. 1). Данные по экспериментальной группе животных, получавших имунофан, представлены в табл. 2.

Достоверные отличия по сравнению с данными контрольной группы наблюдались на 15, 30 и 60-е сутки наблюдения: так, больший и меньший диаметры клетки увеличивались на 3.93, 8.24, 13.15 и 7.04, 9.37, 10.54 % соответственно, аналогичные изменения отмечались для большего и меньшего диаметра ядра, как показателя функциональной активности

Significant differences in comparison with the data of the control group were observed on the 15th, 30th and 60th day of the experiment: for example, the maximal and minimal diameter of cells increased by 3.93, 8.24, 13.15 and 7.04, 9.37, 10.54%, respectively; similar changes were noted for the maximal and minimal diameter of a cell nucleus, as an indicator of functional activity of cells, by 4.48, 7.23, 4.45 and 4.05, 7.66, 10.16%, respectively. The volumetric parameters of cells and its nuclei increased by 19.13, 29.44, 38.31 and 13.11, 24.28, 33.18% compared to parameters of the control groups of animals. At the same time, on the 1st and 7th day, the parameters did not differ significantly. After the administration of imunofan, the light pinealocyte count at the same time points decreased significantly by 15.79, 22.28, 39.01%.

The epiphysis of experimental animals throughout the experiment retained typical morphological

Таблица 1. Органомерметрические показатели эпифиза и результаты морфометрического исследования пинеалоцитов эпифиза животных контрольной группы в различные сроки наблюдения ($M \pm m$)

Table 1. Organometric parameters of the epiphysis and the results of morphometric analysis of pinealocytes in control animals at different time points of the experiment ($M \pm m$)

Показатель Parameter	1-е сутки 1st day	7-е сутки 7th day	15-е сутки 15th day	30-е сутки 30th day	60-е сутки 60th day
<i>Органомерметрия (эпифиз) / Organometry (epiphysis)</i>					
Абсолютная масса, мг Absolute weight, mg	4.70 ± 0.01	4.90 ± 0.02	4.90 ± 0.03	4.80 ± 0.04	4.90 ± 0.02
Относительная масса, мг/г Relative weight, mg/g	0.018 ± 0.03	0.020 ± 0.02	0.020 ± 0.02	0.021 ± 0.01	0.022 ± 0.01
Объем, мм ³ Volume, mm ³	13853620.29 ± 203829.65	16067264.34 ± 489922.35	16713899.62 ± 357655.22	18620653.52 ± 188354.65	19589636.05 ± 253969.22
Большой диаметр, мкм Maximal diameter, μm	348.06 ± 3.11	341.04 ± 4.57	339.07 ± 3.54	347.05 ± 5.86	342.05 ± 6.88
Меньший диаметр, мкм Minimal diameter, μm	254.10 ± 3.53	261.10 ± 3.54	264.08 ± 3.67	264.28 ± 4.37	264.10 ± 8.64
<i>Морфометрия (пинеалоциты) / Morphometry (pinealocytes)</i>					
Доля светлых пинеалоцитов, % Proportion of light pinealocytes, %	14.61 ± 0.73	13.79 ± 0.61	17.81 ± 0.34	13.16 ± 0.45	11.85 ± 0.64
Доля темных пинеалоцитов, % Proportion of dark pinealocytes, %	85.39 ± 0.87	86.21 ± 0.43	82.19 ± 0.46	86.84 ± 0.68	88.15 ± 1.08
Большой диаметр клетки, мкм Maximal diameter of cell, μm	22.12 ± 0.61	21.89 ± 0.52	28.13 ± 0.14	30.33 ± 0.29	31.46 ± 0.14
Меньший диаметр клетки, мкм Minimal diameter of cell, μm	20.37 ± 0.28	19.48 ± 0.27	22.67 ± 0.44	23.81 ± 0.37	26.08 ± 0.49
Объем клетки, мм ³ Volume of cell, mm ³	5218.67 ± 237.52	4887.41 ± 228.23	7569.57 ± 257.22	9003.05 ± 229.57	11203.98 ± 274.93
Большой диаметр ядра, мкм Maximal diameter of cell nucleus, μm	9.47 ± 0.08	9.67 ± 0.08	9.72 ± 0.11	9.94 ± 0.16	10.16 ± 0.15
Меньший диаметр ядра, мкм Minimal diameter of cell nucleus, μm	7.58 ± 0.08	7.72 ± 0.04	7.74 ± 0.03	8.03 ± 0.05	8.12 ± 0.14
Объем ядра, мм ³ Volume of cell nucleus, mm ³	284.90 ± 4.22	301.76 ± 2.87	304.89 ± 1.49	335.60 ± 0.77	350.76 ± 0.38

Таблица 2. Органометрические показатели эпифиза и результаты морфометрического исследования пинеалоцитов эпифиза животных экспериментальной группы в различные сроки наблюдения ($M \pm m$)**Table 2.** Organometric parameters of the epiphysis and the results of morphometric analysis of pinealocytes in experimental animals at different time points of the experiment ($M \pm m$)

Показатель Parameter	1-е сутки 1st day	7-е сутки 7th day	15-е сутки 15th day	30-е сутки 30th day	60-е сутки 60th day
<i>Органометрия (эпифиз) / Organometry (epiphysis)</i>					
Абсолютная масса, мг Absolute weight, mg	2.8 $\pm$ 0.05	2.76 $\pm$ 0.12	3.05 $\pm$ 0.01*	3.14 $\pm$ 0.01*	3.12 $\pm$ 0.01*
Относительная масса, мг/г Relative weight, mg/g	0.018 $\pm$ 0.0006	0.031 $\pm$ 0.0008	0.031 $\pm$ 0.0001*	0.035 $\pm$ 0.0001*	0.034 $\pm$ 0.0009*
Объем, мм ³ Volume, mm ³	13988623.96 $\pm$ 270709.44	17573614.52 $\pm$ 512187.11	21247077.78 $\pm$ 368576.09*	24334906.58 $\pm$ 173413.19*	26148399.26 $\pm$ 244243.28*
Большой диаметр, мкм Maximal diameter, μ m	318.86 $\pm$ 3.66	351.97 $\pm$ 5.26	374.78 $\pm$ 6.26*	391.11 $\pm$ 1.95*	397.21 $\pm$ 0.75*
Меньший диаметр, мкм Minimal diameter, μ m	289.43 $\pm$ 2.41	308.63 $\pm$ 2.42	329.06 $\pm$ 1.72*	344.73 $\pm$ 1.66*	354.56 $\pm$ 1.59*
<i>Морфометрия (пинеалоциты) / Morphometry (pinealocytes)</i>					
Доля светлых пинеалоцитов, % Proportion of light pinealocytes, %	15.65 $\pm$ 0.28	14.91 $\pm$ 0.5	15 $\pm$ 0.34*	10.23 $\pm$ 0.44*	7.23 $\pm$ 0.19*
Доля темных пинеалоцитов, % Proportion of dark pinealocytes, %	84.35 $\pm$ 0.28	85.09 $\pm$ 0.5	85.00 $\pm$ 0.34*	89.77 $\pm$ 0.44*	92.77 $\pm$ 0.19*
Большой диаметр клетки, мкм Maximal diameter of cell, μ m	20.05 $\pm$ 0.54	19.77 $\pm$ 0.57	29.24 $\pm$ 0.32*	32.83 $\pm$ 0.51*	35.6 $\pm$ 0.4*
Меньший диаметр клетки, мкм Minimal diameter of cell, μ m	23.08 $\pm$ 0.29	22.22 $\pm$ 0.62	24.27 $\pm$ 0.31*	26.04 $\pm$ 0.21*	28.83 $\pm$ 0.34*
Объем клетки, мм ³ Volume of cell, mm ³	5600.8 $\pm$ 244.46	5111.76 $\pm$ 246.68	9018 $\pm$ 227.06*	11653.54 $\pm$ 174.71*	15495.08 $\pm$ 347.89*
Большой диаметр ядра, мкм Maximal diameter of cell nucleus, μ m	9.63 $\pm$ 0.06	9.88 $\pm$ 0.06	10.16 $\pm$ 0.01*	10.66 $\pm$ 0.01*	11.15 $\pm$ 0.01*
Меньший диаметр ядра, мкм Minimal diameter of cell nucleus, μ m	7.64 $\pm$ 0.03	7.65 $\pm$ 0.02	8.05 $\pm$ 0.01*	8.65 $\pm$ 0.01*	8.95 $\pm$ 0.01*
Объем ядра, мм ³ Volume of cell nucleus, mm ³	294.46 $\pm$ 4.51	302.38 $\pm$ 2.18	344.86 $\pm$ 1.28*	417.08 $\pm$ 0.75*	467.13 $\pm$ 0.7*

* Статистически значимое отличие от значений контрольной группы ($p < 0.05$).
Statistically significant difference from the values of the control group ($p < 0.05$).

клетки, – на 4.48, 7.23, 4.45 и 4.05, 7.66, 10.16 % соответственно. Объемные параметры клетки и ее ядра возросли на 19.13, 29.44, 38.31 и 13.11, 24.28, 33.18 % относительно данных контрольных групп животных, в то же время на 1 и 7-е сутки параметры статистически значимо не различались. После применения имунофана количество светлых пинеалоцитов в упомянутые ранее сроки достоверно снизилось на 15.79, 22.28, 39.01 %.

Эпифиз животных экспериментальной группы на протяжении всего срока наблюдения сохранял типичные морфологические черты: дольчатость, спектр основных клеточных популяций. В то же время при иммуностимуляции наблюдались изменения его органометрических параметров.

features: lobulation, the spectrum of the main cell populations. At the same time, changes in its organometric parameters were observed during immunostimulation.

During morphometric analysis changes in the studied parameters were also observed after the administration of imunofan (Fig. 1).

DISCUSSION

In the literature, there are data on changes in the structure of the epiphysis caused by exogenous and endogenous influences. Some authors identify a number of factors that cause immunosuppression: pathogens, chronic stress, feeding disorders, genetic background, etc. [7]. Thus, pinealectomy leads to an impairment of immunogenesis and a change in the tissue architectonics of white pulp of the spleen, as

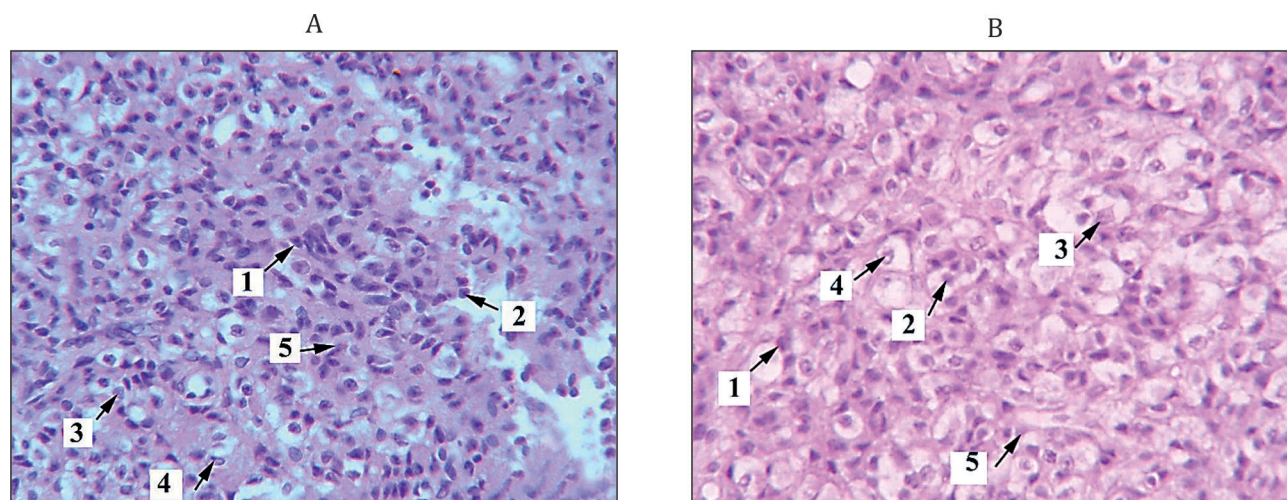


Рис. 1. Участок эпифиза крысы на 15-е сутки наблюдения: А – контрольная группа; В – экспериментальная группа (1 – темный пинеалоцит; 2 – ядро темного пинеалоцита; 3 – светлый пинеалоцит; 4 – ядро светлого пинеалоцита; 5 – мозговой песок). Окраска: гематоксилин-эозин. Увеличение $\times 40$

Fig. 1. The site of the rat epiphysis on the 15th day of the experiment: A – control group; B – experimental group (1 – dark pinealocyte; 2 – dark pinealocyte nucleus; 3 – light pinealocyte; 4 – light pinealocyte nucleus; 5 – acervulus). Hematoxylin-eosin staining. Magnification $\times 40$

На морфометрическом уровне также наблюдались изменения изученных показателей после применения имунофана (рис. 1).

ОБСУЖДЕНИЕ

В литературе встречаются данные об изменениях строения эпифиза в результате экзо- и эндогенных воздействий. Некоторые авторы выделяют ряд факторов, вызывающих иммуносупрессию: патогены, хронический стресс, нарушения кормления, генетические аспекты и т.д. [7]. Так, эпифизэктомия приводит к нарушению иммуногенеза и изменению гистоархитектоники белой пульпы селезенки, а также повышению числа С-клеток щитовидной железы. Пептидные препараты эпифиза эпителин и эпителин в эксперименте восстанавливали гистологическую структуру селезенки после эпифизэктомии и способствовали нормализации ее иммунной функции. При этом в основе эффекта эпителина лежало изменение митотической активности лимфоцитов белой пульпы, тогда как под действием эпителина все исследуемые показатели иммуногенеза восстанавливались до контрольного уровня за счет влияния как на пролиферативную активность лимфоцитов, так и на интенсивность апоптоза [8]. В.П. Волков (2014), в подтверждение данных об изменениях строения эпифиза в результате экзо- и эндогенных воздействий, показал, что морфометрия, которая применяется на разных структурных уровнях морфологической организации организма, отвечает

well as an increase in the C-cell count of the thyroid gland. The peptide preparations, epithalamin and epithalon in the experiment recovered the histological structure of the spleen following pinealectomy and contributed to the normalization of its immune function. At the same time, the effect of epithalon was based on a change in the mitotic activity of lymphocytes of the white pulp, while under epithalamin, all the studied parameters of immunogenesis were restored to the control level due to the influence both on the proliferative activity of lymphocytes and on the intensity of apoptosis [8]. Volkov (2014), in confirmation of data on changes in the structure of the epiphysis as a result of exogenous and endogenous influences, showed that morphometry which is used at different levels of structural organization of the body, meets the requirements of modern evidence-based medicine and allows to objectify the results obtained, great importance is also attached to the ratio and total count of both light and dark pineal cells, the latter being considered as the most functionally active cellular elements [9]. With regard to the immune function, it was found that in adult and old mice, under the action of the epiphysis peptide drug, T and B cell immunity is activated, the titer of thymic serum factor, the titer of thymosin components, as well as the colony-stimulating activity of splenocytes in pinealectomized rats increase in the serum [10].

CONCLUSION

The study allows us to draw the following conclusions:

требованиям современной доказательной медицины и позволяет объективизировать полученные результаты, также придается большое значение соотношению и общему количеству и светлых и темных пинеальных клеток, причем вторые рассматриваются как наиболее функционально активные клеточные элементы [9]. В отношении иммунной функции установлено, что у взрослых и старых мышей под действием пептидного препарата эпифиза стимулируется Т- и В-клеточный иммунитет, в сыворотке растет титр тимического сывороточного фактора, титр тимозиновых компонентов, а также колониестимулирующая активность спленоцитов у пинеалэктомированных крыс [10].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное исследование позволяет сделать следующие выводы:

1. Полученные результаты свидетельствуют об активной реакции со стороны эпифиза крыс зрелого возраста в ответ на иммуностимуляцию, вызванную применением имунофана.

2. Введение препарата вызывало статистически значимое увеличение органомерических параметров эпифиза на 15, 30 и 60-е сутки наблюдения, тогда как на ранних сроках (1 и 7-е сутки) достоверных отличий от данных контрольной группы установлено не было, что можно объяснить фармакодинамическими особенностями препарата.

3. Данные морфометрического исследования показали однонаправленную реакцию эпифиза на клеточном и органном уровне в целом, что позволяет говорить о его комплексном ответе на

1. The results obtained indicate an active reaction from the epiphysis of mature rats in response to immunostimulation caused by the use of imunofan.

2. The drug administration caused a statistically significant increase in the organometric parameters of the epiphysis on the 15th, 30th and 60th day of the experiment, while in the early periods (1st and 7th days) there were no significant differences from the data of the control group which can be explained by the pharmacodynamic features of the drug.

3. The data of the morphometric study showed the unidirectional reaction of the epiphysis at the cellular and organ levels as a whole, which allows us to speak of its comprehensive response in the setting of the immune system activation which apparently causes the proliferation of pinealocytes and a change in their functional activity.

4. The results obtained are of interest in terms of further study of the epiphysis structure under immunosuppression.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

фоне активизации иммунной системы, вызывающей, по-видимому, пролиферацию пинеалоцитов и изменение их функциональной активности.

4. Полученные результаты представляют интерес в плане дальнейшего изучения строения эпифиза в условиях иммуносупрессии.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Баринский И.Ф., Лазаренко А.А., Алимбарова Л.М. Изучение эффективности использования отечественных иммуномодуляторов, а также сочетанного их действия со специфическими вакцинами при экспериментальных арбовирусных инфекциях // Иммунология. 2012;33(4):181-183.
2. Бобрышева И.В. Иммуномодулятор «Имунофан» влияет на клеточный состав морфофункциональных зон тимуса крыс и замедляет его возрастную инволюцию // Вестн. РГМУ. 2016;3:38-42.
3. Этические вопросы использования животных в учебной работе и научных исследованиях: тез. докл. Белорусско-Британского симпозиума (Минск, 16–18 октября 1997 г.). Минск, 1998. 28 с.
4. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purpose. Council of Europe. Strasbourg, 1986. URL: <https://rm.coe.int/168007a67b> (дата обращения: 12.01.2023).

REFERENCES

1. Barinsky I.F., Lazarenko A.A., Alimbarova L.M. Efficacy of combined application of the home-manufactured immunomodulators and the specific inactivated vaccines under experimental arbovirus infections. *Immunologiya*. 2012;33(4):181-183. (In Russ.)
2. Bobrysheva I.V. Immunomodulator Imunofan affects cell profile of morphofunctional zones of rat thymus and delays its age-related involution. *Bulletin of RSMU*. 2016;3:38-42. (In Russ.)
3. *Ethical Issues of the Use of Animals in Educational Work and Scientific Research: Abstracts of Belarusian-British Symposium (Minsk, October 16–18, 1997)*. (1998). Minsk, 28 p. (In Russ.)
4. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purpose. Council of Europe. Strasbourg, 1986. URL: <https://rm.coe.int/168007a67b> (accessed 12.01.2023).
5. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. (2010). Washington, D.C.: National Academies Press. 220 p.

5. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. Washington, D.C.: National Academies Press, 2010. 220 p.
6. Захаров А.А., Дикая А.А. Органометрические особенности эпифиза белых крыс при иммуносупрессии // Морфолог. альманах им. В.Г. Ковешникова. 2021;19(2):53-57.
7. Борисов Н. Иммуномодуляторы. Укрепляем здоровье животных и птицы // Эффективное животноводство. 2021;2(168):42-45.
8. Линькова Н.С., Хавинсон В.Х., Трофимов А.В., Дудков А.В. Компенсаторное действие пептидов эпифиза на органы иммунной и эндокринной систем у эпифизэктомизированных крыс // Науч. ведомости Белгородского гос. ун-та. Серия: Медицина. Фармация. 2011;4-1(99):81-85.
9. Волков В.П. Функциональная морфология пинеальной железы при антипсихотической терапии // Universum: Медицина и фармакология. 2014;9(10):1.
10. Каладзе Н.Н., Соболева Е.М., Скоромная Н.Н. Итоги и перспективы изучения физиологических, патогенетических и фармакологических эффектов мелатонина // Здоровье ребенка. 2010;2(23):156-166.
6. Zakharov A.A., Dikaya A.A. Organometric features of the pineal gland of white rats at immunosuppression. *Morphological Almanac named after V.G. Koveshnikov*. 2021;19(2):53-57. (In Russ.)
7. Borisov N. Immunomodulators. Improving the health of farm animals and poultry. *Effective Animal Breeding*. 2021;2(168):42-45. (In Russ.)
8. Linkova N.S., Khavinson V.Kh., Trofimov A.V., Dudkov A.V. Peptides of pineal gland restored function of immune and endocrine systems in pinealectomized rats. *Belgorod State University Scientific Bulletin. Medicine. Pharmacy*. 2011;4-1(99):81-85. (In Russ.)
9. Volkov V.P. The functional morphology of the pineal gland at the antipsychotic therapy. *Universum. Medicine and Pharmacology*. 2014;9(10):1. (In Russ.)
10. Kaladze N.N., Soboleva Ye.M., Skromnaya E.M. Results and perspectives of study of physiological, pathogenetic and pharmacological effects of melatonin. *Child Health*. 2010;2(23):156-166. (In Russ.)

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Захаров Алексей Александрович – д-р мед. наук, доцент кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии ГУ ЛНР «Луганский государственный медицинский университет им. Святителя Луки», Луганск, Луганская Народная Республика. ORCID: 0000-0002-7377-2891.

Дикая Алина Александровна – ассистент кафедры микробиологии и вирусологии ГУ ЛНР «Луганский государственный медицинский университет им. Святителя Луки», Луганск, Луганская Народная Республика. ORCID: 0000-0002-6282-0966.

ABOUT THE AUTHORS

Alexey A. Zakharov – Dr. Sci. (Med.), Associate Professor, Department of Histology, Cytology and Embryology, St. Luka Lugansk State Medical University, Lugansk, Lugansk People's Republic. ORCID: 0000-0002-7377-2891.

Alina A. Dikaya – Assistant, Department of Microbiology and Virology, St. Luka Lugansk State Medical University, Lugansk, Lugansk People's Republic. ORCID: 0000-0002-6282-0966.

Микросателлитная нестабильность и гиперпластические процессы слизистой оболочки матки

Е.Л. Казачков, А.В. Затворницкая, Э.А. Казачкова, Е.Е. Воропаева

ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет», Челябинск, Россия

АННОТАЦИЯ

В в е д е н и е . Микросателлитная нестабильность исторически тесно связана с развитием онкологических процессов. Интерес вызывает ранняя диагностика микросателлитной нестабильности как предопухолевого маркера, в том числе и в случае гиперплазии эндометрия (ГЭ), признанной предопухолевым процессом. Идентификация мутационного профиля, характерного для злокачественных опухолей, при доброкачественном заболевании позволяет совершенствовать прогностические модели и терапевтическую тактику.

Ц е л ь . Определение клинико-анамнестических особенностей пациенток с ГЭ и эндометриоидной аденокарциномой в сравнительном аспекте, а также структурных особенностей микросателлитной нестабильности в эндометрии у пациенток с данной патологией.

М а т е р и а л ы и м е т о д ы . В исследовании приняли участие 120 женщин, которые были распределены в 4 группы: I группа – пациентки с ГЭ без атипии ($n = 30$); II группа – пациентки с атипичической ГЭ ($n = 30$); III группа – пациентки с эндометриоидной аденокарциномой ($n = 30$); IV группа – соматически и гинекологически здоровые женщины ($n = 30$). Проводили сравнительное морфологическое исследование образцов эндометрия и оценивали уровни экспрессии комплекса белков MLH-1, MSH-2, MSH-6 и PMS-2.

Р е з у л ь т а т ы . Выявлено, что большинство пациенток с ГЭ без атипии, атипичической ГЭ, эндометриоидной аденокарциномой предъявляют жалобы на аномальные маточные кровотечения; соматический анамнез пациенток данных групп отличается присутствием заболеваний сердечно-сосудистой и эндокринной систем, а для гинекологического анамнеза характерно наличие миомы матки, доброкачественных заболеваний молочных желез и воспалительных заболеваний органов малого таза. Зарегистрировано снижение уровня экспрессии MLH-1, PMS-2, MSH-2 и MSH-6 в биоптатах эндометрия женщин с ГЭ.

З а к л ю ч е н и е . Снижение уровня экспрессии MLH-1, PMS-2, MSH-2 и MSH-6 в биоптатах эндометрия, вероятно, можно рассматривать в качестве предиктора предопухоловой трансформации, что требует дальнейшего изучения с целью разработки программы оценки риска малигнизации.

Ключевые слова: микросателлитная нестабильность, гиперплазия эндометрия, эндометриоидная аденокарцинома.

Образец цитирования: Казачков Е.Л., Затворницкая А.В., Казачкова Э.А., Воропаева Е.Е. Микросателлитная нестабильность и гиперпластические процессы слизистой оболочки матки // Journal of Siberian Medical Sciences. 2023;7(2):62-76. DOI: 10.31549/2542-1174-2023-7-2-62-76

Microsatellite instability and hyperplastic processes of the uterine mucosa

E.L. Kazachkov, A.V. Zatvornitskaya, E.A. Kazachkova, E.E. Voropaeva

South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia

ABSTRACT

I n t r o d u c t i o n . Microsatellite instability is historically closely associated with the development of oncological processes. Early diagnosis of microsatellite instability as a marker for premalignancy, including in the case of endometrial

Поступила в редакцию 15.11.2022
Прошла рецензирование 05.06.2023
Принята к публикации 15.06.2023

Автор, ответственный за переписку
Затворницкая Александра Вадимовна: ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России. 454092, г. Челябинск, ул. Воровского, 64.
E-mail: monostyle@list.ru

Received 15.11.2022
Revised 05.06.2023
Accepted 15.06.2023

Corresponding author
Alexandra V. Zatvornitskaya: South Ural State Medical University, 64, Vorkovskogo str., Chelyabinsk, 454092, Russia.
E-mail: monostyle@list.ru

hyperplasia (EH), which is recognized as a premalignancy lesion, is of interest. Identification of the mutational profile characteristic of malignant tumors in benign disease makes it possible to improve prognostic models and therapeutic tactics.

A i m . Determination of clinical and anamnestic features of patients with EH and endometrioid adenocarcinoma in a comparative aspect, as well as structural features of microsatellite instability in the endometrium in patients with this pathology.

M a t e r i a l s a n d m e t h o d s . The study involved 120 women who were divided into 4 groups: group I – EH patients without atypia ($n = 30$); group II – patients with atypical EH ($n = 30$); group III – patients with endometrioid adenocarcinoma ($n = 30$); group IV – healthy women without somatic and gynecological pathology ($n = 30$). A comparative morphological study of endometrial samples was performed and levels of MLH-1, MSH-2, MSH-6 and PMS-2 expression were assessed.

R e s u l t s . It was revealed that most EH patients without atypia, patients with atypical EH, endometrioid adenocarcinoma complained of abnormal uterine bleeding; the history of patients of these groups is characterized by the presence of cardiovascular and endocrine diseases, and the gynecological history is characterized by the presence of uterine fibroids, benign breast diseases and pelvic inflammatory diseases. There was found a decrease in the MLH-1, PMS-2, MSH-2 and MSH-6 expression in endometrial biopsies of women with EH.

C o n c l u s i o n . Decreased expression of MLH-1, PMS-2, MSH-2 and MSH-6 in endometrial biopsies can probably be considered as a predictor of premalignant transformation, which requires further study in order to develop a program of malignancy risk assessment.

Keywords: microsatellite instability, endometrial hyperplasia, endometrioid adenocarcinoma.

Citation example: Kazachkov E.L., Zatvornitskaya A.V., Kazachkova E.A., Voropaeva E.E. Microsatellite instability and hyperplastic processes of the uterine mucosa. *J. of Siberian Medical Sciences*. 2023;7(2):62-76. DOI: 10.31549/2542-1174-2022-7-2-62-76

ВВЕДЕНИЕ

Согласно актуальному статистическому анализу заболеваемости населения России злокачественными новообразованиями и смертности от них в 2020 г., злокачественные заболевания эндометрия в структуре онкопатологии у женского населения занимают третье место (8 %), уступая лидирующие позиции раку молочной железы (21.7 %) и злокачественным новообразованиям кожи (12.5 %), что объясняет актуальность проблемы онкопрофилактики рака слизистой оболочки матки [1].

До 3 % генома человека составляет микросателлитная ДНК – участки повторяющихся друг за другом одинаковых олигонуклеотидных мотивов, или tandemных повторов. Мутации микросателлитной ДНК чаще всего бывают выражены в изменении количества повторов, что носит название микросателлитной нестабильности (microsatellite instability, MSI).

Причина MSI заключается в функциональной недостаточности системы репарации неспаренных нуклеотидов (mismatch repair, MMR) – комплекса белков (MLH-1, PMS-2, MSH-2, MSH-6), направленного на узнавание и восстановление коротких фрагментов некомплементарности ДНК. Любой из четырех возможных вариантов отсутствия экспрессии данных генов свидетель-

INTRODUCTION

According to the up-to-date statistical analysis of the cancer morbidity and mortality of the Russian population in 2020, malignant diseases of the endometrium in the structure of female oncopathology occupy the third place (8%), yielding leading positions to breast cancer (21.7%) and malignant neoplasms of the skin (12.5%), which explains the urgency of the problem of uterine cancer prevention [1].

Up to 3% of the human genome comprises microsatellite DNA – the sites of identical oligonucleotide motifs repeating one after another, or tandem repeats. Microsatellite DNA mutations are most often expressed in a change in the number of repeats, which is called microsatellite instability (MSI).

The reason for MSI is the functional insufficiency of the mismatch repair (MMR) system, a complex of proteins (MLH-1, PMS-2, MSH-2, MSH-6) aimed at recognizing and repairing short DNA mismatch fragments. Any of the four possible variants of the lack of expression of these genes indicates a deficiency of the MMR system, and therefore allows us to talk about the MSI presence [2, 3].

Since its discovery, the understanding of MSI has been closely related to tumor transformation [4]. MSI are changes in microsatellite sequences of tumor cells accompanied by deletions or insertions of one or more repeats [2–4].

ствует о дефиците системы MMR, а значит, позволяет говорить о наличии MSI [2, 3].

С момента открытия понимание MSI оказалось тесно связанным с опухолевой трансформацией [4]. MSI – изменения в микросателлитных последовательностях клеток опухолей, сопровождающиеся делециями или инсерциями одного или нескольких повторов [2–4].

Частота MSI существенно различается в зависимости от вида опухоли и стадии: наиболее часто MSI обнаруживается при эндометриоидном раке тела матки [5], раке желудка [6–8], толстой кишки [9–11], щитовидной железы [12], молочной железы [13].

В связи с тем, что MSI исторически тесно связана с развитием онкологических процессов, несомненный интерес по-прежнему вызывает ранняя диагностика MSI как предопухолевого маркера, в том числе и в случае гиперплазии эндометрия (ГЭ), признанной предопухолевым процессом [14, 15].

Идентификация мутационного профиля, характерного для злокачественных опухолей, при доброкачественном заболевании позволяет совершенствовать прогностические модели и терапевтическую тактику [16].

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Определить клиничко-anamnestические особенности пациенток с ГЭ и эндометриоидной аденокарциномой в сравнительном аспекте, а также структурные особенности микросателлитной нестабильности в эндометрии у пациенток с данной патологией.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проводили на базе гинекологического отделения ГБУЗ «Областной перинатальный центр» (Челябинск), на кафедре патологической анатомии и судебной медицины ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» (Челябинск) и ее клинической базе – ГБУЗ «Челябинское областное патологоанатомическое бюро». В I группу вошли 30 пациенток, у которых при гистологическом изучении биоптатов слизистой оболочки матки выявлена ГЭ без атипии; II группу составили 30 женщин с атипической ГЭ; III группу – 30 женщин с эндометриоидной аденокарциномой; IV группу – 30 соматически и гинекологически здоровых женщин, обратившихся с целью планирования беременности, гистологическое исследование образцов эндометрия которых выявило нормальную слизистую оболочку матки.

The incidence of MSI varies significantly depending on the type of tumor and stage: often MSI is found in uterine corpus cancer [5], stomach cancer [6–8], colon cancer [9–11], thyroid cancer [12], and breast cancer [13].

Due to the fact that MSI has historically been closely associated with the development of oncological processes, the early diagnosis of MSI as a marker for malignancy is still of great interest, including endometrial hyperplasia (EH), recognized as a premalignant lesion [14, 15].

Identification of the mutational profile characteristic of malignant tumors in benign disease makes it possible to improve prognostic models and therapeutic tactics [16].

AIM OF THE RESEARCH

To determine the clinical and anamnestic features of patients with EH and endometrioid adenocarcinoma in a comparative aspect, as well as structural features of microsatellite instability in the endometrium in patients with this pathology.

MATERIALS AND METHODS

The study was conducted on the basis of the Gynecological Department of the Regional Perinatal Center (Chelyabinsk), the Department of Pathological Anatomy and Forensic Medicine of the South Ural State Medical University (Chelyabinsk) and its clinical base, the Chelyabinsk Regional Pathology Bureau. Group I included 30 patients whose histological examination of uterine biopsy samples revealed EH without atypia; group II consisted of 30 women with atypical EH; group III – of 30 women with endometrioid adenocarcinoma; group IV – of 30 women without somatic and gynecological pathology who applied for pregnancy planning, histological examination of endometrial samples of which revealed a normal uterine mucosa. Inclusion criteria: informed consent to participate in the study, the age of patients older than 18 years. Exclusion criteria: adenomyosis, uterine fibroid which is eligible for surgical treatment, concomitant oncopathology of other organs.

Study design: single-stage non-randomized retrospective. Histological, immunohistochemical studies and statistical analysis were used.

Endometrial samples were taken on the 18–22nd day of the menstrual cycle by hysteroscopy-guided manual vacuum aspiration (in groups I, II, III) or by pipelle biopsy (in group IV). A comparative morphological study of uterine samples was carried out, interpreting the morphology in accordance with the

Критерии включения в исследование: информированное согласие на участие в исследовании, возраст пациенток старше 18 лет. Критерии не включения: аденомиоз, миома матки, подлежащая хирургическому лечению, сопутствующая онкопатология других органов.

Дизайн исследования: одномоментное нерандомизированное ретроспективное. Использовались гистологические, иммуногистохимические, статистические методы.

Образцы эндометрия получали на 18–22-й день менструального цикла с помощью мануальной вакуумной аспирации под контролем гистероскопии (в I, II, III группах) или путем пайпель-биопсии (в IV группе). Проводили сравнительное морфологическое исследование образцов слизистой оболочки матки, трактуя морфологические картины в соответствии с общепринятыми критериями. Гистологические препараты готовили по стандартным методикам [17]. Биоптаты эндометрия помещали в 10% раствор нейтрального формалина на 24 ч, затем обезживали, обезжиривали и парафинизировали в гистологическом автомате по общепринятой методике [18], изготавливали срезы толщиной 5 мкм. Депарафинизированные срезы окрашивали гематоксилином и эозином, пикрофуксином по ван Гизону. Гистологическое исследование образцов выполняли путем световой микроскопии при увеличении от $\times 70$ до $\times 1000$.

Уровень экспрессии MLH-1 в эндометрии определяли с помощью мышиных моноклональных антител (МКАТ) к MLH-1 (клон G168-728, Cell Marque, США); для анализа экспрессии MSH-2 использовали специфическую сыворотку к белку MSH-2 (клон G219-1129, Cell Marque, США), оценку уровня экспрессии MSH-6 осуществляли с использованием МКАТ к MSH-6 (клон 44, Cell Marque, США), а величину экспрессии PMS-2 оценивали с помощью МКАТ к PMS-2 (клон MRQ-28, Cell Marque, США). Изучение уровня экспрессии иммуногистохимических маркеров было основано на оценке площади коричневого окрашивания ядер и цитоплазмы пораженных клеток на всей площади среза. Для автоматического подсчета позитивно окрашенных клеток были выполнены электронные копии (сканы) микропрепаратов с помощью сканера гистологических препаратов Pannoramic 250 (3DHISTECH Ltd., Венгрия). Полученные сканы проанализированы с помощью программного обеспечения QuPath (сборка milestone 4) с применением нейросетевого алгоритма Pixel Classifier при помощи модуля расчета Positive cell detection

current criteria. Histological samples were prepared according to standard methods [17]. Endometrial biopsies were placed in a 10% neutral formalin solution for 24 hours, then dehydrated, cleared and embedded in paraffin with a tissue processor in accordance with the conventional method [18], sections 5 μm thick were made. The deparaffinized sections were stained with hematoxylin and eosin, with van Gieson's picrofuchsin. Histological examination of the samples was performed by light microscopy at magnification from $\times 70$ to $\times 1000$.

The level of MLH-1 expression in the endometrium was determined using mouse monoclonal antibodies (MoAbs) against MLH-1 (clone G168-728, Cell Marque, USA); to analyze the expression of MSH-2, a specific serum for MSH-2 protein (clone G219-1129, Cell Marque, USA) was used, the expression of MSH-6 was evaluated using MoAbs against MSH-6 (clone 44, Cell Marque, USA), and the expression of PMS-2 was evaluated using MoAbs against PMS-2 (clone of MRQ-28, Cell Marque, USA). The study of the expression level of immunohistochemical markers was based on the assessment of the area of brown staining of the nuclei and cytoplasm of the damaged cells over the entire area of the slice. For automated counting of positively stained cells, electronic copies (scans) of stained slides were performed using a Pannoramic 250 scanner (3DHISTECH Ltd., Hungary). The scans obtained were analyzed using QuPath software (milestone 4) using the Pixel Classifier neural network algorithm and the Positive Cell Detection (PCD) calculation module over the entire area of the scanned image (Fig. 1).

The comparison between the two groups was carried out by nonparametric statistical methods using the Mann-Whitney test; for comparison in more than 2 independent groups, the Kruskal-Wallis test was used. When evaluating qualitative variables, the actual and percentage frequencies of observations (n , %) were calculated. The probability of error was set at a level equal to 0.05. Calculations were performed using STATISTICA 13 software (StatSoft, Inc., USA).

RESULTS AND DISCUSSION

The average age of EH patients without atypia (group I) was 39.5 (34; 46.8) years, with atypical EH (group II) – 52.2 (48.7; 59.8) years, with endometrioid adenocarcinoma (group III) – 62 (61; 63) years; the average age of women who applied for pregnancy planning (group IV) was equal to 39 (35.5; 42.5) years.

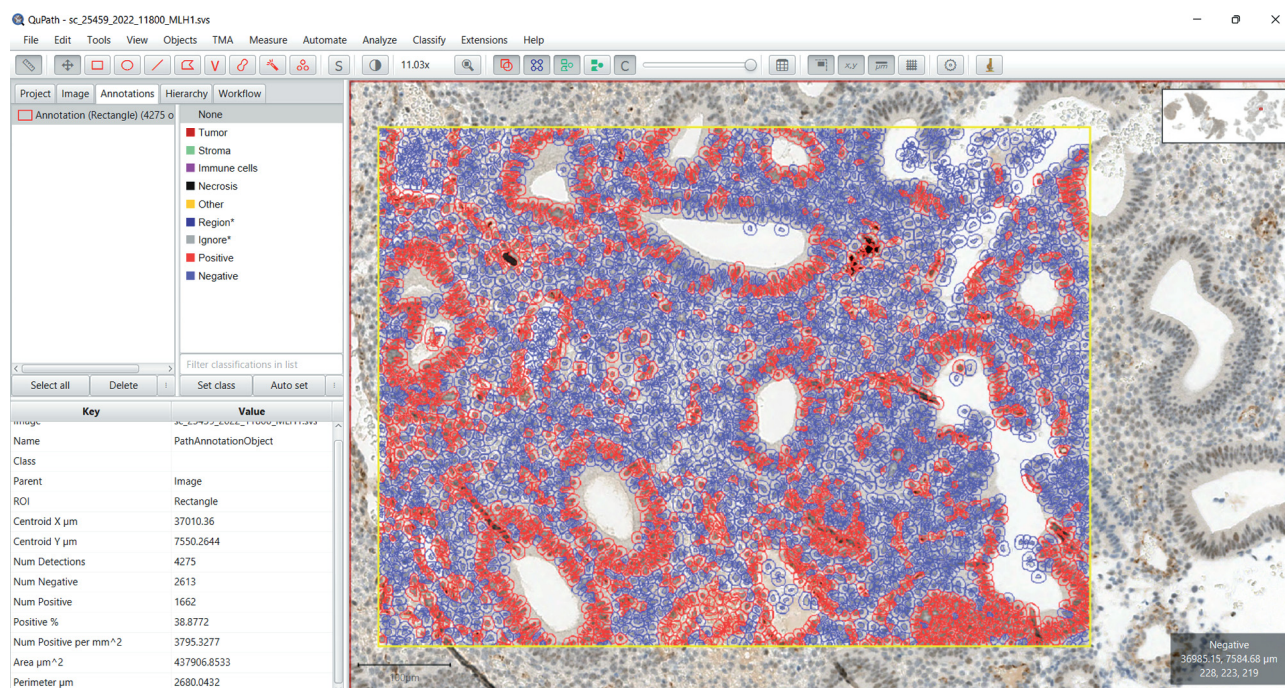


Рис. 1. Цифровое изображение содержимого экрана компьютера (скриншот) при выполнении цифрового анализа изображений QuPath, модуль расчета Positive cell detection (PCD).

Синий цвет – иммунонегативные клетки, красный – иммунопозитивные
Fig. 1. The screenshot when performing digital image analysis using QuPath, the Positive Cell Detection calculation module. Blue color – cells are immunonegative, red color – cells are immunopositive

(PCD) на всей площади отсканированного изображения (рис. 1).

Сравнение между двумя группами проводили с помощью непараметрических статистических методов с использованием критерия Манна – Уитни; для сравнения в более чем 2 независимых группах применяли критерий Краскела – Уоллиса. При оценке качественных показателей вычисляли фактические и процентные частоты наблюдений (n , %). Величину вероятности ошибки устанавливали на уровне, равном 0.05. Расчеты выполнены с использованием статистического пакета STATISTICA 13 (StatSoft, Inc., США).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Средний возраст пациенток с ГЭ без атипии (I группа) составил 39.5 (34; 46.8) года, с атипической ГЭ (II группа) – 52.2 (48.7; 59.8) года, с эндометриоидной аденокарциномой (III группа) – 62 (61; 63) года; средний возраст женщин, обратившихся с целью планирования беременности (IV группа), равнялся 39 (35.5; 42.5) годам.

Каждая вторая пациентка с гиперплазией эндометрия без атипии (I группа) предъявляла жалобы на нарушения менструального цикла по типу аномальных маточных кровотечений (14 (46.7 %)), каждая четвертая (7 (23.3 %)) обраща-

Every second patient with endometrial hyperplasia without atypia (group I) complained of menstrual irregularities of the abnormal uterine bleeding type (14 (46.7%)), every fourth (7 (23.3%)) sought medical help for oligomenorrhea, 12 (40%) women were examined for infertility, every tenth patient (3 (10%)) reported dysmenorrhea, one woman (3.3%) suffered from recurrent miscarriage. Patients with atypical endometrial hyperplasia (group II) and endometrial adenocarcinoma (group III) in 100% of cases sought medical help for menstrual irregularities of the abnormal uterine bleeding type, from scanty menstruation to heavy menstrual bleeding, leading to anemia. Women who applied for pregnancy planning (group IV) did not present any active complaints.

The analysis of somatic comorbidities showed that the pathology of the endocrine system prevailed in group I, which was observed in the absolute majority of patients in this group: every second patient (15 (50%)) suffered obesity, every fourth (8 (26.7%)) had thyroid disorders. In addition, pathology of the cardiovascular system was often encountered: in 9 (30%) cases – hypertension, in 5 (16.7%) – varicose veins of lower extremities, in 1 case (3.3%) – reticular veins. A similar pattern

лась за медицинской помощью ввиду олигоменореи, 12 (40 %) женщин обследовались по поводу бесплодия, каждая десятая пациентка (3 (10 %)) отмечала дисменорею, в одном случае (3.3 %) женщина страдала привычным невынашиванием беременности. Пациентки с атипической гиперплазией эндометрия (II группа) и аденокарциномой эндометрия (III группа) в 100 % случаев обращались за медицинской помощью с нарушением менструального цикла по типу аномальных маточных кровотечений от скудных выделений до обильных менструальных кровотечений, приводящих к анемизации. Женщины, обратившиеся с целью планирования беременности (IV группа), активных жалоб не предъявляли.

Анализ сопутствующей соматической патологии показал, что в I группе преобладала патология эндокринной системы, которая отмечалась у абсолютного большинства пациенток данной группы: каждая вторая пациентка (15 (50 %)) страдала ожирением, каждая четвертая (8 (26.7 %)) – патологией щитовидной железы. Кроме того, нередко встречалась патология сердечно-сосудистой системы: в 9 (30 %) случаях – гипертоническая болезнь, в 5 (16.7 %) – варикозная болезнь нижних конечностей, в 1 случае (3.3 %) – ретикулярный варикоз. Схожая картина наблюдалась в группах пациенток с атипической ГЭ (II группа) и аденокарциномой эндометрия (III группа): в структуре сопутствующей соматической патологии у данных женщин ведущие позиции также занимали эндокринные заболевания (18 (60 %) пациенток во II группе и 17 (56.7 %) женщин в III группе) и болезни сердечно-сосудистой системы (8 (26.7 %) случаев во II группе и 10 (33.3 % группы) – в III группе). Анализ соматического анамнеза у женщин, обратившихся с целью планирования беременности (IV группа), показал, что соматические заболевания у пациенток данной группы встречались статистически значимо реже в сравнении с пациентками I, II и III групп, в том числе болезни сердечно-сосудистой системы ($p_{IV, I} = 0.03$; $p_{IV, II} = 0.03$; $p_{IV, III} = 0.02$) и эндокринная патология ($p_{IV, I} = 0.01$; $p_{IV, II} = 0.01$; $p_{IV, III} = 0.02$).

Большинство женщин всех групп имели беременность в анамнезе: 26 (86.7 %) пациенток в I группе, 24 (80 %) – во II, 22 (73.3 %) – в III и 21 (70 %) пациентка в IV группе ($p > 0.05$). Хирургические аборт статистически значимо чаще регистрировались у пациенток I, II и III групп. Так, в I группе каждая вторая (15 (50 %)) имела в анамнезе хирургические аборт, во II группе – 17

was observed in the groups of patients with atypical EH (group II) and endometrial adenocarcinoma (group III): endocrine diseases (18 (60%) of patients in group II and 17 (56.7%) of women in group III) and cardiovascular diseases (8 (26.7%) cases in group II and 10 (33.3% group) in group III). The analysis of the somatic anamnesis in women who applied for pregnancy planning (group IV) showed that somatic diseases in patients of this group were significantly less common in comparison with patients of groups I, II and III, including cardiovascular diseases ($p_{IV, I} = 0.03$; $p_{IV, II} = 0.03$; $p_{IV, III} = 0.02$) and endocrine disorders ($p_{IV, I} = 0.01$; $p_{IV, II} = 0.01$; $p_{IV, III} = 0.02$).

The majority of women in all groups had a history of pregnancy: 26 (86.7%) patients in group I, 24 (80%) in group II, 22 (73.3%) in group III and 21 (70%) patients in group IV ($p > 0.05$). Surgical abortions were significantly more often in patients of groups I, II and III. Thus, in group I, every second (15 (50%)) had a history of surgical abortions, in group II – 17 (56.7%) patients, in group III – 16 (53.3%) women. In group IV, surgical abortions were significantly less common ($p = 0.04$) – in 9 (30%) patients.

The evaluation of the gynecological history showed that there were no statistically significant differences in gynecological diseases between EH patients without atypia, patients with atypical EH and endometrioid adenocarcinoma. All patients had comorbidities – benign breast diseases, uterine fibroids, pelvic inflammatory diseases (PID). Thus, among group I patients, in every fifth patient (6 (20%)), uterine fibroids or benign breast diseases were registered, and 5 (16.7%) women had PID. In group II, 7 (23.3%) patients had uterine fibroids, 5 (16.7%) patients had benign breast diseases, 5 (16.7%) women had PID. In group III, in 7 (23.3%) cases, there was a history of PID, in 6 (20%) – of uterine fibroids, and in 6 (20%) – of benign breast diseases ($p > 0.05$).

Histological examination of the uterine mucosa samples in EH patients without atypia showed an increase in the number of irregularly shaped endometrial glands, an increase in the glandular-stromal ratio, thinning of the inter-acinar septa. The indicator of the average area of immunopositive structures for MLH-1 in endometrial samples of patients of this group is 70.0 (34.5; 77.3) % (Fig. 2, A), for PMS-2 – 41.8 (24.9; 62.1) % (Fig. 2, B). In accordance with evaluation of the MSH-2 expression, the average area of immunopositive structures is 67.4 (54.0;

(56.7 %) пациенток, в III – 16 (53.3 %) женщин. В IV группе хирургические абортоты отмечались статистически значимо реже ($p = 0.04$) – у 9 (30 %) пациенток.

Оценка гинекологического анамнеза показала, что статистически значимых различий по гинекологическим заболеваниям между пациентками с ГЭ без атипии, атипической ГЭ и эндометриоидной аденокарциномой не было. Всех этих пациенток отличала коморбидность по доброкачественным заболеваниям молочных желез, миоме матки, воспалительным заболеваниям органов малого таза (ВЗОМТ). Так, среди пациенток I группы у каждой пятой пациентки (6 (20 %)) регистрировалась миома матки или доброкачественные заболевания молочных желез, а у 5 (16.7 %) женщин – ВЗОМТ. Во II группе гинекологический анамнез 7 (23.3 %) пациенток отличался присутствием миомы матки, для 5 (16.7 %) пациенток было характерно наличие доброкачественных заболеваний молочных желез, для 5 (16.7 %) женщин – ВЗОМТ. В III группе в 7 (23.3 %) случаях в анамнезе имели место ВЗОМТ, в 6 (20 %) – миома матки, также в 6 (20 %) – доброкачественные заболевания молочных желез ($p > 0.05$).

При гистологическом исследовании образцов слизистой оболочки матки у пациенток с ГЭ без атипии было отмечено увеличение числа эндометриальных желез неправильной формы, повышение уровня железисто-стромального соотношения, истончение межацинарных перегородок. Показатель средней площади иммунопозитивных структур в отношении MLH-1 в образцах эндометрия пациенток данной группы равняется 70.0 (34.5; 77.3) % (рис. 2, А), для PMS-2 – 41.8 (24.9; 62.1) % (рис. 2, В). По результатам оценки экспрессии MSH-2 средняя площадь иммунопозитивных структур составляет 67.4 (54.0; 75.9) % (рис. 2, С), по отношению к MSH-6 – 87.2 (61.3; 92.9) % (рис. 2, D).

При гистологическом анализе образцов эндометрия в случае атипической гиперплазии слизистой оболочки матки обращало на себя внимание, что на фоне увеличения железисто-стромального соотношения и изменения архитектоники желез регистрируется клеточная атипия, а именно утрата полярности расположения и необычная форма ядер, изрезанная ядерная мембрана, плотный, глыбчатый или просветленный хроматин. Ядра полиморфны, в них нередко обнаруживаются крупные ядрышки.

75.9) % (Fig. 2, C), for MSH-6 – 87.2 (61.3; 92.9) % (Fig. 2, D).

During histological examination of endometrial samples for atypical hyperplasia of the uterine mucosa, an attention was drawn to the fact that with an increase in the glandular-stromal ratio and changes in the glandular architectonics with cellular atypia is recorded, namely the loss of localization polarity and unusual shape of the nuclei, rugged nuclear membrane, dense, clumpy or cleared chromatin. The nuclei are polymorphic, with large nucleoli often found in them.

When evaluating the expression of MLH-1 in the endometrium of patients with atypical EH, it was found that the average area of immunopositive structures for this marker is 44.6 (19.5; 55.3) % (Fig. 3, A), the average area of immunopositive structures for PMS-2 is 38.5 (27.0; 49.3)% (Fig. 3, B). The expression of MSH-2 in patients of this group showed that the average area of immunopositive structures for this marker reaches 39.2 (31.8; 43.1)% (Fig. 3, C), for MSH-6 – 54.9 (50.5; 59.1) % (Fig. 3, D).

In endometrioid adenocarcinoma (group III), proliferation of rounded-oval glands was recorded, in most cases branched, irregular in shape, low or moderate cellular atypia was noted.

In accordance with the results of an immunohistochemical study, the average area of immunopositive structures for MLH-1 is 2.3 (0.0; 22.3) % (Fig. 4, A), for PMS-2 – 15.6 (0.0; 21.6) % (Fig. 4, B). The average area of immunopositive structures for MSH-2 in endometrial samples of patients of this group is 7.8 (0.0; 13.6) % (Fig. 4, C), for MSH-6 – 11.2 (0.0; 21.6) % (Fig. 4, D).

The uterine mucosa of women who applied for pregnancy planning (group IV) corresponded to the mid-secretory phase.

The immunohistochemical study revealed that the average area of immunopositive structures for MLH-1 is 86.5 (81.0; 92.0) % (Fig. 5, A), for PMS-2 – 83.5 (78.0; 87.0) % (Fig. 5, B). When evaluating the average area of immunopositive structures for MSH-2, this indicator is 82.3 (66.3; 97.0) % (Fig. 5, C), for MSH-6 – 92.5 (89.8; 97.0) % (Fig. 5, D).

Table 1 presents the results of the immunohistochemical study of the expression of MLH-1, MSH-2, MSH-6 and PMS-2 in endometrial samples of patients of the studied groups.

As seen from Table 1, a statistically significant decrease in the expression level of the studied markers (MLH-1, PMS-2, MSH-2, MSH-6) was recorded

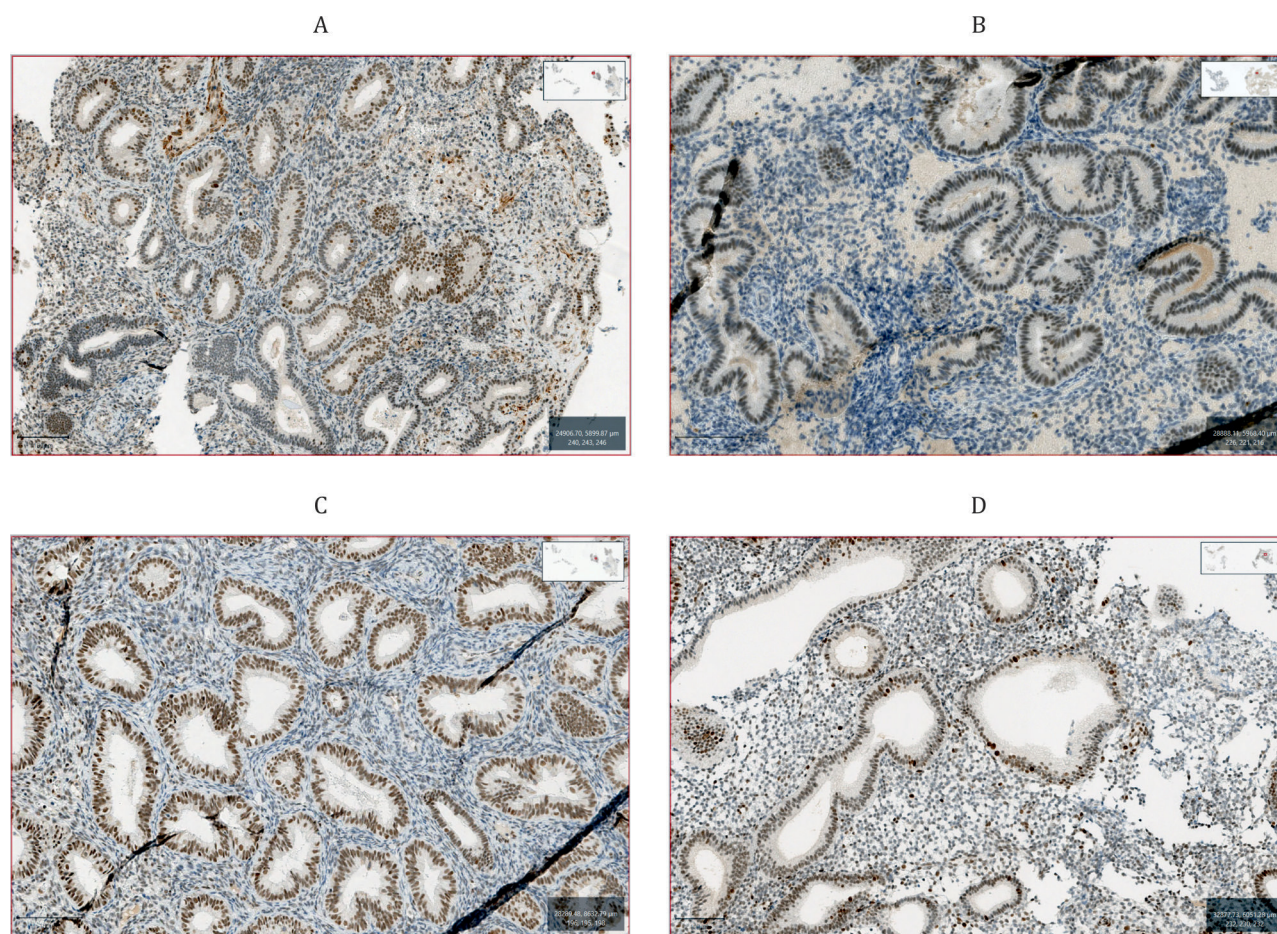


Рис. 2. Экспрессия рецепторов к белкам системы MMR при гиперплазии эндометрия без атипии.

Иммуногистохимический метод с применением моноклональных антител против:

A – MLH-1 (×100); B – PMS-2 (×100); C – MSH-2 (×200); D – MSH-6 (×200)

Fig. 2. Expression of receptors to MMR system proteins in endometrial hyperplasia without atypia.

Immunohistochemical method using monoclonal antibodies against:

A – MLH-1 (×100); B – PMS-2 (×100); C – MSH-2 (×200); D – MSH-6 (×200)

При оценке экспрессии MLH-1 в эндометрии пациенток с атипической ГЭ установлено, что средняя площадь иммунопозитивных структур в отношении данного маркера равняется 44.6 (19.5; 55.3) % (рис. 3, А), средняя площадь иммунопозитивных структур в отношении PMS-2 составляет 38.5 (27.0; 49.3) % (рис. 3, В). Анализ экспрессии MSH-2 у пациенток данной группы показал, что средняя площадь иммунопозитивных структур в отношении этого маркера достигает 39.2 (31.8; 43.1) % (рис. 3, С), в отношении MSH-6 – 54.9 (50.5; 59.1) % (рис. 3, D).

При эндометриоидной аденокарциноме (в III группе) регистрировали пролиферацию округло-овальных желез, в большинстве случаев разветвленных, неправильной формы, отмечали клеточную атипию низкой или умеренной степени.

in endometrial samples of the EH patients without atypia and patients with atypical EH compared with endometrial samples of the middle stage of the secretion phase. At the same time, the average area of immunopositive structures in the endometrium for studied markers in endometrioid adenocarcinoma is significantly lower than in the endometrium in EH without atypia, atypical EH, as well as in the normal endometrium of the mid-secretory phase. In addition, with atypical EH, there was a statistically significant decrease in the endometrial expression level of MLH-1, MSH-2 and MSH-6 in comparison with the endometrium of EH patients without atypia.

Thus, based on the results of the study, a comparative clinical and anamnestic characteristic of patients with EH and endometrioid adenocarcinoma is presented, which makes it possible to draw up a

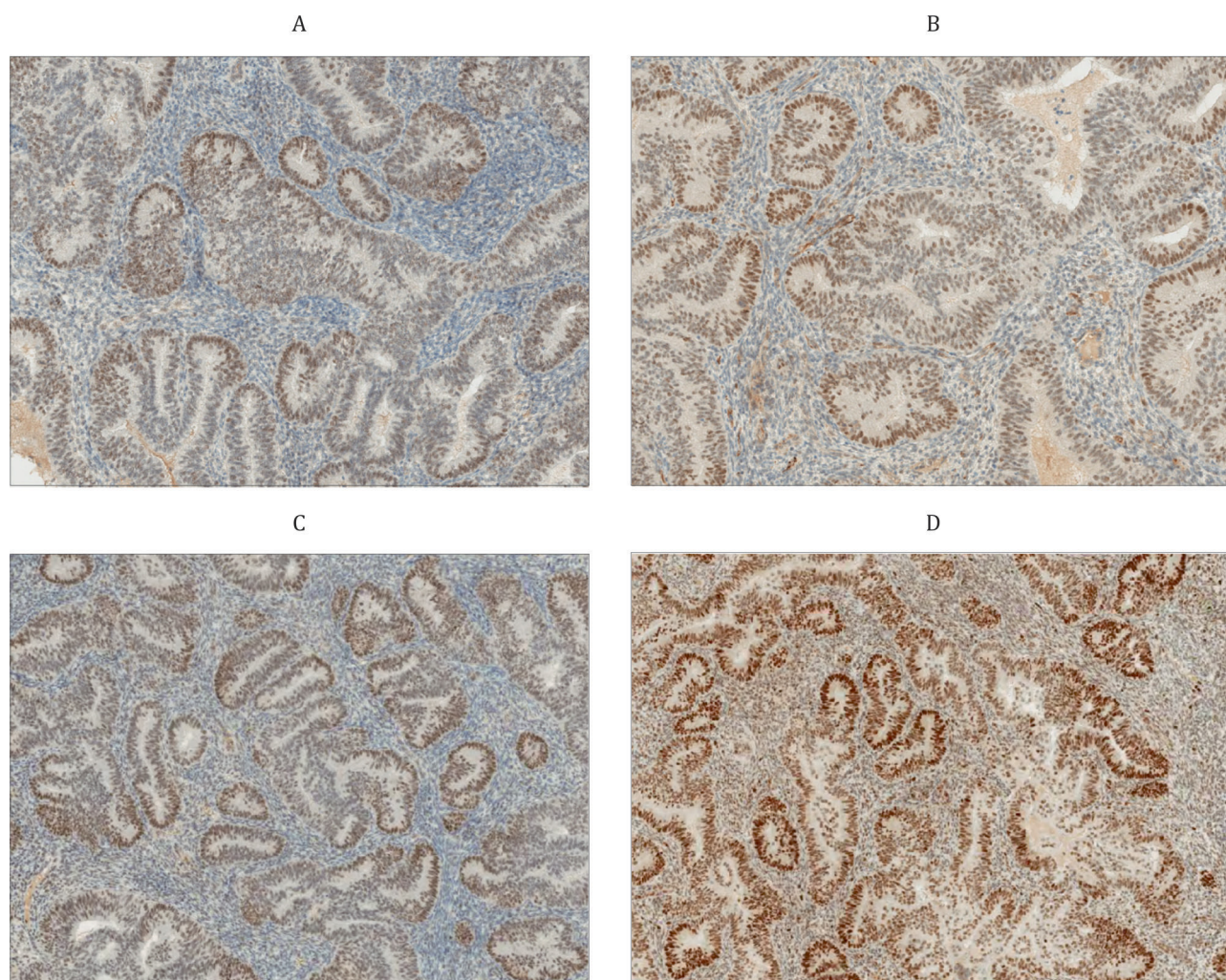


Рис. 3. Экспрессия рецепторов к белкам системы MMR при гиперплазии эндометрия с атипией.

Иммуногистохимический метод с применением моноклональных антител против:

A – MLH-1 ($\times 100$); B – PMS-2 ($\times 100$); C – MSH-2 ($\times 200$); D – MSH-6 ($\times 200$)

Fig. 3. Expression of receptors to MMR system proteins in endometrial hyperplasia with atypia.

Immunohistochemical method using monoclonal antibodies against:

A – MLH-1 ($\times 100$); B – PMS-2 ($\times 100$); C – MSH-2 ($\times 200$); D – MSH-6 ($\times 200$)

По результатам иммуногистохимического исследования установлено, что средняя площадь иммунопозитивных структур в отношении MLH-1 равняется 2.3 (0.0; 22.3) % (рис. 4, A), для PMS-2 – 15.6 (0.0; 21.6) % (рис. 4, B). Средняя площадь иммунопозитивных структур в отношении MSH-2 в образцах эндометрия пациенток данной группы составляет 7.8 (0.0; 13.6) % (рис. 4, C), по отношению к MSH-6 – 11.2 (0.0; 21.6) % (рис. 4, D).

Слизистая оболочка матки женщин, обратившихся с целью планирования беременности (IV группа), соответствовала средней стадии фазы секреции.

При иммуногистохимическом исследовании выявлено, что средняя площадь иммунопозитивных структур в отношении MLH-1 составляет 86.5

portrait of women with this pathology. Thus, patients with EH and endometrioid adenocarcinoma are characterized by cardiovascular and endocrine comorbidity, as well as by uterine fibroids, benign breast diseases and PID. This is consistent with the data of a number of domestic and foreign studies [19–23].

The described morphological features of the uterine mucosa in patients with EH, endometrioid adenocarcinoma, namely, a decrease in the expression of MMR proteins, are consistent with the results of studies by many authors. In the literature there are data about the structural features of MSI in premalignancies and tumor processes in gastrointestinal pathology, respiratory system diseases [24–26]. Experience has been gained with respect to the type

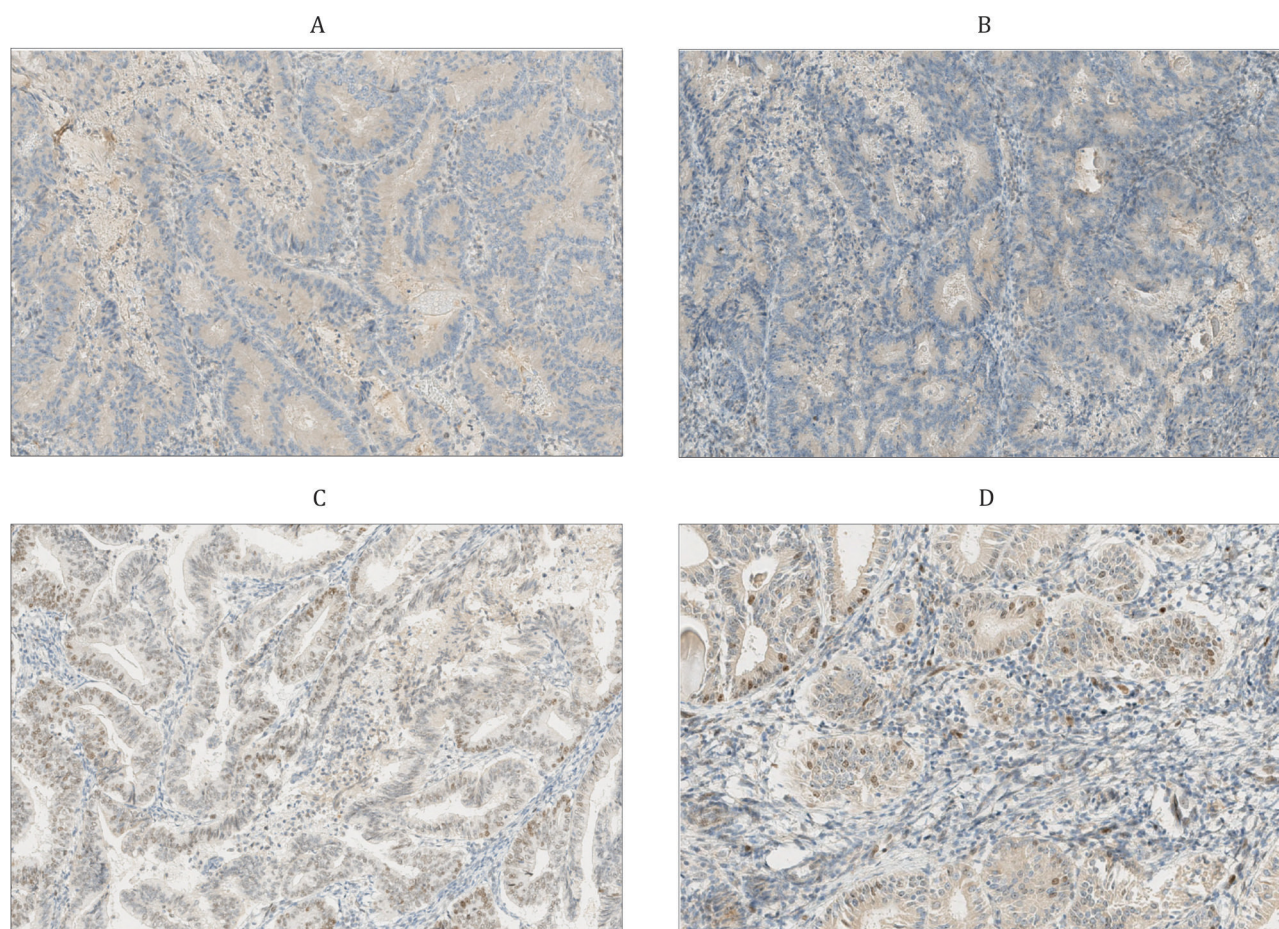


Рис. 4. Экспрессия рецепторов к белкам системы MMR при эндометриоидной аденокарциноме. Иммуногистохимический метод с применением моноклональных антител против:

A – MLH-1 (×200); B – PMS-2 (×100); C – MSH-2 (×200); D – MSH-6 (×200)

Fig. 4. Expression of receptors to MMR system proteins in endometrioid adenocarcinoma. Immunohistochemical method using monoclonal antibodies against: A – MLH-1 (×200); B – PMS-2 (×100); C – MSH-2 (×200); D – MSH-6 (×200)

(81.0; 92.0) % (рис. 5, A), в отношении PMS-2 – 83.5 (78.0; 87.0) % (рис. 5, B). При оценке средней площади иммунопозитивных структур по отношению к MSH-2 данный показатель равняется 82.3 (66.3; 97.0) % (рис. 5, C), для MSH-6 – 92.5 (89.8; 97.0) % (рис. 5, D).

В табл. 1 представлены результаты иммуногистохимического исследования уровней экспрессии MLH-1, MSH-2, MSH-6 и PMS-2 в образцах эндометрия пациенток изучаемых групп.

Как видно из табл. 1, зарегистрировано статистически значимое снижение уровня экспрессии изучаемых маркеров (MLH-1, PMS-2, MSH-2, MSH-6) в образцах эндометрия пациенток с ГЭ без атипии и атипической ГЭ по сравнению с образцами эндометрия средней стадии фазы секреции. Вместе с тем средняя площадь иммунопозитивных структур в эндометрии в отношении изучаемых маркеров при эндометриоидной аденокарциноме статистически зна-

of MSI for therapy of endometrioid adenocarcinoma [27–29]. At the same time, there are no data about the change of MSI in EH as a premalignancy of the endometrium in either domestic or foreign literature. The structural features of MSI revealed by us in EH, both without and with atypia, provide opportunities for further study of the problem of endometrial premalignancies.

CONCLUSION

The majority of EH patients without atypia, patients with atypical EH, endometrioid adenocarcinoma complain of abnormal uterine bleeding, the history of patients of these groups is characterized by cardiovascular and endocrine diseases, and the gynecological history is characterized by uterine fibroids, benign breast diseases and PID.

Samples of the uterine mucosa with atypical hyperplasia and hyperplasia without atypia differ significantly in lower levels of MLH-1, PMS-2,

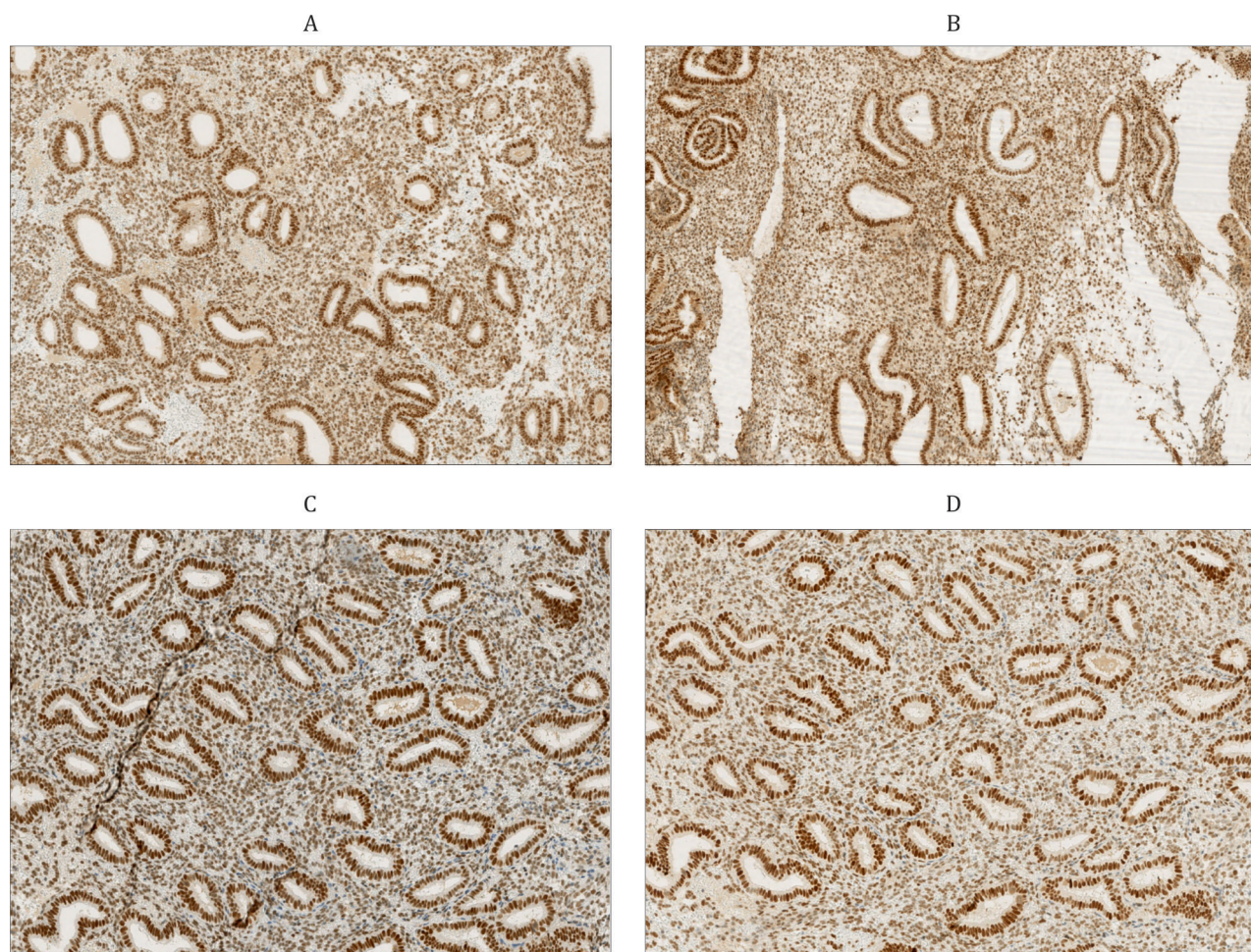


Рис. 5. Экспрессия рецепторов к белкам системы MMR в образцах эндометрия средней стадии фазы секреции. Иммуногистохимический метод с применением моноклональных антител против:

A – MLH-1 (×100); B – PMS-2 (×100); C – MSH-2 (×100); D – MSH-6 (×100)

Fig. 5. Expression of receptors to MMR system proteins in endometrial samples of the mid-secretory phase (group IV).

Immunohistochemical method using monoclonal antibodies against:

A – MLH-1 (×100); B – PMS-2 (×100); C – MSH-2 (×100); D – MSH-6 (×100)

чимо ниже, чем в эндометрии при ГЭ без атипии, атипической ГЭ, а также в нормальной эндометрии средней стадии фазы секреции. Кроме того, при атипической ГЭ отмечено статистически значимое снижение уровня экспрессии в эндометрии MLH-1, MSH-2 и MSH-6 в сравнении с эндометрием пациенток с ГЭ без атипии.

Таким образом, на основании результатов исследования представлена сравнительная клиничко-анамнестическая характеристика пациенток с ГЭ и эндометриоидной аденокарциномой, позволяющая составить портрет женщин с данной патологией. Так, для пациенток с ГЭ и эндометриоидной аденокарциномой характерна коморбидность по сердечно-сосудистыми заболеваниями и патологии эндо-

MSH-2 and MSH-6 expression in comparison with the samples of normal endometrium of the mid-secretory phase, and higher expression – in comparison with the endometrioid adenocarcinoma samples. In addition, with atypical EH, a significantly lower level of MLH-1, MSH-2 and MSH-6 expression in the endometrium is recorded compared to hyperplasia of the uterine mucosa without atypia. It is likely that a decrease in the expression of MLH-1, PMS-2, MSH-2 and MSH-6 in endometrial biopsies in EH can be considered as the predictor of premalignant transformation. The above trends require further study in order to develop a program of malignancy risk assessment.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Таблица 1. Результаты иммуногистохимического анализа уровня экспрессии MLH-1, MSH-2, MSH-6 и PMS-2 (%) в образцах эндометрия пациенток изучаемых групп**Table 1.** Results of the immunohistochemical study of the level of MLH-1, MSH-2, MSH-6 and PMS-2 expression (%) in endometrial samples of patients of the studied groups

Белок / Protein	I группа / Group I	II группа / Group II	III группа / Group III	IV группа / Group IV
MLH-1	70.0 (34.5; 77.3) $p_{I,II} = 0.03$ $p_{I,III} < 0.01$ $p_{I,IV} < 0.01$	44.6 (19.5; 55.3) $p_{II,III} < 0.01$ $p_{II,IV} < 0.01$	2.3 (0.0; 22.3) $p_{III,IV} < 0.01$	86.5 (81.0; 92.0)
MSH-2	67.4 (54.0; 75.9) $p_{I,II} = 0.03$ $p_{I,III} < 0.01$ $p_{I,IV} < 0.01$	39.2 (31.8; 43.1) $p_{II,III} = 0.01$ $p_{II,IV} < 0.01$	7.8 (0.0; 13.6) $p_{III,IV} < 0.01$	82.3 (66.3; 97.0)
MSH-6	87.2 (61.3; 92.9) $p_{I,II} = 0.04$ $p_{I,III} < 0.01$ $p_{I,IV} < 0.01$	54.9 (50.5; 59.1) $p_{II,III} < 0.01$ $p_{II,IV} < 0.01$	11.2 (0.0; 21.6) $p_{III,IV} < 0.01$	92.5 (89.8; 97.0)
PMS-2	41.8 (24.9; 62.1) $p_{I,II} > 0.05$ $p_{I,III} = 0.01$ $p_{I,IV} < 0.01$	38.5 (27.0; 49.3) $p_{II,III} < 0.01$ $p_{II,IV} < 0.01$	15.6 (0.0; 21.6) $p_{III,IV} < 0.01$	83.5 (78.0; 87.0)

кринных органов, а также по миоме матки, доброкачественным заболеваниям молочных желез и ВЗОМТ. Это согласуется с данными ряда отечественных и зарубежных исследований [19–23].

Описанные морфологические особенности слизистой оболочки матки у пациенток с ГЭ, эндометриоидной аденокарциномой, а именно снижение уровня экспрессии белков системы MMR, согласуются с результатами исследований многих авторов. В литературе есть сведения о структурных особенностях MSI при предопухолевых и опухолевых процессах в случае патологии желудочно-кишечного тракта, дыхательной системы [24–26]. Накоплен опыт в отношении типа MSI при планировании терапии эндометриоидной аденокарциномы [27–29]. В то же время сведений об изменении MSI при ГЭ как предопухолевом процессе эндометрия ни в отечественной, ни в зарубежной литературе не найдено. Зарегистрированные нами структурные особенности MSI при ГЭ как без атипии, так и атипической предоставляют возможности для дальнейшего изучения проблемы предопухолевых процессов эндометрия.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Большинство пациенток с ГЭ без атипии, с атипической ГЭ, эндометриоидной аденокарциномой предъявляют жалобы на аномальные

маточные кровотечения, соматический анамнез пациенток данных групп отличается присутствием заболеваний сердечно-сосудистой и эндокринной систем, а для гинекологического анамнеза характерно наличие миомы матки, доброкачественных заболеваний молочных желез и ВЗОМТ.

Образцы слизистой оболочки матки при атипической ГЭ и гиперплазии слизистой оболочки матки без атипии отличаются статистически значимо более низким уровнем экспрессии MLH-1, PMS-2, MSH-2 и MSH-6 в сравнении с образцами нормального эндометрия средней стадии фазы секреции и более высоким уровнем экспрессии – в сравнении с образцами эндометриоидной аденокарциномы. Кроме того, при атипической ГЭ регистрируется статистически значимо более низкий уровень экспрессии в эндометрии MLH-1, MSH-2 и MSH-6 по сравнению с гиперплазией слизистой оболочки матки без атипии. Вероятно, снижение уровня экспрессии MLH-1, PMS-2, MSH-2 и MSH-6 в биоптатах эндометрия при ГЭ можно рассматривать в качестве предиктора предопухолевой трансформации. Вышеуказанные тенденции требуют дальнейшего изучения с целью разработки программы оценки риска малигнизации.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Злокачественные новообразования в России в 2020 году (заболеваемость и смертность) / под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, А.О. Шахзадовой. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена, 2021. 252 с.
2. Сычевская К.А., Ерохина М.В., Кравченко С.К., Лепеха Л.Н. Нестабильность микросателлитных повторов при неопухолевых заболеваниях легких: взаимосвязь с воспалением // *Практ. пульмонология*. 2021;1:52-60.
3. Трякин А.А., Федянин М.Ю., Цуканов А.С. и др. Микросателлитная нестабильность как уникальная характеристика опухолей и предиктор эффективности иммунотерапии // *Злокачественные опухоли*. 2019;9(4):59-69. DOI: 10.18027/2224-5057-2019-9-4-59-69.
4. Chang L., Chang M., Chang H.M., Chang F. Microsatellite instability: a predictive biomarker for cancer immunotherapy // *Appl. Immunohistochem. Mol. Morphol.* 2018;26(2):e15-e21. DOI: 10.1097/PAI.0000000000000575.
5. Deshpande M., Romanski P.A., Rosenwaks Z., Gerhardt J. Gynecological cancers caused by deficient mismatch repair and microsatellite instability // *Cancers (Basel)*. 2020;12(11):3319. DOI: 10.3390/cancers12113319.
6. Мусаелян А.А., Оганян К.А., Назаров В.Д. и др. Микросателлитная нестабильность при раке желудка: основы и клиническое применение // *Эффективная фармакотерапия*. 2021;17(30):12-17. DOI: 10.33978/2307-3586-2021-17-30-12-17.
7. Pietrantonio F., Miceli R., Raimondi A. et al. Individual patient data meta-analysis of the value of microsatellite instability as a biomarker in gastric cancer // *J. Clin. Oncol.* 2019;37(35):3392-3400. DOI: 10.1200/JCO.19.01124.
8. Cai L., Sun Y., Wang K. et al. The better survival of MSI subtype is associated with the oxidative stress related pathways in gastric cancer // *Front. Oncol.* 2020;10:1269. DOI: 10.3389/fonc.2020.01269.
9. Мартыанов А.С., Кулигина Е.Ш., Романько А.А., Имянитов Е.Н. Молекулярно-генетическое тестирование рака толстой кишки: клинические аспекты // *Альманах клин. медицины*. 2022;50(1):1-12. DOI: 10.18786/2072-0505-2022-50-002.
10. Кит О.И., Геворкян Ю.А., Солдаткина Н.В. и др. Современные прогностические факторы при колоректальном раке // *Колопроктология*. 2021;20(2):42-49. DOI: 10.33878/2073-7556-2021-20-2-42-49.
11. Lin A., Zhang J., Luo P. Crosstalk between the MSI status and tumor microenvironment in colorectal cancer // *Front. Immunol.* 2020;11: 20-39. DOI: 10.3389/fimmu.2020.02039.
12. Mastronikolis N., Chrysovergis A., Tsiambas E., Kyrodimos E. Microsatellite instability (MSI) markers in thyroid carcinoma // *J. BUON*. 2021;26(3):1169.
13. Кузнецова О.А., Завалишина Л.Э., Андреева Ю.Ю. и др. Иммуногистохимическое исследование маркеров MSI при раке молочной железы // *Архив патологии*. 2021;83(1):12-17. DOI: 10.17116/2021830112.

REFERENCES

1. Kaprina A.D., Starinsky V.V., Shakhzadova A.O. (eds.) (2021). *Malignant Neoplasms in Russia in 2020 (Morbidity and Mortality)*. Moscow. 252 p. (In Russ.)
2. Sychevskaya K.A., Erokhina M.V., Kravchenko S.K., Lepekha L.N. Instability of microsatellite repeats in non-tumor lung diseases: association with inflammation. *Practical Pulmonology*. 2021;1:52-60. (In Russ.)
3. Tryakin A.A., Fedyanin M.Yu., Tsukanov A.S. et al. Microsatellite instability as a unique characteristic of tumors and a predictor of response to immune therapy. *Malignant Tumours*. 2019;9(4):59-69. DOI: 10.18027/2224-5057-2019-9-4-59-69. (In Russ.)
4. Chang L., Chang M., Chang H.M., Chang F. Microsatellite instability: a predictive biomarker for cancer immunotherapy. *Appl. Immunohistochem. Mol. Morphol.* 2018;26(2):e15-e21. DOI: 10.1097/PAI.0000000000000575.
5. Deshpande M., Romanski P.A., Rosenwaks Z., Gerhardt J. Gynecological cancers caused by deficient mismatch repair and microsatellite instability. *Cancers (Basel)*. 2020;12(11):3319. DOI: 10.3390/cancers12113319.
6. Musaelyan A.A., Ohanyan K.A., Nazarov V.D. et al. Microsatellite instability in gastric cancer: basic and clinical application. *Effective Pharmacotherapy*. 2021;17(30):12-17. DOI: 10.33978/2307-3586-2021-17-30-12-17. (In Russ.)
7. Pietrantonio F., Miceli R., Raimondi A. et al. Individual patient data meta-analysis of the value of microsatellite instability as a biomarker in gastric cancer. *J. Clin. Oncol.* 2019;37(35):3392-3400. DOI: 10.1200/JCO.19.01124.
8. Cai L., Sun Y., Wang K. et al. The better survival of MSI subtype is associated with the oxidative stress related pathways in gastric cancer. *Front. Oncol.* 2020;10:1269. DOI: 10.3389/fonc.2020.01269.
9. Martyanov A.S., Kuligina E.Sh., Romanko A.A., Imyanitov E.N. Molecular genetic testing in colon cancer: clinical aspects. *Almanac of Clinical Medicine*. 2022;50(1):1-12. DOI: 10.18786/2072-0505-2022-50-002. (In Russ.)
10. Kit O.I., Gevorkyan Yu.A., Soldatkina N.V. et al. Prognostic factors in colorectal cancer. *Koloproktologia*. 2021;20(2):42-49. DOI: 10.33878/2073-7556-2021-20-2-42-49. (In Russ.)
11. Lin A., Zhang J., Luo P. Crosstalk between the MSI status and tumor microenvironment in colorectal cancer. *Front. Immunol.* 2020;11: 20-39. DOI: 10.3389/fimmu.2020.02039.
12. Mastronikolis N., Chrysovergis A., Tsiambas E., Kyrodimos E. Microsatellite instability (MSI) markers in thyroid carcinoma. *J. BUON*. 2021;26(3):1169.
13. Kuznetsova O.A., Zavalishina L.E., Andreeva Yu.Yu. et al. Immunohistochemical study of MSI markers in breast cancer. *Arhiv Patologii*. 2021;83(1):12-17. DOI: 10.17116/2021830112. (In Russ.)
14. Kazachkov E.L., Voropaeva E.E., Kazachkova E.A. et al. (2019). *Pathomorphology of Premalignancies, Tumor-like Lesions and Endometrial Carcinomas. Guideline for Students of the System of Advanced Professional Education in the Specialties "Pathological*

14. Казачков Е.Л., Воропаева Е.Е., Казачкова Э.А. и др. Патоморфология предопухолевых процессов, опухолеподобных поражений и карцином эндометрия: учеб. пособие для слушателей системы дополнительного профессионального образования по специальностям «патологическая анатомия» и «акушерство и гинекология». Челябинск, 2019. 127 с.
15. Lax S.F., Mutter G.L. Endometrial atypical hyperplasia/endometrioid intraepithelial neoplasia // WHO Classification of Tumours. 5th ed. Female Genital Tumours / I.A. Cree, J. Ferlay, R. Jakob et al. (eds). IARC Publications. Lyon, 2020. P. 250–251.
16. Мусаелян А.А., Назаров В.Д., Будникова А.С. и др. Клинико-морфологический портрет опухолей с микросателлитной нестабильностью // Успехи молекулярной онкологии. 2021;8(2):52-59. DOI: 10.17650/2313-805X-2021-8-2-52-59.
17. Кондриков Н.И., Барина И.В. Патология матки. Руководство для врачей. М.: Практ. медицина, 2019. 352 с.
18. Меркулов Г.А. Курс патологоанатомической техники. Л., 1961. 340 с.
19. Артеменко Ю.С., Хамошина М.Б., Рябова В.А., Зюкина З.В. Ожирение у женщин: актуальные аспекты нарушений репродуктивного здоровья // Мед. совет. 2022;16(5):32-39. DOI: 10.21518/2079-701X-2022-16-5-32-39.
20. Дубик М.М. Факторы риска развития рака молочной железы // Scientist. 2022;1(19):19-21.
21. Оразов М.Р., Михалева Л.М., Муллина И.А. Гиперплазия эндометрия: современный взгляд на проблему // Акушерство и гинекология. Новости. Мнения. Обучение. 2022;3(37):62-65. DOI: 10.33029/2303-9698-2022-10-3-62-67.
22. Iversen M.L., Dueholm M. Complex non atypical hyperplasia and the subsequent risk of carcinoma, atypia and hysterectomy during the following 9–14 years // Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol. 2018;222:171-175. DOI: 10.1016/j.ejogrb.2018.01.026.
23. Sletten E.T., Arnes M., Lyså L.M. et al. Significance of progesterone receptors (PR-A and PR-B) expression as predictors for relapse after successful therapy of endometrial hyperplasia: a retrospective cohort study // BJOG. 2019;126(7):936-943. DOI: 10.1111/1471-0528.15579.
24. Донченко Д.В., Рагимов В.А., Дехисси Е.И., Станович У.С. Патогенетические аспекты предрака толстой кишки: ключ к решению проблемы колоректальной аденокарциномы // Вестн. Рос. науч. центра рентгенодиагностики. 2019;19(3):1-18.
25. van Velzen M.J.M., Derks S., van Grieken N.C.T. et al. MSI as a predictive factor for treatment outcome of gastroesophageal adenocarcinoma // Cancer Treat. Rev. 2020;86:102024. DOI: 10.1016/j.ctrv.2020.102024.
26. Cheng X., Wang X., Nie K. et al. Systematic pan-cancer analysis identifies TREM2 as an immunological and prognostic biomarker // Front. Immunol. 2021;12:646523. DOI: 10.3389/fimmu.2021.646523.
27. Королёва Е.И., Мусаелян А.А., Назаров В.Д. и др. Молекулярно-генетические особенности рака эндометрия и их взаимосвязь с клинико-морфологическими характеристиками // Молекулярная медицина. 2022;20(3):34-40. DOI: 10.29296/24999490-2022-03-06.
- anatomy” and “Obstetrics and Gynecology.” Chelyabinsk. 127 p. (In Russ.)
15. Lax S.F., Mutter G.L. Endometrial atypical hyperplasia/endometrioid intraepithelial neoplasia. In I.A. Cree, J. Ferlay, R. Jakob et al. (eds.) (2020). WHO Classification of Tumours. 5th ed. Female Genital Tumours. IARC Publications. Lyon. P. 250–251.
16. Musaelyan A.A., Nazarov V.D., Budnikova A.S. et al. Clinical and morphological portrait of tumors with microsatellite instability. Advances in Molecular Oncology. 2021;8(2):52-59. DOI: 10.17650/2313-805X-2021-8-2-52-59. (In Russ.)
17. Kondrikov N.I., Barinova I.V. (2019). Pathology of the Uterus. Guide for Doctors. Moscow. 352 p. (In Russ.)
18. Merkulov G.A. (1961). Course of Pathoanatomical Technique. Leningrad. 340 p. (In Russ.)
19. Artemenko Y.S., Khamoshina M.B., Ryabova V.A., Zyukina Z.V. Obesity in women: current aspects of reproductive health disorders. Meditsinskiy Sovet. 2022;16(5):32-39. DOI: 10.21518/2079-701X-2022-16-5-32-39. (In Russ.)
20. Dubik M.M. Breast cancer risk factors. Scientist. 2022;1(19):19-21. (In Russ.)
21. Orazov M.R., Mikhaleva L.M., Mullina I.A. Endometrial hyperplasia: a modern view of the problem. Obstetrics and Gynecology. News. Opinions. Education. 2022;3(37):62-65. DOI: 10.33029/2303-9698-2022-10-3-62-67. (In Russ.)
22. Iversen M.L., Dueholm M. Complex non atypical hyperplasia and the subsequent risk of carcinoma, atypia and hysterectomy during the following 9–14 years. Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol. 2018;222:171-175. DOI: 10.1016/j.ejogrb.2018.01.026.
23. Sletten E.T., Arnes M., Lyså L.M. et al. Significance of progesterone receptors (PR-A and PR-B) expression as predictors for relapse after successful therapy of endometrial hyperplasia: a retrospective cohort study. BJOG. 2019;126(7):936-943. DOI: 10.1111/1471-0528.15579.
24. Donchenko D.V., Rahimov V.A., Denisse E.I., Stanovjevic U.S. Pathogenetic aspects of precancerous colon: the key to solving the problem of colorectal adenocarcinoma. Vestnik of the Russian Scientific Center of Roentgenoradiology. 2019;19(3):1-18. (In Russ.)
25. van Velzen M.J.M., Derks S., van Grieken N.C.T. et al. MSI as a predictive factor for treatment outcome of gastroesophageal adenocarcinoma. Cancer Treat. Rev. 2020;86:102024. DOI: 10.1016/j.ctrv.2020.102024.
26. Cheng X., Wang X., Nie K. et al. Systematic pan-cancer analysis identifies TREM2 as an immunological and prognostic biomarker. Front. Immunol. 2021;12:646523. DOI: 10.3389/fimmu.2021.646523.
27. Koroleva E.I., Musaelyan A.A., Nazarov V.D. et al. Molecular markers of endometrial carcinoma and associated clinicopathological features. Molecular Medicine. 2022;20(3):34-40. DOI: 10.29296/24999490-2022-03-06. (In Russ.)
28. Rumyantsev A.A. Efficient sequence of therapy for advanced and metastatic endometrial cancer. Tumors of Female Reproductive System. 2022;18(2):119-126. DOI: 10.17650/1994-4098-2022-18-2-119-126. (In Russ.)
29. Roudko V., Cimen Bozkus C., Greenbaum B. et al. Lynch syndrome and MSI-H cancers: from mechanisms

28. Румянцев А.А. Рациональная последовательность терапии распространенного и метастатического рака эндометрия // Опухоли женской репродуктивной системы. 2022;18(2):119-126. DOI: 10.17650/1994-4098-2022-18-2-119-126
29. Roudko V., Cimen Bozkus C., Greenbaum B. et al. Lynch syndrome and MSI-H cancers: from mechanisms to “off-the-shelf” cancer vaccines // Front. Immunol. 2021;12:757-804. DOI: 10.3389/fimmu.2021.757804.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Казачков Евгений Леонидович – д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой патологической анатомии и судебной медицины им. проф. В.Л. Коваленко ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, Челябинск, Россия. ORCID: 0000-0002-2008-7671.

Затворницкая Александра Вадимовна – канд. мед. наук, ассистент кафедры патологической анатомии и судебной медицины им. проф. В.Л. Коваленко ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, Челябинск, Россия. ORCID: 0000-0002-9245-3749.

Казачкова Элла Алексеевна – д-р мед. наук, профессор кафедры акушерства и гинекологии ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, Челябинск, Россия. ORCID: 0000-0002-1175-4479.

Воропаева Екатерина Евгеньевна – д-р мед. наук, доцент, профессор кафедры патологической анатомии и судебной медицины им. проф. В.Л. Коваленко ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, Челябинск, Россия. ORCID: 0000-0003-0800-3380.

to “off-the-shelf” cancer vaccines. *Front. Immunol.* 2021;12:757-804. DOI: 10.3389/fimmu.2021.757804.

ABOUT THE AUTHORS

Evgeny L. Kazachkov – Dr. Sci. (Med.), Professor, Head, V.L. Kovalenko Department of Pathological Anatomy and Forensic Medicine, South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia. ORCID: 0000-0002-2008-7671.

Alexandra V. Zatzvornitskaya – Cand. Sci. (Med.), Assistant, V.L. Kovalenko Department of Pathological Anatomy and Forensic Medicine, South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia. ORCID: 0000-0002-9245-3749.

Ella A. Kazachkova – Dr. Sci. (Med.), Professor, Department of Obstetrics and Gynecology, South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia. ORCID: 0000-0002-1175-4479.

Ekaterina E. Voropaeva – Dr. Sci. (Med.), Associate Professor, Professor, V.L. Kovalenko Department of Pathological Anatomy and Forensic Medicine, South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia. ORCID: 0000-0003-0800-3380.

Роль цитокинов и регуляторных молекул клеточного цикла в прогнозировании достижения ответа на терапию у больных хроническим миелолейкозом

Т.Н. Александрова¹, И.И. Мулина², А.С. Лямкина¹, Е.С. Михайлова^{1,3}, А.И. Аутеншлюс^{1,3}, Н.В. Скворцова¹, Т.А. Агеева¹, Т.И. Поспелова¹

¹ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия

²ГБУ РС(Я) «Республиканская больница № 1 – Национальный центр медицины им. М.Е. Николаева», Якутск, Республика Саха (Якутия)

³ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины», Новосибирск, Россия

АННОТАЦИЯ

Введение. Несмотря на значительные успехи в терапии больных хроническим миелолейкозом (ХМЛ), улучшение показателей выживаемости, развитие резистентности к ингибиторам тирозинкиназ (ИТК) остается актуальной проблемой.

Цель. Изучить взаимосвязь уровня экспрессии на клетках костного мозга регуляторных белков p53, c-myc, ki-67 и каспазы-3 и концентрации отдельных про- и противовоспалительных цитокинов в сыворотке крови с эффективностью терапии больных ХМЛ.

Материалы и методы. Обследовано 74 пациента с ХМЛ в хронической фазе заболевания, получающих терапию ИТК. У всех обследованных пациентов проведено определение концентрации отдельных цитокинов и ростовых факторов (TNF- α , IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17, IL-18, IFN- α и VEGF-A) в сыворотке крови методом иммуноферментного анализа и иммуноцитохимическое исследование мазков костного мозга с моноклональными антителами против антигенов регуляторных молекул ki-67, p53, c-myc и каспазы-3. Для определения роли изучаемых биомаркеров в прогнозировании эффекта от терапии проведен сравнительный анализ их значений в группах больных, достигших ($n = 50$) и не достигших ($n = 24$) большого молекулярного ответа (БМО).

Результаты. Сравнительный анализ уровня экспрессии на клетках костного мозга регуляторных молекул и концентрации цитокинов, ростовых факторов в сыворотке крови больных ХМЛ в зависимости от глубины ответа на терапию ИТК показал, что у пациентов, не достигших БМО, отмечается достоверно более высокий уровень экспрессии каспазы-3 и концентрации провоспалительных цитокинов IL-1 β , IL-2, IL-6 и IL-17, а также ростового фактора VEGF-A по сравнению с таковым у пациентов с достигнутым ответом на терапию (БМО). В свою очередь, достижение БМО характеризовалось более высоким уровнем экспрессии регуляторных молекул p53 и c-myc, а также увеличением концентрации IL-10 и снижением концентрации IL-1 β , IL-2, IL-6 и IL-17. Анализ корреляционных взаимосвязей между уровнем экспрессии изучаемых регуляторных молекул и концентрацией отдельных цитокинов показал наличие статистически значимой отрицательной взаимосвязи c-myc и p53 с IL-2, IL-1 β , IL-17 и положительной (прямой) взаимосвязи c-myc и p53 с IL-10, прямой взаимосвязи между уровнем каспазы-3 и IL-2, IL-1 β , IL-6, IL-17 и обратной взаимосвязи между каспазой-3 и IL-10. Таким образом, достижение БМО у больных ХМЛ вероятнее при более высокой экспрессии на клетках костного мозга регуляторных молекул c-myc и p53, низкой экспрессии каспазы-3, а также низкой концентрации в сыворотке крови IL-2, IL-1 β , IL-17, IL-6 и высокой концентрации IL-10, что указывает на синергизм в участии изучаемых биомаркеров в патогенезе ХМЛ и его опухолевой прогрессии. Результаты ROC-анализа показали высокое качество прогностических моделей, характеризующих достижение БМО при уровне экспрессии в костном мозге c-myc > 6%, p53 > 4%, коррелирующем с низкими концентрациями в сыворотке крови IL-2, IL-1 β , IL-17 и высокой концентрацией IL-10, что указывает на возможность использования данных показателей в качестве потенциальных биомаркеров эффективности терапии ХМЛ и достижения БМО.

Поступила в редакцию 19.04.2023
Прошла рецензирование 24.04.2023
Принята к публикации 15.05.2023

Автор, ответственный за переписку
Александрова Туйара Никоновна: ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России. 630091, г. Новосибирск, Красный просп., 52.
E-mail: alexandrova_tuyara@mail.ru

Received 19.04.2023
Revised 24.04.2023
Accepted 15.05.2023

Corresponding author
Tujara N. Aleksandrova: Novosibirsk State Medical University, 52, Krasny prosp., Novosibirsk, 630091, Russia.
E-mail: alexandrova_tuyara@mail.ru

З а к л ю ч е н и е . Результаты исследования показали, что концентрация цитокинов в сыворотке крови больных ХМЛ коррелирует с интенсивностью экспрессии белков c-мис, р53, каспазы-3 и имеет значение в прогнозировании эффективности терапии.

Ключевые слова: хронический миелолейкоз, большой молекулярный ответ, ингибиторы тирозинкиназ, цитокины, апоптоз, клеточный цикл.

Образец цитирования: Александрова Т.Н., Мулина И.И., Лямкина А.С., Михайлова Е.С., Аутеншлюс А.И., Скворцова Н.В., Агеева Т.А., Поспелова Т.И. Роль цитокинов и регуляторных молекул клеточного цикла в прогнозировании достижения ответа на терапию у больных хроническим миелолейкозом // Journal of Siberian Medical Sciences. 2023;7(2):77-89. DOI: 10.31549/2542-1174-2023-7-2-77-89

The role of cytokines and cell cycle regulators in predicting of therapy response in patients with chronic myeloid leukemia

T.N. Aleksandrova¹, I.I. Mulina², A.S. Lyamkina¹, E.S. Mikhailova^{1,3}, A.I. Autenshlyus^{1,3}, N.V. Skvortsova¹, T.A. Ageeva¹, T.I. Pospelova¹

¹Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia

²Republican Hospital No. 1 – National Center of Medicine, Yakutsk, Republic of Sakha (Yakutia)

³Federal Research Center for Fundamental and Translational Medicine, Novosibirsk, Russia

ABSTRACT

Introduction. Despite significant advances in therapy of patients with chronic myeloid leukemia (CML), improved survival rates, development of resistance to tyrosine kinase inhibitors (TKIs) remains an urgent problem.

Aim. To study the correlation between the level of expression of regulatory proteins p53, c-myc, ki-67 and caspase-3 on the bone marrow cells and the concentration of certain pro- and anti-inflammatory cytokines in blood serum with the effectiveness of therapy in patients with CML.

Materials and methods. Seventy-four CML patients with chronic phase of the disease receiving TKI therapy were examined. In all patients, the concentration of certain cytokines and growth factors (TNF- α , IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17, IL-18, IFN- α , and VEGF-A) was determined in blood serum by enzyme immunoassay and immunocytochemical study of bone marrow smears with monoclonal antibodies against antigens of regulatory molecules ki-67, p53, c-myc, and caspase-3. To determine the role of the biomarkers in predicting the therapy effectiveness, a comparative analysis of their values in groups of patients with a major molecular response (MMR) ($n = 50$) and without MMR ($n = 24$) was performed.

Results. A comparative analysis of the expression of regulatory molecules on the bone marrow cells and the blood serum concentration of cytokines and growth factors of CML patients, depending on depth of the response to TKI therapy, showed that patients who did not achieve MMR had a significantly higher level of caspase-3 expression and concentration of pro-inflammatory cytokines IL-1 β , IL-2, IL-6 and IL-17, as well as growth factor VEGF-A compared with those in patients with MMR. In turn, the achievement of MMR was characterized by a higher level of expression of regulatory molecules p53 and c-myc, as well as an increase in the IL-10 concentration and a decrease in the IL-1 β , IL-2, IL-6 and IL-17 concentration. Analysis of the correlation between the level of expression of regulatory molecules and the single cytokine concentration showed a negative correlation between c-myc and p53 with IL-2, IL-1 β , IL-17 and a positive (direct) correlation between c-myc and p53 with IL-10, a positive correlation between caspase-3 and IL-2, IL-1 β , IL-6, IL-17 and a negative correlation between caspase-3 and IL-10. Thus, the achievement of MMR in patients with CML is more likely with a higher expression of regulatory molecules c-myc and p53 on the bone marrow cells, low expression of caspase-3, and low serum concentrations of IL-2, IL-1 β , IL-17, IL-6 and a high concentration of IL-10, which indicates synergism of the biomarkers in the pathogenesis of CML and its tumor progression. The ROC analysis results showed the high quality of predictive models characterizing the achievement of MMR at the level of expression of c-myc > 6%, p53 > 4% in the bone marrow, which correlates with a low serum concentrations of IL-2, IL-1 β , IL-17 and a high concentration of IL-10, and indicates the possibility of using these indicators as potential biomarkers of effectiveness of CML therapy and achievement of MMR.

Conclusion. The results of the study showed that the concentration of cytokines in the blood serum of CML patients correlates with the intensity of expression of c-myc, p53 and caspase-3 proteins and is important in predicting the effectiveness of therapy.

Keywords: chronic myeloid leukemia, major molecular response, tyrosine kinase inhibitors, cytokines, apoptosis, cell cycle.

Citation example: Aleksandrova T.N., Mulina I.I., Lyamkina A.S., Mikhailova E.S., Autenshlyus A.I., Skvortsova N.V., Ageeva T.A., Pospelova T.I. The role of cytokines and cell cycle regulators in predicting of therapy response in patients with chronic myeloid leukemia. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2023;7(2):77-89. DOI: 10.31549/2542-1174-2023-7-2-77-89

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время парадигма лечения больных хроническим миелолейкозом (ХМЛ) претерпевает изменения. Расширение арсенала ингибиторов тирозинкиназ (ИТК) и накопление клинического опыта их применения позволили рассматривать возможность отмены терапии у части пациентов при достижении стабильного глубокого молекулярного ответа (ГМО). Однако частота достижения ГМО на фоне непрерывной пятилетней терапии ИТК первого поколения (иматинибом) составляет только 30 %, а при применении терапии ИТК второго поколения (нилотиниб, дазатиниб, бозутиниб) – 30–55 % [1].

Поскольку ИТК не способны к эрадикации лейкемических стволовых клеток (ЛСК), которые являются субстратом молекулярного рецидива при попытке отмены терапии, изучение дополнительных механизмов, регулирующих глубину эрадикации опухолевого клона, представляет большую актуальность. На основании результатов многочисленных исследований было показано, что ведущая роль в развитии лекарственной резистентности к терапии и прогрессировании злокачественного процесса при многих опухолях, в том числе при ХМЛ, принадлежит нарушению пролиферативной активности опухолевых клеток и процессов апоптоза [2].

Использование биомаркеров, коррелирующих с уровнем экспрессии регуляторных молекул клеточного цикла и апоптоза, может являться дополнительным инструментом для прогнозирования эффективности и улучшения исходов терапии больных ХМЛ. Так, в качестве одного из таких потенциальных биомаркеров может рассматриваться концентрация цитокинов в сыворотке крови. Известно, что цитокины регулируют взаимоотношение ЛСК с их микроокружением, способствуют их выживанию и развитию резистентности к таргетной терапии [3]. Однако механизмы взаимосвязи маркеров пролиферативной активности и апоптоза с концентрацией цитокинов в сыворотке крови больных ХМЛ изучены недостаточно. Не определено их прогностическое значение в отношении достижения и глубины ответа на ИТК у больных ХМЛ. В связи с вышесказанным проведение настоящего исследования представляется весьма актуальным.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучение взаимосвязи уровня экспрессии регуляторных белков p53, c-myc, ki-67 и каспазы-3 на клетках костного мозга и концентрации

INTRODUCTION

Currently, the paradigm of the treatment of patients with chronic myeloid leukemia (CML) is changing. The expansion of the tyrosine kinase inhibitors (TKIs) range and the accumulation of clinical experience in their use made it possible to consider the possibility of withdrawal of therapy in some patients which achieved a deep molecular response (DMR). However, the rate of achieving DMR during permanent five-year therapy with first-generation TKIs (imatinib) is only 30%, while with second-generation TKIs (nilotinib, dasatinib, bosutinib) it is 30–55% [1].

Since TKIs are not capable of eradication of leukemic stem cells (LSCs), which are the substrate of molecular recurrence when trying to withdraw therapy, the study of additional mechanisms that regulate the depth of eradication of a tumor clone is of great relevance. Based on the results of numerous studies, it has been shown that a key role in the development of drug resistance and tumor progression in many tumors, including CML, belongs to an impairment of proliferative activity of tumor cells and apoptosis [2].

The use of biomarkers that correlate with the level of expression of cell cycle and apoptosis regulators can be an additional tool for predicting the effectiveness and improving therapy outcomes in patients with CML. Thus, the concentration of cytokines in blood serum can be considered as one of these potential biomarkers. It is known that cytokines regulate the relationship between LSCs and their microenvironment, promote their survival and the development of resistance to targeted therapy [3]. However, the mechanisms of the relationship between markers of proliferative activity and apoptosis with concentration of cytokines in the blood serum of patients with CML have not been studied enough. Their prognostic value in relation to the achievement and depth of response to TKIs in patients with CML has not been determined. Thus, the present study seems to be very relevant.

AIM OF THE RESEARCH

Study of the correlation between the level of expression of regulatory proteins p53, c-myc, ki-67 and caspase-3 on the bone marrow cells and the concentration of certain cytokines in blood serum with the effectiveness of therapy in patients with CML.

MATERIALS AND METHODS

The study included 74 CML patients with chronic phase of the disease receiving TKIs. The

отдельных цитокинов в сыворотке крови с эффективностью терапии больных ХМЛ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование было включено 74 пациента с ХМЛ в хронической фазе заболевания, получающих терапию ИТК. Средний возраст обследуемых составил 54 ± 14 года (95% доверительный интервал (ДИ) 50–57). Преобладали пациенты женского пола (26 (35.1 %) – мужчины и 48 (64.9 %) – женщины). Медиана времени наблюдения – 4 года (1–9). На момент включения в исследование терапия ИТК 1-го поколения (иматиниб) проводилась 48 (64.9 %) больным, ИТК 2-го поколения – 26 (35.1 %) больным. Среди ИТК 2-го поколения в 11 (14.9 %) случаях был назначен нилотиниб, в 11 (14.9 %) – дазатиниб и в 4 (5.3 %) – бозутиниб. Проводимая терапия позволила 50 (67.6 %) больным достичь большого молекулярного ответа (БМО). Определение фазы заболевания и глубины ответа проводилось согласно критериям European Leukemia Net 2020 г. [4]. Достижение БМО констатировали при уровне BCR/ABL ≤ 0.1 %.

Всем исследуемым больным проведено определение концентрации отдельных цитокинов и ростовых факторов (TNF- α , IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17, IL-18, IFN- α и VEGF-A) в сыворотке крови с помощью иммуноферментного анализа с использованием набора реагентов ИФА-БЕСТ (АО «Вектор-Бест», Россия), а также уровня экспрессии регуляторных молекул клеточного цикла и апоптоза (ki-67, белков p53, каспазы-3 и c-myc) в цитологических мазках костного мозга, полученных путем аспирационной биопсии. Для исследования иммунологического фенотипа опухолевых клеток использовался иммуноцитохимический метод с моноклональными антителами против антигенов ki-67, p53, c-myc и каспазы-3. В каждом поле подсчитывалось не менее 100 клеток. Число позитивных клеток определялось по следующим критериям: 0 позитивных клеток – отсутствие экспрессии; менее 25 % – низкая экспрессия; 25–50 % – средняя экспрессия; более 50 % – высокая экспрессия.

Статистический анализ проводился с использованием программы StatTech v. 3.0.6 (ООО «Статтех», Россия). Количественные показатели оценивались на предмет соответствия нормальному распределению с помощью критерия Колмогорова – Смирнова. Поскольку распределение количественных показателей отличалось от нормального, сравнение двух групп по количественному показателю выполнялось с

mean age of the subjects was 54 ± 14 years (95% confidence interval (CI) 50–57). Female patients predominated (26 (35.1%) men and 48 (64.9%) women). Median follow-up is 4 years (1–9). At the time of inclusion in the study, first-generation TKIs (imatinib) were administered to 48 (64.9%) patients, second-generation TKIs were administered to 26 (35.1%) patients. Among second generation TKIs, nilotinib was prescribed in 11 (14.9%) cases, dasatinib – in 11 (14.9%), and bosutinib – in 4 (5.3%) cases. The therapy allowed 50 (67.6%) patients to achieve a major molecular response (MMR). Determination of the disease phase and the depth of the response was carried out in accordance with the criteria of the European Leukemia Net 2020 [4]. Achievement of MMR was stated at BCR/ABL ≤ 0.1 %.

We determined the concentration of certain cytokines and growth factors (TNF- α , IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17, IL-18, IFN- α and VEGF-A) in blood serum using enzyme immunoassay (BEST ELISA diagnostic kit, JSC Vector-Best, Russia), as well as the level of expression of cell cycle and apoptosis regulatory molecules (ki-67, p53 proteins, caspase-3 and c-myc) in cytological smears of the bone marrow obtained during aspiration biopsy. To study the immunological phenotype of tumor cells, an immunocytochemical method was used with monoclonal antibodies against ki-67, p53, c-myc, and caspase-3 antigens. At least 100 cells were counted in each field. The positive cell count was determined according to the following criteria: 0 positive cells – no expression; <25% – low expression; 25–50% – average expression; >50% – high expression.

Statistical analysis was carried out using StatTech v. 3.0.6 (Stattech LLC, Russia). Quantitative indicators were evaluated for normal distribution using the Kolmogorov-Smirnov test. Since the quantitative indicators were not normally distributed, the comparison of two groups was performed using the Mann-Whitney *U*-test. Correlation analysis between two quantitative indicators was carried out using the Spearman's rank correlation coefficient.

To calculate the threshold value of the concentration of cytokines, as well as the level of expression of regulatory molecules, which were used to determine the group of favorable and unfavorable prognosis in relation to the probability of achieving MMR, the receiver operating characteristic (ROC) analysis was used. The criterion for choosing the cut-off threshold is the requirement of the maximum total sensitivity (Se) and specificity (Sp) of the model: Cut-off = max (Se + Sp). The separating

помощью *U*-критерия Манна – Уитни. Корреляционный анализ между двумя количественными показателями проводился с помощью коэффициента ранговой корреляции Спирмена.

Для вычисления порогового значения концентрации цитокинов, а также уровня экспрессии регуляторных молекул, с помощью которых определяли группу благоприятного и неблагоприятного прогноза в отношении вероятности достижения БМО, использовали метод построения ROC-кривых. Критерием выбора порога отсечения (cut-off) взято требование максимальной суммарной чувствительности (Se) и специфичности (Sp) модели: $\text{Cut-off} = \max(\text{Se} + \text{Sp})$. Разделяющее значение количественного признака в точке cut-off определялось по наивысшему значению индекса Юдена. Качество шкалы оценивали с помощью площади под ROC-кривой (AUC), величина которой в идеальной модели равняется 1.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Сравнительный анализ уровня экспрессии на клетках костного мозга регуляторных молекул ki-67, p53, c-myc, каспазы-3 и концентрации отдельных цитокинов и ростовых факторов TNF- α , IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17, IL-18, IFN- α и VEGF-A в сыворотке крови больных ХМЛ в зависимости от глубины ответа на терапию ИТК показал, что у пациентов, не достигших БМО, отмечается достоверно более высокий уровень экспрессии каспазы-3 и концентрации провоспалительных цитокинов IL-1 β , IL-2, IL-6 и IL-17, а также ростового фактора VEGF-A по сравнению с таковыми показателями пациентов с достигнутым ответом на терапию (БМО). В свою очередь, достижение БМО характеризовалось более высоким уровнем экспрессии регуляторных молекул p53 и c-myc, а также увеличением концентрации IL-10 и снижением концентрации IL-1 β , IL-2, IL-6 и IL-17 (табл. 1).

Анализ корреляционных взаимосвязей между уровнем экспрессии изучаемых регуляторных молекул и концентрацией отдельных цитокинов показал наличие статистически значимой отрицательной взаимосвязи c-myc и p53 с IL-2, IL-1 β , IL-17 и положительной (прямой) взаимосвязи c-myc и p53 с IL-10, а также прямой взаимосвязи между уровнем каспазы-3 и IL-2, IL-1 β , IL-6, IL-17 и обратной взаимосвязи между каспазой-3 и IL-10 (табл. 2).

Таким образом, достижение БМО у больных ХМЛ можно прогнозировать при более высокой экспрессии на клетках костного мозга регулятор-

value of a quantitative variable at the cut-off point was determined by the highest Youden's index. The quality of the scale was assessed using the area under the ROC curve (AUC), the value of which in the ideal model is 1.

RESULTS OF THE RESEARCH

A comparative analysis of the expression of regulatory molecules ki-67, p53, c-myc, caspase-3 on the bone marrow cells and the concentration of certain cytokines and growth factors TNF- α , IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17, IL-18, IFN- α , and VEGF-A in the blood serum of CML patients, depending on the depth of response to TKIs, showed that patients who did not achieve MMR had a significantly higher level of caspase-3 expression and concentration of pro-inflammatory cytokines IL-1 β , IL-2, IL-6, and IL-17, as well as growth factor VEGF-A compared with those of patients with MMR. In turn, the achievement of MMR was characterized by a higher level of expression of p53 and c-myc, as well as an increase in concentration of IL-10 and a decrease in the concentration of IL-1 β , IL-2, IL-6, and IL-17 (Table 1).

Analysis of correlation between the level of expression of the regulatory molecules and the concentration of certain cytokines showed the presence of the statistically significant negative correlation between c-myc and p53 with IL-2, IL-1 β , IL-17 and positive (direct) correlation between c-myc and p53 with IL-10, as well as the direct correlation between the level of caspase-3 and IL-2, IL-1 β , IL-6, IL-17 and negative correlation between caspase-3 and IL-10 (Table 2).

Thus, the achievement of MMR in patients with CML can be predicted with the higher expression of regulatory molecules c-myc and p53 on the bone marrow cells, low expression of caspase-3, and low blood serum concentrations of IL-2, IL-1 β , IL-17, IL-6, and high concentration of IL-10, which indicates the synergism of biomarkers in the pathogenesis of CML and its tumor progression (Table 2).

To calculate the threshold value of the cytokine concentration, as well as the level of expression of regulatory molecules, with the help of which the group of favorable and unfavorable prognosis for achieving MMR was determined, the ROC analysis was used. Based on the results of the ROC analysis, it was shown that the highest quality diagnostic models that predict the lack of response to TKI therapy were obtained for cytokines IL-1 β and IL-17 (Table 3). Thus, the cut-off value for concentration of IL-1 β with the highest sensitivity (86%) and specificity (75%) was 2.5 pg/ml (AUC = 0.831, 95% CI 0.788–

Таблица 1. Концентрация отдельных цитокинов в сыворотке крови и уровень экспрессии регуляторных белков на клетках костного мозга у больных ХМЛ с БМО и без БМО, Ме (Q₁–Q₃)**Table 1.** The concentration of certain cytokines in the blood serum and the level of expression of regulatory proteins on the bone marrow cells in CML patients with and without MMR, Me (Q₁–Q₃)

Маркер / Indicator	Больные с БМО Patients with MMR	Больные без БМО Patients without MMR	p
ki-67 (%)	58 (33–63)	50 (42–56)	0.260
Каспаза-3 / Caspase-3 (%)	18 (15–24)	28 (20–46)	<0.001*
p53 (%)	7 (5–8)	2 (2–3)	<0.001*
c-мус (%)	9 (6–11)	2 (1–5)	<0.001*
TNF-α (пг/мл) (pg/ml)	2.30 (1.50–4.88)	1.55 (1.00–2.93)	0.133
IL-2 (пг/мл) (pg/ml)	0.78 (0.78–0.78)	2.00 (2.00–2.00)	<0.001*
IL-1β (пг/мл) (pg/ml)	0.88 (0.88–2.10)	4.45 (2.41–6.60)	<0.001*
IL-6 (пг/мл) (pg/ml)	2.80 (1.75–4.28)	4.75 (2.88–12.35)	0.006*
IL-18 (пг/мл) (pg/ml)	294.25 (213.70–399.43)	252.90 (173.85–346.18)	0.265
IL-10 (пг/мл) (pg/ml)	4.85 (2.28–6.40)	2.65 (1.82–4.75)	0.039
IL-4 (пг/мл) (pg/ml)	3.67 (2.88–4.69)	3.80 (3.38–4.72)	0.161
IFN-α (пг/мл) (pg/ml)	5.60 (4.00–9.80)	5.00 (5.00–10.10)	0.947
IL-17 (пг/мл) (pg/ml)	0.70 (0.30–2.00)	4.90 (2.45–5.90)	<0.001*
VEGF-A (пг/мл) (pg/ml)	81.80 (45.20–265.40)	295.25 (205.55–442.93)	0,004*

П р и м е ч а н и я . ХМА – хронический миелолейкоз; БМО – большой молекулярный ответ.

* Различия показателей статистически значимы ($p < 0.05$).

N o t e . CML – chronic myeloid leukemia; MMR – major molecular response.

* Differences are statistically significant ($p < 0.05$).

ных молекул c-мус и p53, низкой экспрессии каспазы-3, а также низкой концентрации в сыворотке крови IL-2, IL-1β, IL-17, IL-6 и высокой концентрации IL-10, что указывает на синергизм изучаемых биомаркеров в патогенезе ХМЛ и его опухолевой прогрессии (см. табл. 2).

Для вычисления порогового значения концентрации цитокинов, а также уровня экспрессии регуляторных молекул, с помощью которых определяли группу благоприятного и неблагоприятного прогнозов в отношении вероятности достижения БМО, использовали метод построения ROC-кривых. По результатам проведенного ROC-анализа было показано, что наиболее качественные диагностические модели, позволяю-

0.952, $p < 0.001$), the cut-off for IL-17 concentration with the highest sensitivity (82.4%) and specificity (78.9%) was 2.3 pg/ml (AUC = 0.879, 95% CI 0.836–0.995, $p < 0.001$). Determination of the prognostic value of IL-2 concentration, despite a high quality of the model and high sensitivity, was characterized by a low specificity. Among regulatory molecules, the level of p53 and c-myc expression showed the highest prognostic value. The cut-off level of p53 expression with the highest sensitivity (90%) and specificity (95%) was 4% (AUC = 0.947, 95% CI 0.898–0.997, $p < 0.001$). The cut-off for the c-myc expression with the highest sensitivity (84%) and specificity (85%) was 6.0% (AUC = 0.920, 95% CI 0.858–0.983, $p < 0.001$) (see Table 3).

Таблица 2. Корреляционные взаимосвязи между уровнем экспрессии регуляторных белков на клетках костного мозга и концентрацией цитокинов в сыворотке крови больных хроническим миелолейкозом**Table 2.** Correlations between the expression level of regulatory proteins on the bone marrow cells and the blood serum concentration of cytokines in patients with chronic myeloid leukemia

	IL-1β	IL-2	IL-6	IL-10	IL-17
ki-67	rs = 0.262 $p = 0.029$	–	rs = 0.241 $p < 0.001$	rs = –0.164 $p < 0.001$	–
c-мус	rs = –0.555 $p < 0.001$	rs = –0.660 $p < 0.001$	rs = –0.241 $p = 0.045$	rs = 0.626 $p < 0.001$	rs = –0.623 $p < 0.001$
p53	rs = –0.575 $p < 0.001$	rs = –0.705 $p < 0.001$	rs = –0.254 $p = 0.034$	rs = 0.651 $p < 0.001$	rs = –0.742 $p < 0.001$
Каспаза-3 Caspase-3	rs = 0.546 $p < 0.001$	rs = 0.474 $p < 0.001$	rs = 0.407 $p < 0.001$	rs = –0.623 $p < 0.001$	rs = 0.563 $p < 0.001$

Таблица 3. Моделирование вероятности достижения большого молекулярного ответа в зависимости от уровня экспрессии регуляторных белков на клетках костного мозга и концентрации цитокинов в сыворотке крови у больных хроническим миелолейкозом**Table 3.** Modeling the probability of achieving a major molecular response depending on the level of expression of regulatory proteins on the bone marrow cells and the blood serum concentration of cytokines in patients with chronic myeloid leukemia

Цитокины, регуляторные молекулы Cytokines, regulatory molecules	Площадь под кривой Area under the curve	<i>p</i>	Пороговые значения* Threshold values*	Чувствительность / Sensitivity (%)	Специфичность / Specificity (%)
IL-2	0.803	<0.001	2.0	98.0	62.5
IL-1β	0.831	<0.001	2.5	86.0	75.0
IL-17	0.879	<0.001	2.3	82.4	78.9
Каспаза-3 / Caspase-3	0.802	<0.001	22.0	68.0	70.0
p53	0.947	<0.001	4.0	90.0	95.0
c-myc	0.920	<0.001	6.0	84.0	85.0

П р и м е ч а н и я . Значения площади под кривой: 0.9–1 – отличное качество модели; 0.8–0.9 – очень хорошее качество модели; 0.7–0.8 – хорошее качество модели; 0.6–0.7 – среднее качество модели; 0.5–0.6 – неудовлетворительное качество модели.

* Единицы измерения для IL-2, IL-1β, IL-17 – пг/мл; для каспазы-3, p53, c-myc – %.

N o t e . Area under the curve values: 0.9–1 – excellent quality of a model; 0.8–0.9 – highest quality of a model; 0.7–0.8 – high quality of a model; 0.6–0.7 – moderate quality of a model; 0.5–0.6 – unsatisfactory quality of a model.

* Units for IL-2, IL-1β, IL-17 – pg/ml; for caspase-3, p53, c-myc – %.

щие прогнозировать отсутствие ответа на терапию ИТК, были получены для цитокинов IL-1β и IL-17 (табл. 3). Так, оптимальная точка отсечения (cut-off) для значения концентрации IL-1β с наивысшей чувствительностью (86 %) и специфичностью (75 %) составила 2.5 пг/мл (AUC = 0.831, 95% ДИ 0.788–0.952, $p < 0.001$), cut-off для значения концентрации IL-17 с наивысшей чувствительностью (82.4 %) и специфичностью (78.9 %) составила 2.3 пг/мл (AUC = 0.879, 95% ДИ 0.836–0.995, $p < 0.001$). Определение прогностического значения концентрации IL-2, несмотря на очень хорошее качество модели и высокую чувствительность, характеризовалось низкой специфичностью. Среди регуляторных молекул наибольшую прогностическую значимость показали уровень экспрессии p53 и c-myc. Cut-off для значения степени экспрессии p53 с наивысшей чувствительностью (90 %) и специфичностью (95 %) составила 4 % (AUC = 0.947, 95% ДИ 0.898–0.997, $p < 0.001$). Cut-off для значения экспрессии c-myc с наивысшей чувствительностью (84 %) и специфичностью (85 %) составила 6.0 % (AUC = 0.920, 95% ДИ 0.858–0.983, $p < 0.001$) (см. табл. 3).

Таким образом, достижение БМО более вероятно при достижении концентраций IL-1β < 2.5 пг/мл и IL-17 < 2.3 пг/мл и уровня экспрессии p53 > 4 % и c-myc > 6 % соответственно.

ОБСУЖДЕНИЕ

В развитии резистентности к ИТК участвует множество механизмов, связанных как с мутаци-

Thus, the achievement of MMR is more likely at the concentration of IL-1β < 2.5 pg/ml and IL-17 < 2.3 pg/ml, and the level of p53 expression > 4% and c-myc > 6%, respectively.

DISCUSSION

Many mechanisms are involved in the development of resistance to TKIs, both associated with mutations in the chimeric *BCR/ABL* gene and independent of *BCR/ABL* mutations [4].

Currently, it is now known that regulatory signals coming from microenvironment cells play an important role in the survival of cancer progenitor cells. Cytokines, which are a key link in signaling between cells, act at all stages of leukemogenesis and also allow CML leukemic stem cells to persist in the setting of long-term targeted therapy [2].

It is known that at the onset of the disease, an increase in secretion of pro-inflammatory cytokines contributes to tumor progression, creating favorable conditions for proliferation of tumor cells. Later, during the course of the disease, the contribution of cytokines to the development of resistance to therapy increases [5].

The results of this study showed that the lack of an adequate response to therapy and failure to achieve MMR is characterized by a statistically significant increase in the blood serum concentration of certain pro-inflammatory cytokines and growth factors (IL-1β, IL-2, IL-17, IL-6 and VEGF- A) compared with those in patients with MMR which indicates the prognostic value of these biomarkers in predicting

ями химерного гена *BCR/ABL*, так и независимых от мутаций *BCR/ABL* [4].

В настоящее время известно, что важную роль в выживании опухолевых клеток-предшественников играют регуляторные сигналы, поступающие от клеток микроокружения. Цитокины, являющиеся ключевым звеном в передаче сигналов между клетками, действуют на всех этапах лейкогенеза, а также позволяют персистировать лейкоэмическим стволовым клеткам ХМЛ на фоне многолетней таргетной терапии [2].

Известно, что в дебюте заболевания повышение секреции провоспалительных цитокинов способствует прогрессии злокачественного процесса, создавая благоприятные условия для пролиферации опухолевых клеток. В дальнейшем, в ходе естественного течения заболевания возрастает вклад цитокинов в развитие резистентности к терапии [5].

Результатами настоящего исследования было показано, что отсутствие оптимального ответа на терапию и не достижение БМО характеризуется статистически значимым увеличением в сыворотке крови больных концентрации отдельных провоспалительных цитокинов и ростовых факторов (IL-1 β , IL-2, IL-17, IL-6 и VEGF-A) по сравнению с таковым у пациентов с БМО, что указывает на прогностическое значение данных биомаркеров в прогнозировании достижения ответа на терапию ИТК. Полученные результаты согласуются с данными литературы, свидетельствующими об увеличении концентрации цитокинов провоспалительного спектра и отдельных ростовых факторов (IL-1 β , IL-6, VEGF-A) среди больных, резистентных к терапии ИТК [6–8]. В единичных работах описана неблагоприятная роль высокого уровня IL-17 у больных с лейкозами, коррелирующая с худшими показателями выживаемости [9]. При солидных опухолях было показано, что IL-17 индуцирует синтез VEGF, концентрация которого также была повышена у рефрактерных больных, и усиливает ангиогенез опухоли [10].

Концентрация IL-10, наоборот, была достоверно выше среди больных, достигших БМО. На основании результатов многочисленных исследований, посвященных изучению роли IL-10 в канцерогенезе, к настоящему времени известно, что IL-10 при различных вариантах злокачественных новообразований может проявлять как про-, так и антионкогенные свойства [11]. Так, в исследовании G. Gerlini et al. было показано, что IL-10, являясь самым мощным противовоспалительным цитокином, может ингибировать секрецию провоспалительных цитокинов и снижать экспрес-

the achievement of response to TKI therapy. The results obtained are consistent with the literature data indicating an increase in the pro-inflammatory cytokine concentration and certain growth factors (IL-1 β , IL-6, VEGF-A) among patients resistant to TKI therapy [6–8]. A few studies describe the unfavorable influence of IL-17 high levels in patients with leukemia, which correlates with the worse survival rates [9]. In solid tumors, it was shown that IL-17 induces the synthesis of VEGF, concentration of which was also increased in patients who are refractory to therapy, and enhances tumor angiogenesis [10].

The concentration of IL-10, on the contrary, was significantly higher among patients who achieved MMR. Based on the results of numerous studies on the role of IL-10 in carcinogenesis, it is now known that IL-10 can exhibit both pro- and anti-oncogenic properties in various types of malignant neoplasms [11]. So, in the study by Gerlini et al. it was shown that IL-10, being the most powerful anti-inflammatory cytokine, can inhibit secretion of pro-inflammatory cytokines and reduce expression of the major histocompatibility complex (MHC) class I proteins by tumor cells, thereby increasing their sensitivity to the cytotoxic effect of natural killers and slowing down the growth of a tumor clone [12].

In the present study, the increased concentration of IL-10 in patients with MMR can be considered as a compensatory reaction, which indicates an anti-oncogenic effect and allows it to be used as a biomarker for achieving an objective tumor response to TKI therapy.

When evaluating the level of the bone marrow expression of proteins that regulate cell cycle, it was shown that the CML patients who did not achieve MMR are characterized by a significantly low expression of p53 and c-myc proteins on the bone marrow cells, but have a higher level of caspase-3 expression compared to patients who achieved MMR. This fact may be explained by the literature data according to which CML patients with constitutionally active BCR/ABL tyrosine kinase are characterized by activation of MDM2 protein, which is a p53 antagonist. Suppression of the p53 activity by MDM2 protein leads to a blockade of apoptosis and excessive proliferation of tumor cells [13]. The results of other studies confirm that the suppression of functional activity of p53 is associated with the progression of CML, as well as the development of resistance to TKIs [14]. In addition, it was shown

сию белков главного комплекса гистосовместимости (МНС) I класса опухолевыми клетками, за счет чего повышается их чувствительность к цитотоксическому влиянию натуральных киллеров и замедляется рост опухолевого клона [12].

В настоящем исследовании увеличение концентрации IL-10 у пациентов с достижением БМО можно рассматривать как компенсаторную реакцию, что свидетельствует об антионкогенном влиянии и позволяет использовать его в качестве биомаркера достижения объективного ответа на терапию ИТК.

При оценке уровня экспрессии в костном мозге белков, регулирующих клеточный цикл, показано, что больные ХМЛ, не достигшие БМО, характеризуются статистически значимо низкой экспрессией на клетках костного мозга белка p53 и c-myc, но более высоким уровнем экспрессии каспазы-3 по сравнению с пациентами, достигшими наилучшего ответа на терапию ИТК (БМО). Объяснением данного факта могут быть данные литературы, согласно которым больные ХМЛ с конституционально активной BCR/ABL-тирозинкиназой характеризуются активацией белка MDM2, являющегося антагонистом p53. Подавление активности p53 белком MDM2 приводит к блоку апоптоза и избыточной пролиферации опухолевых клеток [13]. Результаты других исследований подтверждают, что подавление функциональной активности p53 сопряжено с прогрессированием ХМЛ, а также развитием резистентности к ИТК [14]. Кроме того, было показано, что блокада MDM2, приводящая к повышению активности p53, повышает чувствительность культур клеток к ИТК и способствует более глубокой эрадикации лейкемических стволовых клеток ХМЛ [15].

C-myc – транскрипционный фактор, который стимулирует пролиферативную активность опухолевых клеток, ингибирует их апоптоз, регулирует метаболизм, способствует ангиогенезу и формированию клеток-предшественников опухоли [16]. Многие работы свидетельствуют о том, что высокий уровень экспрессии c-myc ассоциирован с худшим прогнозом при злокачественных новообразованиях. При ХМЛ также было показано, что гиперэкспрессия c-myc сопряжена с прогрессированием ХМЛ в бластный криз и худшим ответом на иматиниб [17]. Однако нами получены противоречивые данные, свидетельствующие о статистически значимо низком уровне экспрессии c-myc среди больных, не достигших БМО, что, вероятно, обусловлено большим количеством покоящихся клеток вне клеточного цикла, для которых характерен мини-

that the blockade of MDM2, which leads to the p53 activation, increases the sensitivity of cell lines to TKIs and favors deeper eradication of CML leukemic stem cells [15].

C-myc is a transcription factor that stimulates the proliferative activity of tumor cells, inhibits their apoptosis, regulates metabolism, promotes angiogenesis and the formation of tumor progenitor cells [16]. Many works indicate that a high level of c-myc expression is associated with a worse prognosis in malignant neoplasms. In CML, c-myc overexpression has also been shown to be associated with CML progression during blast crisis and worse response to imatinib [17]. However, we have obtained contradictory results indicating a significantly low level of the c-myc expression among patients who did not achieve MMR, which is probably due to a large number of out-of-cycle quiescent cells which are characterized by a minimum level of c-myc nuclear expression [18]. The paradoxical pro-oncogenic potential for decreased c-myc expression has been described in several studies which showed that a low level of protein maintains the proliferative activity of tumor cells, and when its expression thresholds levels are reached, pro-apoptotic molecules that trigger cell death are activated [19, 20]. Ji et al. showed that a low level of c-myc expression in hepatocellular carcinoma was associated with the worse survival rates compared to patients with a high level of expression [21].

In our study, the level of expression of caspase-3, the executioner caspase, that combines both intrinsic and extrinsic apoptotic pathways, turned out to be significantly higher among patients without MMR, which is consistent with the literature data and indicates a predominantly pro-oncogenic effect of this regulatory protein in CML [22].

In the literature, the opinions on the prognostic role of caspase-3 expression are contradictory. Previously, it was believed that a high level of caspase-3 in malignant neoplasms is an indicator of the effectiveness of anticancer therapy, demonstrating an increase in apoptosis of tumor cells. However, some studies indicate that in some variants of malignant neoplasms, a high level of procaspase-3 or its active form, caspase-3 is associated with an unfavorable prognosis of the disease [22, 23]. The definite mechanism of the pro-oncogenic effect of caspase remains unclear. It is assumed that a high level of caspase-3 enhances tumor angiogenesis in response to apoptosis, and also promotes genomic rearrangements and, thus, promotes the tumor progression [22].

мальный уровень ядерной экспрессии c-мус [18]. Парадоксальный проонкогенный потенциал снижения экспрессии c-мус описан в нескольких работах, результаты которых показали, что низкий уровень белка поддерживает пролиферативную активность опухолевых клеток, а при достижении пороговых значений его экспрессии активируются проапоптотические молекулы, запускающие гибель клеток [19, 20]. В работе F. Ji et al. низкий уровень экспрессии c-мус при гепатоцеллюлярной карциноме был ассоциирован с худшими показателями выживаемости по сравнению с больными с высоким уровнем экспрессии [21].

Уровень экспрессии каспазы-3, эффекторной каспазы, объединяющей внутренний и внешний пути апоптоза, в нашем исследовании оказался статистически значимо выше среди больных без БМО, что согласуется с данными литературы и указывает на преимущественно проонкогенный эффект данного регуляторного белка при ХМЛ [22].

В литературе мнения о прогностической роли экспрессии каспазы-3 противоречивы. Ранее считалось, что высокий уровень каспазы-3 при злокачественных новообразованиях является индикатором эффективности противоопухолевой терапии, демонстрирующим усиление процесса апоптоза опухолевых клеток. Однако часть исследований свидетельствует о том, что при некоторых вариантах злокачественных новообразований высокий уровень прокаспазы-3 или его активной формы каспазы-3 сопряжен с неблагоприятным прогнозом заболевания [22, 23]. Точный механизм проонкогенного эффекта каспазы остается неясным. Предполагается, что высокий уровень каспазы-3 усиливает ангиогенез опухоли в ответ на апоптоз, а также способствует геномным перестройкам и, таким образом, способствует прогрессированию опухолевого процесса [22].

Таким образом, цитохимическое исследование экспрессии регуляторных молекул p53, c-мус и каспазы-3 является потенциально полезным инструментом, позволяющим прогнозировать эффективность терапии больных ХМЛ. Наибольшее прогностическое значение в отношении предсказания достижения БМО имеет исследование уровня экспрессии на клетках костного мозга регуляторных молекул p53 и c-мус, обладающих наибольшей чувствительностью и специфичностью в ROC-анализе. Однако в реальной клинической практике проведение цитохимических исследований больным ХМЛ не всегда возможно.

Thus, a cytochemical study of expression of regulatory molecules p53, c-myc, and caspase-3 is a potentially useful tool to predict the effectiveness of therapy in patients with CML. The greatest prognostic value for the achievement of MMR has a study of the expression level of regulatory molecules p53 and c-myc, which have the highest sensitivity and specificity in ROC analysis, on the bone marrow cells. However, in real-life clinical practice, it is not always possible to conduct cytochemical studies in patients with CML.

The literature data indicate the impact of cytokine imbalance on the level of expression of regulatory proteins. Thus, it was shown that enhanced secretion of IL-1 β and IL-17 in patients with malignant neoplasms suppresses the p53 expression and, thus, promotes the tumor progression and development of resistance to therapy [24, 25]. Liu et al. it has been shown that pro-inflammatory signals inhibit the c-myc expression, although other works indicate that a number of cytokines, on the contrary, stimulate the expression of c-myc [26]. The results of our study revealed the presence of a statistically significant negative correlation between the level of expression of p53 and c-myc proteins in the bone marrow and the blood serum concentration of IL-1 β and IL-17 in CML patients, which confirms the ability of these pro-inflammatory cytokines to down-regulate the expression of p53 and c-myc in tumor cells and thereby contribute to their long-term persistence even in the setting of years-long targeted therapy.

CONCLUSION

The search for new prognostic biomarkers of treatment failure is important to improve understanding of the molecular mechanisms of resistance to TKIs. The study demonstrated that CML patients who did not achieve MMR are characterized by a significantly lower level of p53 and c-myc expression in the bone marrow but a higher level of caspase-3 which probably reflects the inhibition of the TKI-induced apoptosis of tumor cells. In addition, the level of expression of regulatory molecules correlated with the blood serum concentration of pro-inflammatory cytokines, which, in our opinion, has diagnostic and prognostic value. Determining the concentration of IL-1 β and IL-17 in CML patients may be a useful tool for the early identification of individuals not responding to TKI therapy.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Литературные данные свидетельствуют о влиянии цитокинового дисбаланса на уровень экспрессии регуляторных белков. Так, было показано, что гиперсекреция IL-1 β и IL-17 у больных злокачественными новообразованиями подавляет экспрессию p53 и, таким образом, способствует прогрессированию злокачественного процесса и развитию резистентности к терапии [24, 25]. В работе L. Liu et al. показано, что провоспалительные сигналы подавляют экспрессию с-туса, хотя другие работы свидетельствуют о том, что ряд цитокинов, наоборот, стимулируют экспрессию с-туса [26]. Результаты настоящего исследования выявили наличие статистически значимой обратной корреляционной взаимосвязи между уровнем экспрессии в костном мозге белков p53, с-туса и концентрацией IL-1 β и IL-17 в сыворотке крови больных ХМЛ, что подтверждает способность указанных провоспалительных цитокинов подавлять экспрессию p53 и с-туса на опухолевых клетках и тем самым способствовать их длительному персистированию даже на фоне многолетней таргетной терапии.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Cortes J., Lang F. Third-line therapy for chronic myeloid leukemia: current status and future directions // *J. Hematol. Oncol.* 2021;14(1):44. DOI: 10.1186/s13045-021-01055-9.
2. Zhang B., Ho Y.W., Huang Q. et al. Altered microenvironmental regulation of leukemic and normal stem cells in chronic myelogenous leukemia // *Cancer Cell.* 2012;21(4):577-592. DOI: 10.1016/j.ccr.2012.02.018.
3. Malireddi R.K.S., Karki R., Sundaram B. et al. Inflammatory cell death, PANoptosis, mediated by cytokines in diverse cancer lineages inhibits tumor growth // *Immunohorizons.* 2021;5(7):568-580. DOI: 10.4049/immunohorizons.2100059.
4. Hochhaus A., Baccarani M., Silver R.T. et al. European LeukemiaNet 2020 recommendations for treating chronic myeloid leukemia // *Leukemia.* 2020;34:966-984. DOI: 10.1038/s41375-020-0776-2.
5. Harrington P., Dillon R., Radia D. et al. Chronic myeloid leukaemia patients at diagnosis and resistant to tyrosine kinase inhibitor therapy display exhausted T-cell phenotype // *Br. J. Haematol.* 2022;198(6):1011-1015. DOI: 10.1111/bjh.18302.
6. Lee C.R., Kang J.A., Kim H.E. et al. Secretion of IL-1 β from imatinib-resistant chronic myeloid leukemia cells contributes to BCR-ABL mutation-independent imatinib resistance // *FEBS Lett.* 2016;590(3):358-368. DOI: 10.1002/1873-3468.12057.
7. Nievergall E., Reynolds J., Kok C.H. et al. TGF- α and IL-6 plasma levels selectively identify CML patients who fail to achieve an early molecular response or progress in the first year of therapy // *Leukemia.* 2016;3(6):1263-1272. DOI: 10.1038/leu.2016.34.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Поиск новых прогностических маркеров неэффективности терапии является важным для улучшения понимания молекулярных механизмов развития резистентности к ИТК. Проведенное исследование продемонстрировало, что больные ХМЛ, не достигшие БМО, характеризуются достоверно более низким уровнем экспрессии в костном мозге p53 и с-туса, но более высоким уровнем каспазы-3, что, вероятно, отражает ингибирование ИТК-индуцированного апоптоза опухолевых клеток. Кроме того, уровень экспрессии регуляторных молекул коррелировал с концентрацией в сыворотке крови провоспалительных цитокинов, что, по нашему мнению, имеет диагностическую и прогностическую ценность. Определение концентраций IL-1 β и IL-17 у больных ХМЛ может являться полезным инструментом для раннего выявления лиц с неудачей терапии ИТК.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

REFERENCES

1. Cortes J., Lang F. Third-line therapy for chronic myeloid leukemia: current status and future directions. *J. Hematol. Oncol.* 2021;14(1):44. DOI: 10.1186/s13045-021-01055-9.
2. Zhang B., Ho Y.W., Huang Q. et al. Altered microenvironmental regulation of leukemic and normal stem cells in chronic myelogenous leukemia. *Cancer Cell.* 2012;21(4):577-592. DOI: 10.1016/j.ccr.2012.02.018.
3. Malireddi R.K.S., Karki R., Sundaram B. et al. Inflammatory cell death, PANoptosis, mediated by cytokines in diverse cancer lineages inhibits tumor growth. *Immunohorizons.* 2021;5(7):568-580. DOI: 10.4049/immunohorizons.2100059.
4. Hochhaus A., Baccarani M., Silver R.T. et al. European LeukemiaNet 2020 recommendations for treating chronic myeloid leukemia. *Leukemia.* 2020;34:966-984. DOI: 10.1038/s41375-020-0776-2.
5. Harrington P., Dillon R., Radia D. et al. Chronic myeloid leukaemia patients at diagnosis and resistant to tyrosine kinase inhibitor therapy display exhausted T-cell phenotype. *Br. J. Haematol.* 2022;198(6):1011-1015. DOI: 10.1111/bjh.18302.
6. Lee C.R., Kang J.A., Kim H.E. et al. Secretion of IL-1 β from imatinib-resistant chronic myeloid leukemia cells contributes to BCR-ABL mutation-independent imatinib resistance. *FEBS Lett.* 2016;590(3):358-368. DOI: 10.1002/1873-3468.12057.
7. Nievergall E., Reynolds J., Kok C.H. et al. TGF- α and IL-6 plasma levels selectively identify CML patients who fail to achieve an early molecular response or progress in the first year of therapy. *Leukemia.* 2016;3(6):1263-1272. DOI: 10.1038/leu.2016.34.

8. Kvasnicka H.M., Thiele J., Staib P. et al. Reversal of bone marrow angiogenesis in chronic myeloid leukemia following imatinib mesylate (STI571) therapy // *Blood*. 2004;103(9):3549-3551. DOI: 10.1182/blood-2003-08-2734.
9. Han Y., Ye A., Bi L. et al. Th17 cells and interleukin-17 increase with poor prognosis in patients with acute myeloid leukemia // *Cancer Sci*. 2014;105(8):933-942. DOI: 10.1111/cas.12459.
10. Соснина А.В., Великая Н.В., Вараксин Н.А. и др. Роль цитокинов в патогенезе злокачественных новообразований. Новосибирск, 2014. 128 с.
11. Mannino M.H., Zhu Z., Xiao H. et al. The paradoxical role of IL-10 in immunity and cancer // *Cancer Lett*. 2015;367(2):103-107. DOI: 10.1016/j.canlet.2015.07.009.
12. Gerlini G., Tun-Kyi A., Dudli C. et al. Metastatic melanoma secreted IL-10 down-regulates CD1 molecules on dendritic cells in metastatic tumor lesions // *Am. J. Pathol*. 2004;165(6):1853-1863. DOI: 10.1016/S0002-9440(10)63238-5.
13. Goetz A.W., van der Kuip H., Maya R. et al. Requirement for Mdm2 in the survival effects of Bcr-Abl and interleukin 3 in hematopoietic cells // *Cancer Res*. 2001;61(20):7635-7641.
14. Velasco-Hernández T., Vicente-Dueñas C., Sánchez-García I. et al. p53 restoration kills primitive leukemia cells in vivo and increases survival of leukemic mice // *Cell Cycle*. 2013;12(1):122-132. DOI: 10.4161/cc.23031.
15. Carter B.Z., Mak P.Y., Mak D.H. Synergistic effects of p53 activation via MDM2 inhibition in combination with inhibition of Bcl-2 or Bcr-Abl in CD34⁺ proliferating and quiescent chronic myeloid leukemia blast crisis cells // *Oncotarget*. 2015;6(31):30487-30499. DOI: 10.18632/oncotarget.5890.
16. Duffy M.J., O'Grady S., Tang M., Crown J. MYC as a target for cancer treatment // *Cancer Treat. Rev*. 2021;94:102154. DOI: 10.1016/j.ctrv.2021.102154.
17. Pippa R., Odero M.D. The role of MYC and PP2A in the initiation and progression of myeloid leukemias // *Cells*. 2020;9(3):544. DOI: 10.3390/cells9030544.
18. Elbadawy M., Usui T., Yamawaki H., Sasaki K. Emerging roles of c-Myc in cancer stem cell-related signaling and resistance to cancer chemotherapy: a potential therapeutic target against colorectal cancer // *Int. J. Mol. Sci*. 2019;20(9):2340. DOI: 10.3390/ijms20092340.
19. Akita H., Marquardt J.U., Durkin M.E. et al. MYC activates stem-like cell potential in hepatocarcinoma by a p53-dependent mechanism // *Cancer Res*. 2014;74(20):5903-5913. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-14-0527.
20. Miller D.M., Thomas S.D., Islam A. et al. c-Myc and cancer metabolism // *Clin. Cancer Res*. 2012;18(20):5546-5553. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-12-0977.
21. Ji F., Zhang Zh., Zhang Y. et al. Low expression of c-Myc protein predicts poor outcomes in patients with hepatocellular carcinoma after resection // *BMC Cancer*. 2018;18(1):460. DOI: 10.1186/s12885-018-4379-5.
22. Yang X., Zhong D.N., Qin H. et al. Caspase-3 overexpression is associated with poor overall survival and clinicopathological parameters in breast cancer: a meta-analysis of 3091 cases // *Oncotarget*. 2017;9(9):8629-8641. DOI: 10.18632/oncotarget.23667.
23. Flanagan L., Meyer M., Fay J. et al. Low levels of Caspase-3 predict favourable response to 5FU-based chemotherapy in advanced colorectal cancer: Caspase-3
8. Kvasnicka H.M., Thiele J., Staib P. et al. Reversal of bone marrow angiogenesis in chronic myeloid leukemia following imatinib mesylate (STI571) therapy. *Blood*. 2004;103(9):3549-3551. DOI: 10.1182/blood-2003-08-2734.
9. Han Y., Ye A., Bi L. et al. Th17 cells and interleukin-17 increase with poor prognosis in patients with acute myeloid leukemia. *Cancer Sci*. 2014;105(8):933-942. DOI: 10.1111/cas.12459.
10. Sosnina A.V., Velikaya N.V., Varaksin N.A. et al. (2014). *The Role of Cytokines in the Pathogenesis of Malignant Neoplasms*. Novosibirsk, 128 p. (In Russ.)
11. Mannino M.H., Zhu Z., Xiao H. et al. The paradoxical role of IL-10 in immunity and cancer. *Cancer Lett*. 2015;367(2):103-107. DOI: 10.1016/j.canlet.2015.07.009.
12. Gerlini G., Tun-Kyi A., Dudli C. et al. Metastatic melanoma secreted IL-10 down-regulates CD1 molecules on dendritic cells in metastatic tumor lesions. *Am. J. Pathol*. 2004;165(6):1853-1863. DOI: 10.1016/S0002-9440(10)63238-5.
13. Goetz A.W., van der Kuip H., Maya R. et al. Requirement for Mdm2 in the survival effects of Bcr-Abl and interleukin 3 in hematopoietic cells. *Cancer Res*. 2001;61(20):7635-7641.
14. Velasco-Hernández T., Vicente-Dueñas C., Sánchez-García I. et al. p53 restoration kills primitive leukemia cells in vivo and increases survival of leukemic mice. *Cell Cycle*. 2013;12(1):122-132. DOI: 10.4161/cc.23031.
15. Carter B.Z., Mak P.Y., Mak D.H. Synergistic effects of p53 activation via MDM2 inhibition in combination with inhibition of Bcl-2 or Bcr-Abl in CD34⁺ proliferating and quiescent chronic myeloid leukemia blast crisis cells. *Oncotarget*. 2015;6(31):30487-30499. DOI: 10.18632/oncotarget.5890.
16. Duffy M.J., O'Grady S., Tang M., Crown J. MYC as a target for cancer treatment. *Cancer Treat. Rev*. 2021;94:102154. DOI: 10.1016/j.ctrv.2021.102154.
17. Pippa R., Odero M.D. The role of MYC and PP2A in the initiation and progression of myeloid leukemias. *Cells*. 2020;9(3):544. DOI: 10.3390/cells9030544.
18. Elbadawy M., Usui T., Yamawaki H., Sasaki K. Emerging roles of c-Myc in cancer stem cell-related signaling and resistance to cancer chemotherapy: a potential therapeutic target against colorectal cancer. *Int. J. Mol. Sci*. 2019;20(9):2340. DOI: 10.3390/ijms20092340.
19. Akita H., Marquardt J.U., Durkin M.E. et al. MYC activates stem-like cell potential in hepatocarcinoma by a p53-dependent mechanism. *Cancer Res*. 2014;74(20):5903-5913. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-14-0527.
20. Miller D.M., Thomas S.D., Islam A. et al. c-Myc and cancer metabolism. *Clin. Cancer Res*. 2012;18(20):5546-5553. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-12-0977.
21. Ji F., Zhang Zh., Zhang Y. et al. Low expression of c-Myc protein predicts poor outcomes in patients with hepatocellular carcinoma after resection. *BMC Cancer*. 2018;18(1):460. DOI: 10.1186/s12885-018-4379-5.
22. Yang X., Zhong D.N., Qin H. et al. Caspase-3 overexpression is associated with poor overall survival and clinicopathological parameters in breast cancer: a meta-analysis of 3091 cases. *Oncotarget*. 2017;9(9):8629-8641. DOI: 10.18632/oncotarget.23667.

- inhibition as a therapeutic approach // *Cell. Death. Dis.* 2016;7:e2087. DOI: 10.1038/cddis.2016.7.
24. Schauer I.G., Zhang J., Xing Z. et al. Interleukin-1 β promotes ovarian tumorigenesis through a p53/NF- κ B-mediated inflammatory response in stromal fibroblasts // *Neoplasia*. 2013;15(4):409-420. DOI: 10.1593/neo.121228.
 25. Li Q., Xu X., Zhong W. et al. IL-17 induces radiation resistance of B lymphoma cells by suppressing p53 expression and thereby inhibiting irradiation-triggered apoptosis // *Cell. Mol. Immunol.* 2015;12(3):366-372. DOI: 10.1038/cmi.2014.122.
 26. Liu L., Lu Y., Martinez J. et al. Proinflammatory signal suppresses proliferation and shifts macrophage metabolism from Myc-dependent to HIF1 α -dependent // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2016;113(6):1564-1569. DOI: 10.1073/pnas.1518000113.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Александрова Туйара Никоновна – аспирант кафедры терапии, гематологии и трансфузиологии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0002-9940-961X.

Мулина Инна Ивановна – заведующий отделением гематологии ГАУ РС(Я) «Республиканская больница № 1 – Национальный центр медицины им. М.Е. Николаева», Якутск, Республика Саха (Якутия).

Лямкина Анна Сергеевна – канд. мед. наук, доцент кафедры терапии, гематологии и трансфузиологии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0002-2516-0778.

Михайлова Елена Семеновна – научный сотрудник центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России; научный сотрудник ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины», Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0001-8576-3717.

Аутеншлюс Александр Исаевич – д-р мед. наук, заведующий центральной научно-исследовательской лабораторией ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России; главный научный сотрудник ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины», Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0002-6538-0089.

Скворцова Наталия Валерьевна – д-р мед. наук, доцент кафедры терапии, гематологии и трансфузиологии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0001-6938-3802.

Агеева Татьяна Августовна – д-р мед. наук, профессор кафедры патологической анатомии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0001-7933-8394.

Поспелова Татьяна Ивановна – д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой терапии, гематологии и трансфузиологии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0001-6791-0314.

23. Flanagan L., Meyer M., Fay J. et al. Low levels of Caspase-3 predict favourable response to 5FU-based chemotherapy in advanced colorectal cancer: Caspase-3 inhibition as a therapeutic approach. *Cell. Death. Dis.* 2016;7:e2087. DOI: 10.1038/cddis.2016.7.
24. Schauer I.G., Zhang J., Xing Z. et al. Interleukin-1 β promotes ovarian tumorigenesis through a p53/NF- κ B-mediated inflammatory response in stromal fibroblasts. *Neoplasia*. 2013;15(4):409-420. DOI: 10.1593/neo.121228.
25. Li Q., Xu X., Zhong W. et al. IL-17 induces radiation resistance of B lymphoma cells by suppressing p53 expression and thereby inhibiting irradiation-triggered apoptosis. *Cell. Mol. Immunol.* 2015;12(3):366-372. DOI: 10.1038/cmi.2014.122.
26. Liu L., Lu Y., Martinez J. et al. Proinflammatory signal suppresses proliferation and shifts macrophage metabolism from Myc-dependent to HIF1 α -dependent. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2016;113(6):1564-1569. DOI: 10.1073/pnas.1518000113.

ABOUT THE AUTHORS

Tujara N. Aleksandrova – Post-graduate Student, Department of Therapy, Hematology and Transfusiology, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0002-9940-961X.

Inna I. Mulina – Head, Hematology Department, Republican Hospital No. 1 – National Center of Medicine, Yakutsk, Republic of Sakha (Yakutia).

Anna S. Lyamkina – Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Department of Therapy, Hematology and Transfusiology, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0002-2516-0778.

Elena S. Mikhailova – Researcher, Central Research Laboratory, Novosibirsk State Medical University; Researcher, Federal Research Center for Fundamental and Translational Medicine, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0001-8576-3717.

Alexander I. Autenshlyus – Dr. Sci. (Med.), Head, Central Research Laboratory, Novosibirsk State Medical University; Senior Researcher, Federal Research Center for Fundamental and Translational Medicine, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0002-6538-0089.

Nataliya V. Skvortsova – Dr. Sci. (Med.), Associate Professor, Department of Therapy, Hematology and Transfusiology, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0001-6938-3802.

Tatyana A. Ageeva – Dr. Sci. (Med.), Professor, Department of Pathological Anatomy, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0001-7933-8394.

Tatyana I. Pospelova – Dr. Sci. (Med.), Professor, Head, Department of Therapy, Hematology and Transfusiology, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0001-6791-0314.

Эффективность терапии даратумумабом в реальной клинической практике у пациентов с рецидивирующей/рефрактерной множественной миеломой

Н.В. Скворцова¹, Е.В. Воронцова², И.Н. Нечунаева³, Е.Н. Воропаева⁴, И.Б. Ковынев¹, Т.И. Поспелова¹

¹ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия

²ГБУЗ НСО «Государственная Новосибирская областная клиническая больница», Новосибирск, Россия

³ГБУЗ НСО «Городская клиническая больница № 2», Новосибирск, Россия

⁴НИИ терапии и профилактической медицины – филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН», Новосибирск, Россия

АННОТАЦИЯ

В в е д е н и е . Несмотря на доступность и высокую эффективность современных противоопухолевых препаратов, используемых для терапии больных множественной миеломой (ММ), у большинства пациентов неизбежно развиваются рецидивы заболевания и рефрактерность к проводимой терапии. Прогноз у пациентов с рецидивирующей ММ и рефрактерностью к основным классам используемых противоопухолевых препаратов (ингибиторов протеасом и иммуномодуляторов) остается неблагоприятным, а медиана общей выживаемости (ОВ) составляет только 8 мес. Даратумумаб – первое полностью человеческое моноклональное антитело IgG1-κ, которое с высокой аффинностью связывается с белком CD38 на поверхности миеломных клеток, оказывает прямое воздействие на опухоль, а также обладает иммуномодулирующим механизмом действия. В клинических исследованиях даратумумаб показал высокую эффективность и безопасность при использовании в монорежиме у пациентов с рецидивирующей ММ и двойной рефрактерностью.

Ц е л ь . Оценить эффективность и безопасность даратумумаба в монорежиме у больных рецидивирующей/рефрактерной множественной миеломой (РРММ) в условиях реальной клинической практики.

М а т е р и а л ы и м е т о д ы . В исследование были включены 32 пациента с РРММ (14 мужчин и 18 женщин) в возрасте 41–76 лет (медиана – 65 лет), проходивших лечение в двух гематологических центрах г. Новосибирска. У 65,6 % больных была диагностирована IIIA стадия заболевания по Durie-Salmon, I–II стадия по классификации ISS (у 65,6 и 28,1 % больных соответственно) и статус 0–1 по ECOG (у 37,5 и 43,7 % больных соответственно). У 56,3 % пациентов регистрировались оссальные мягкотканые плазмоцитомы, у 12 (37,5 %) отмечалась высокая активность лактатдегидрогеназы. Медиана числа линий предшествующей терапии была равна 2 (диапазон 2–4). Все пациенты ранее получали ингибиторы протеасом (бортезомиб) и противоопухолевые иммуномодуляторы (леналидомид). Аутологичная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток была проведена 34,4 % больных. Двойная рефрактерность была зарегистрирована у 24 (75 %) из 32 пациентов. Медиана времени от момента постановки диагноза ММ до начала терапии даратумумабом составила 73,1 мес (диапазон 18–144 мес). Даратумумаб назначали в монорежиме внутривенно в дозе 16 мг/кг еженедельно (циклы 1–2), через неделю (циклы 3–6) и затем ежемесячно.

Р е з у л ь т а т ы . Средняя продолжительность терапии даратумумабом составила 12,2 мес (диапазон 4–22 мес). Частота общего ответа (полная ремиссия + очень хорошая частичная ремиссия (охЧР) + частичная ремиссия (ЧР)) составила 67,7 %, охЧР – у 9 (29 %) больных, ЧР – у 12 (38,7 %), стабилизация заболевания (СЗ) зарегистрирована у 19,4 % пациентов соответственно. Медиана времени до наступления ответа – 3,5 мес (диапазон 2,5–6). Средняя продолжительность ответа – 7,9 мес (95% доверительный интервал (ДИ) 4,7–11,5). Медиана выживаемости без прогрессирования (ВБП) составила 19,1 мес (95% ДИ 15,3–23,6), а 12- и 18-месячная ВБП были на уровне 91 и 50 % соответственно. Медиана ОВ не была достигнута, а значения 12- и 18-месячной ОВ составили 100 и 96,3% соответственно. Глубина ответа оказывала статистически значимое влияние на ВБП (18-месячная ВБП – 100 % в подгрупп-

Поступила в редакцию 02.04.2023
Прошла рецензирование 28.04.2023
Принята к публикации 11.05.2023

Автор, ответственный за переписку
Скворцова Наталья Валерьевна: ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России. 630091, г. Новосибирск, Красный просп., 52.
E-mail: nata_sk78@mail.ru

Received 02.04.2023
Revised 28.04.2023
Accepted 11.05.2023

Corresponding author
Nataliya V. Skvortsova: Novosibirsk State Medical University, 52, Krasnyy prosp., Novosibirsk, 630091, Russia.
E-mail: nata_sk78@mail.ru

пах охЧР и ЧР и 81 % – в подгруппе СЗ соответственно ($\chi^2 = 19.207$, $p < 0.001$). Терапия даратумумабом сопровождалась благоприятным профилем токсичности. У 37.5 % пациентов отмечались инфузионные реакции 1-й и 2-й степени тяжести, у 6.2 % $\geq$ 3-й степени тяжести, у одного пациента терапия была прекращена из-за инфузионной реакции 3-й степени. У 15.6 % пациентов регистрировалась усталость, инфекции верхних и нижних дыхательных путей (15.6 и 12.5 % соответственно), анемия (15.6 %), тромбоцитопения (6.2 %) и нейтропения (6.2 %).

З а к л ю ч е н и е . Терапия даратумумабом является эффективным и безопасным методом лечения при РРММ.

Ключевые слова: даратумумаб, множественная миелома, эффективность, выживаемость, двойная рефрактерность.

Образец цитирования: Скворцова Н.В., Воронцова Е.В., Нечунаева И.Н., Воропаева Е.Н., Ковынев И.Б., Пospelova Т.И. Эффективность терапии даратумумабом в реальной клинической практике у пациентов с рецидивирующей/рефрактерной множественной миеломой // Journal of Siberian Medical Sciences. 2023;7(2):90-113. DOI: 10.31549/2542-1174-2023-7-2-90-113

Effectiveness of daratumumab therapy in real-life clinical practice in patients with relapsed/refractory multiple myeloma

N.V. Skvortsova¹, E.V. Vorontsova², I.N. Nechunaeva³, Voropayeva E.N.⁴, I.B. Kovynev¹, T.I. Pospelova¹

¹Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia

²State Novosibirsk Regional Clinical Hospital, Novosibirsk, Russia

³City Clinical Hospital № 2, Novosibirsk, Russia

⁴Research Institute of Internal and Preventive Medicine – Branch of the Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia

ABSTRACT

I n t r o d u c t i o n . Despite the availability and high effectiveness of modern anticancer drugs used to treat patients with multiple myeloma (MM), most patients inevitably develop disease relapses and refractoriness to the ongoing therapy. The prognosis in patients with relapsed MM and refractoriness to the main classes of anticancer drugs (proteasome inhibitors and immunomodulators) remains poor, and the median overall survival (OS) is only 8 months. Daratumumab is the first fully human IgG1- κ monoclonal antibody that binds with high affinity to the CD38 protein on the surface of myeloma cells, has a direct effect on the tumor, and also has an immunomodulatory mechanism of action. In clinical trials, daratumumab has been shown high effective and safety when used as monotherapy in patients with relapsed and double refractory MM.

A i m . To evaluate the effectiveness and safety of daratumumab monotherapy in patients with relapsed/refractory multiple myeloma (RRMM) in real-life clinical practice.

M a t e r i a l s a n d m e t h o d s . We analyzed 32 patients with RRMM (14 men and 18 women) aged 41–76 years (median 65 years) from two hematological centers in the city of Novosibirsk. In 65.6% of patients, stage IIIA according to Durie-Salmon, stage I–II according to the ISS (in 65.6 and 28.1% of patients, respectively), ECOG performance status 0–1 (in 37.5 and 43.7% of patients, respectively) were diagnosed. Bone-related soft tissue plasmacytomas were recorded in 56.3% of patients, high lactate dehydrogenase activity was noted in 12 (37.5%) patients. The median number of prior lines of therapy was 2 (range 2–4). All patients had previously received proteasome inhibitors (bortezomib) and immunomodulatory agents (lenalidomide). Autologous hematopoietic stem cells transplantation was performed in 34.4% of patients. Double refractory MM was registered in 24 (75%) of 32 patients. The median time from diagnosis of MM to initiation of daratumumab therapy was 73.1 months (range 18–144 months). Daratumumab was administered as monotherapy at a dose of 16 mg/kg intravenously weekly (cycles 1–2), every other week (cycles 3–6), and then monthly.

R e s u l t s . The median duration of therapy with daratumumab was 12.2 months (range 4–22 months). The overall response rate (complete response + very good partial response (vgPR) + partial response (PR)) was 67.7%; vgPR – in 9 (29%) patients, PR – in 12 (38.7%), stable disease (SD) was registered in 19.4% of patients, respectively. The median time to response was 3.5 months (range 2.5–6). The median duration of response was 7.9 months (95% confidence interval (CI) 4.7–11.5). The median progression-free survival (PFS) was 19.1 months (95% CI 15.3–23.6), and the 12- and 18-month PFS were 91% and 50%, respectively. The median OS was not reached, and the 12- and 18-month OS values were 100% and 96.3%, respectively. The depth of the response had a statistically significant effect on the PFS (18-month PFS was 100% in the vgPR and PR subgroups and 81% in the SD subgroup, respectively ($\chi^2 = 19.207$, $p < 0.001$)). Therapy with daratumumab was accompanied with a favorable toxicity profile. In 37.5% of patients, grade 1 and 2 infusion reactions were

noted, in 6.2% grade ≥ 3 , in one patient, therapy was discontinued due to an infusion reaction of the 3rd degree. Fatigue, upper and lower respiratory tract infections (15.6% and 12.5%, respectively), anemia (15.6%), thrombocytopenia (6.2%), and neutropenia (6.2%) were recorded in 15.6% of patients.

Conclusion. Therapy with daratumumab is an effective and safe treatment for RRMM.

Keywords: daratumumab, multiple myeloma, effectiveness, survival, double refractoriness.

Citation example: Skvortsova N.V., Vorontsova E.V., Nechunaeva I.N., Voropayeva E.N., Kovynev I.B., Pospelova T.I. Effectiveness of daratumumab therapy in real-life clinical practice in patients with relapsed/refractory multiple myeloma. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2023;7(2):90-113. DOI: 10.31549/2542-1174-2022-7-2-90-113

ВВЕДЕНИЕ

Множественная миелома (ММ) – неизлечимое злокачественное лимфопролиферативное заболевание, характеризующееся рецидивирующим течением [1]. За последние два десятилетия внедрение ингибиторов протеасом (ИП) и противоопухолевых иммуномодуляторов (ИМИД) значительно увеличило 5- и 10-летнюю выживаемость пациентов с ММ [2]. Однако несмотря на доступность и высокую эффективность этих классов препаратов, у большинства пациентов с ММ неизбежно развиваются рецидивы заболевания и рефрактерность к проводимой терапии. Прогноз у пациентов с рецидивирующей множественной миеломой и рефрактерностью к основным классам используемых противоопухолевых препаратов (ИП и ИМИД) остается неблагоприятным [1, 3, 4], с медианой общей выживаемости (ОВ) около 8 мес [5]. Поэтому разработка препаратов, эффективных при рецидивирующих и рефрактерных формах ММ, является весьма актуальной.

Даратумумаб – первое полностью человеческое моноклональное антитело IgG1-κ, которое с высокой аффинностью связывается с белком CD38, активно экспрессирующимся на поверхности различных типов клеток, включая миеломные клетки. Белок CD38 обладает множеством функций, включая опосредованную рецепторами адгезию, сигнальную и ферментативную активность, что обуславливает клиническое обоснование его использования в качестве терапевтической мишени при ММ [1, 6, 7].

Результаты доклинических исследований показали, что связывание даратумумаба с CD38 вызывает гибель опухолевых клеток посредством нескольких иммуноопосредованных механизмов, включая комплемент-зависимую цитотоксичность, антителозависимый клеточный фагоцитоз, антителозависимую клеточную цитотоксичность, индукцию апоптоза и модуляцию активности эктофермента CD38 [8–10]. В допол-

INTRODUCTION

Multiple myeloma (MM) is an incurable malignant lymphoproliferative disease characterized by a relapsing course [1]. Over the past two decades, the introduction of proteasome inhibitors (PIs) and immunomodulatory drugs (IMiDs) has significantly increased the 5- and 10-year survival rates of patients with MM [2]. However, despite the availability and high efficacy of these classes of drugs, the majority of patients with MM inevitably develop relapses of the disease and become refractory to therapy. The prognosis in patients with relapsed multiple myeloma and resistance to the main classes of used anticancer drugs (PIs and IMiDs) remains poor [1, 3, 4], with a median overall survival (OS) of about 8 months [5]. Therefore, the development of drugs effective in relapsed and refractory forms of MM is very important.

Daratumumab is the first fully human IgG1-κ monoclonal antibody that binds with high affinity to the CD38 protein, which is actively expressed on the surface of various cell types, including myeloma cells. The CD38 protein has many functions, including receptor-mediated adhesion, signaling and enzymatic activity, which determines the clinical rationale for its use as a therapeutic target in MM [1, 6, 7].

The results of preclinical trials have shown that binding of daratumumab to CD38 causes tumor cell death through several immune-mediated mechanisms, including complement-dependent cytotoxicity, antibody-dependent cellular phagocytosis, antibody-dependent cellular cytotoxicity, induction of apoptosis, and modulation of CD38 ectoenzyme function [8–10]. In addition to the immune-mediated mechanisms listed above, daratumumab may also have an immunomodulatory effect through the activation and expansion of T cells, as well as reducing immunosuppression in patients with MM [11].

The clinical effectiveness and safety of daratumumab monotherapy in patients with relapsed/refractory MM (RRMM) was first studied in two

нение к перечисленным иммуноопосредованным механизмам даратумумаб может также оказывать иммуномодулирующее воздействие посредством активации и экспансии Т-клеток, а также уменьшения иммуносупрессии у пациентов с ММ [11].

Клиническая эффективность и безопасность терапии даратумумабом в монорежиме у пациентов с рефрактерной/рецидивирующей ММ (РРММ) впервые была изучена в двух открытых исследованиях 2-й фазы GEN501 и SIRIUS [12, 13]. Всего в объединенный анализ этих двух исследований были включены 148 пациентов, получавших даратумумаб в дозе 16 мг/кг (в исследовании GEN501 ($n = 42$) и SIRIUS ($n = 106$) соответственно). Средняя продолжительность наблюдения составила 20.7 мес (диапазон 0.5–27.1 мес). Пациенты, включенные в объединенный анализ, прошли интенсивное предварительное лечение, в среднем 5 предшествующих линий терапии (диапазон 2–14); 76.4 % пациентов получали более трех предшествующих линий терапии. Большинство пациентов (86.5 %) имели двойную рефрактерность как к ИП, так и к ИМИД; 39.2 % пациентов уже были рефрактерны к карфилзомибу и 55.4 % – к помалидомиду. Две изучаемые популяции были хорошо сбалансированы по клинико-демографическим характеристикам. Согласно результатам объединенного анализа исследований GEN501 и SIRIUS, частота общего ответа (ЧОО) составила 31.1 % и многие из этих ответов со временем углубились и стали включать полные ремиссии и строгие полные ремиссии, медиана выживаемости без прогрессирования (ВБП) соответствовала 4.0 мес, а медиана общей выживаемости (ОВ) – 20.1 мес соответственно. Терапия даратумумабом характеризовалась управляемым профилем токсичности, низкой частотой инфузионных реакций (ИР) ≥ 3 -й степени и небольшим числом случаев прекращения лечения в результате нежелательных явлений (НЯ) [2].

На основании полученных результатов, указывающих на эффективность и безопасность монотерапии даратумумабом, в 2015 г. Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США, а в 2016 г. – Европейским агентством по лекарственным средствам даратумумаб был ускоренно одобрен для монотерапии пациентов с РРММ, которые получили 3 или более предыдущих курса лечения, включающих ИП и ИМИД, и рефрактерных к этим двум классам препаратов [3, 14].

open-label phase 2 trials GEN501 and SIRIUS [12, 13]. A total of 148 patients treated with daratumumab 16 mg/kg (in study GEN501 ($n = 42$) and SIRIUS ($n = 106$), respectively) were included in the pooled analysis of these two trials. The median follow-up was 20.7 months (range 0.5–27.1 months). Patients included in the pooled analysis received heavy pre-treatment, with a median of 5 previous lines of therapy (range 2–14); 76.4% of patients received more than three previous lines of therapy. The majority of patients (86.5%) were double refractory to both PIs and IMiDS; 39.2% of patients were already refractory to carfilzomib and 55.4% to pomalidomide. The two studied populations were well balanced in terms of clinical and demographic characteristics. A pooled analysis of the GEN501 and SIRIUS trials showed an overall response rate (ORR) of 31.1% and many of these responses deepened over time to include complete response and stringent complete response, with a median progression-free survival (PFS) of 4.0 months and a median overall survival (OS) – 20.1 months, respectively. Therapy with daratumumab was characterized by a manageable toxicity profile, a low rate of infusion reactions (IR) $\geq$ grade 3, and a small number of treatment discontinuation due to adverse events (AEs) [2].

Based on the findings indicating the efficacy and safety of daratumumab monotherapy, by decision of the US Food and Drug Administration in 2015 and the European Medicines Agency in 2016, daratumumab got rapid approval for monotherapy in patients with RRMM, who received 3 or more prior lines of treatment, including PIs and IMiDS, and were refractory to these two classes of drugs [3, 14].

Subsequently, the efficacy and favorable tolerability of daratumumab monotherapy in patients with RRMM has also been reported in real-life clinical trials in countries such as the USA, Korea, Poland, Spain, Italy, Russia, the UK, Hungary, and Japan, in which ORR varied from 23 to 56.3%, the median PFS – from 2.7 to 17 months, and the median OS from – 9.3 to 19.3 months, depending on the characteristics of the studied population [15–21].

In addition, over the past few years, successful results from completed clinical trials of daratumumab in patients with newly diagnosed MM as well as RRMM without double refractoriness led to the approval of daratumumab in combination with bortezomib, thalidomide, and prednisolone (ALCYONE trial) [22] or lenalidomide and dexamethasone (MAIA and POLLUX studies) [23, 24], bortezomib and dexamethasone (CASTOR trial) [25], as well as with carfilzomib and dexamethasone (CANDOR study) [26].

В дальнейшем об эффективности и благоприятной переносимости монотерапии даратумумабом у пациентов с РРММ также сообщалось в исследованиях, проведенных в условиях реальной клинической практики в таких странах, как США, Корея, Польша, Испания, Италия, Россия, Великобритания, Венгрия и Япония, в которых ЧОО варьировала от 23 до 56.3 %, медиана ВВП – от 2.7 до 17 мес, а медиана ОВ – от 9.3 до 19.3 мес, что зависело от характеристик изучаемой популяции пациентов [15–21].

Кроме того, в течение последних нескольких лет успешные результаты завершенных клинических исследований даратумумаба у пациентов с впервые диагностированной ММ, а также с РРММ, не отягощенной двойной рефрактерностью, привели к одобрению даратумумаба в сочетании с бортезомибом, талидомидом и преднизолоном (исследование ALCYONE) [22] или леналидомидом и дексаметазоном (исследования MAIA и POLLUX) [23, 24], бортезомибом и дексаметазоном (исследование CASTOR) [25], а также с карфилзомибом и дексаметазоном (исследование CANDOR) [26].

В Российской Федерации (РФ) даратумумаб в настоящее время одобрен в качестве монотерапии для лечения рецидивов и рефрактерных форм ММ, в комбинации с бортезомибом, талидомидом и дексаметазоном – для терапии пациентов с впервые диагностированной ММ, являющихся кандидатами для проведения аутологичной трансплантации стволовых клеток; в комбинации с бортезомибом, мелфаланом и преднизолоном или в комбинации с леналидомидом и дексаметазоном – для терапии пациентов с впервые диагностированной ММ, не являющихся кандидатами для проведения аутологичной трансплантации стволовых клеток; в комбинации с леналидомидом и дексаметазоном или в комбинации с бортезомибом и дексаметазоном – для терапии пациентов с ММ, получивших по крайней мере одну предшествующую линию терапии, и в комбинации с карфилзомибом и дексаметазоном – для терапии пациентов с РРММ, ранее получивших от одной до трех линий предшествующей терапии [27].

Однако несмотря на расширившиеся показания, в большинстве стран, включая РФ, даратумумаб остается наиболее доступен в режиме монотерапии РРММ. В связи с этим изучение эффективности и безопасности данного режима терапии в условиях реальной клинической практики остается актуальным.

In the Russian Federation (RF), daratumumab is currently approved as monotherapy for the treatment of relapsed and refractory forms of MM, in combination with bortezomib, thalidomide and dexamethasone for the treatment of patients with newly diagnosed MM who are eligible for autologous stem cell transplantation; in combination with bortezomib, melphalan and prednisolone or in combination with lenalidomide and dexamethasone – for the treatment of patients with newly diagnosed MM who are not eligible for autologous stem cell transplantation; in combination with lenalidomide and dexamethasone, or in combination with bortezomib and dexamethasone – for the treatment of patients with MM who have received at least one prior line of therapy, and in combination with carfilzomib and dexamethasone – for the treatment of patients with RRMM who have previously received one to three lines of therapy [27].

However, despite the expanded indications, in most countries, including the RF, daratumumab remains the most available as the RRMM monotherapy. In this regard, the study of the effectiveness and safety of this therapy regimen in real-life clinical practice remains relevant.

AIM OF THE RESEARCH

To evaluate the effectiveness and safety of daratumumab monotherapy in patients with relapsed/refractory multiple myeloma in real-life clinical practice.

MATERIALS AND METHODS

The study included 32 patients with RRMM (14 men and 18 women) hospitalized in the Department of Hematology of the City Clinical Hospital No. 2 and the Novosibirsk Regional Clinical Hospital in Novosibirsk from March 2020 to April 2022. MM was diagnosed based on the criteria of the International Myeloma Working Group (IMWG 2014) [28]. Characteristics of patients are presented in Table 1.

The median age of patients included in the study was 65 years (range 41–76), with patients ≥ 65 years predominating (56.2% of patients). Most patients were diagnosed with stage IIIA according to Durie-Salmon (65.6%), stages III according to the ISS (in 65.6 and 28.1% of patients, respectively), ECOG performance status 0–1 (in 37.5 and 43.7% of patients, respectively). In 18 (56.3%) patients, bone-related soft tissue plasmacytomas were diagnosed at the time of daratumumab administration, in 12 (37.5%) patients, the high level of lactate dehydrogenase was noted (see Table 1).

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценить эффективность и безопасность даратумаба в монорежиме у больных с рецидивирующей/рефрактерной множественной миеломой в условиях реальной клинической практики.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование были включены 32 пациента с РРММ (14 мужчин и 18 женщин), госпитализированных в отделение гематологии ГБУЗ НСО «Городская клиническая больница № 2» и ГБУЗ НСО «Государственная Новосибирская областная клиническая больница» г. Новосибирска в период с марта 2020 по апрель 2022 г. Диагноз ММ устанавливался на основании критериев международной рабочей группы по изучению миеломы (IMWG 2014) [28]. Характеристика больных представлена в табл. 1.

Медиана возраста пациентов, включенных в исследование, составила 65 лет (диапазон 41–76), преобладали пациенты ≥ 65 лет (56.2 % больных). У большинства больных была диагностирована IIIA стадия заболевания по Durie-Salmon (65.6 %), I–II стадии согласно классификации ISS (у 65.6 и 28.1 % больных соответственно), статус 0–1 по ECOG (у 37.5 и 43.7 % больных соответственно). У 18 (56.3 %) пациентов на момент назначения даратумаба регистрировались оссалые мягкотканые плазмцитомы, у 12 (37.5 %) больных отмечалась высокая активность лактатдегидрогеназы (см. табл. 1).

Наиболее распространенными сопутствующими заболеваниями были периферическая сенсорная полинейропатия 1–2-й стадии без боли (37.5 %), гипертоническая болезнь 2–3-й стадии (15.6 %) и хроническая болезнь почек (ХБП) 2–3-й стадии (31.2 %), причем у 12.5 % больных клиренс креатинина составлял от ≥ 30 до ≤ 60 мл/мин/1.73 м² (по CKD-EPI), что соответствовало 3а и 3б стадии ХБП (по KDIGO) (см. табл. 1).

Медиана числа линий предшествующей терапии была равна 2 (диапазон 2–4). Все анализируемые пациенты (100 %) ранее получили ингибиторы протеасом (бортезомиб или иксазомиб) и противоопухолевые иммуномодуляторы (леналидомид). Аутологичная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (ауто-ТГСК) в качестве терапии первой линии была проведена 34.4 % больным. На момент проведения терапии даратумабом двойная рефрактерность была зарегистрирована у 24 (75 %) из 32 пациентов, а рецидив после последней линии без двойной рефрактерности наблюдался у 25 % больных (см.

The most common comorbidities were grade 1–2 peripheral neuropathy without pain (37.5%), hypertension of stage 2–3 (15.6%), and chronic kidney disease (CKD) of grade 2–3 (31.2%), moreover in 12.5% of patients, creatinine clearance was from ≥ 30 to ≤ 60 ml/min/1.73 m² (according to CKD-EPI), which corresponded to stages 3a and 3b of CKD (according to KDIGO) (see Table 1).

The median prior lines of therapy was 2 (range 2–4). All patients (100%) had previously received proteasome inhibitors (bortezomib or ixazomib) and immunomodulatory drugs (lenalidomide). Autologous hematopoietic stem cell transplantation (auto-HSCT) was performed as first-line therapy in 34.4% of patients. At the time of daratumumab therapy, 24 (75%) of 32 patients were reported double refractory, and in 25% of patients, a relapse after the last line without developing double refractoriness was observed (see Table 1). The median time from MM diagnosis to the start of daratumumab therapy was 73.1 months (range 18–144 months) (see Table 1).

Patients included in the study were administered monotherapy daratumumab at a dose of 16 mg/kg as an intravenous infusion once a week for the first and second 28-day cycles, once every 2 weeks for the third to sixth cycles and then (from the seventh cycle) once a month until progression or unacceptable toxicity.

All patients received paracetamol 1000 mg per os (p/o), diphenhydramine 50 mg intravenously (i/v) or p/o, and dexamethasone 20 mg i/v or p/o as a standard premedication one hour prior to daratumumab infusion to reduce the risk of infusion reactions. In order to prevent delayed infusion reactions, all patients on the first and second days after the infusion of daratumumab received 20 mg of methylprednisolone p/o as a postmedication.

In order to prevent positive CD38-specific agglutination during the individual compatibility of the blood of the recipient and the donor in MM patients receiving daratumumab, if it is necessary to transfuse donor blood components to correct anemia; before using the drug, all patients were determined the blood group and Rh status, performed an indirect Coombs' test, and also performed extended phenotyping for clinically significant erythrocyte antigens (Kell, MNS, Duffy, Kidd) [29].

Response to treatment was assessed using the criteria of the International Myeloma Working Group (IMWG), 2006 [30]: complete response (CR), stringent complete response (SCR), very good partial response (vgPR), partial response (PR), stable disease (SD) and disease progression (DP).

Таблица 1. Клинико-демографическая характеристика пациентов с рефрактерной/рецидивирующей ММ, получавших даратумумаб в монорежиме ($n = 32$), абс. (%)**Table 1.** Clinical and demographic characteristics of patients with refractory/relapsed MM received daratumumab monotherapy ($n = 32$, abs. (%))

Показатель / Parameter	Значение / Value
Медиана возраста (лет) / Median age (years):	65 (41–76)
моложе 65 лет / under 65 years old (41–65)	14 (43.8)
старше 65 лет / over 65 years old (66–76)	18 (56.2)
Пол / Sex:	
женский / female	18 (56.2)
мужской / male	14 (43.8)
Статус по ECOG / ECOG score:	
0	12 (37.5)
1	14 (43.7)
2	6 (18.8)
Стадия по Durie-Salmon / Stage according to Durie-Salmon:	
IIA	9 (28.1)
IIIA	21 (65.6)
IIIB	2 (6.3)
Стадия по ISS / Stage according to ISS:	
I	21 (65.6)
II	9 (28.1)
III	2 (6.3)
Мякотканые плазмцитомы (оссальные) / Soft tissue plasmacytomas (bone-related):	
есть / yes	18 (56.3)
нет / no	14 (43.7)
Активность ЛДГ / LDH activity:	
норма (125–220 Ед/мл) normal (125–220 U/ml)	20 (62.5)
повышена (выше верхней границы нормы) increased (above the upper limit of normal)	12 (37.5)
Тип парапротеина (сыворотка) / Type of paraprotein (serum):	
IgG каппа / IgG kappa	14 (43.8)
IgG лямбда / IgG lambda	10 (31.3)
IgA каппа / IgA kappa	4 (12.5)
СЛЦ лямбда / FLC lambda	2 (6.2)
IgG	2 (6.2)
Сопутствующие заболевания / Comorbidities:	
• Сенсорная полинейропатия / Sensory polyneuropathy:	12 (37.5)
1-я степень / grade 1	7 (21.9)
2-я степень (без боли) / grade 2 (without pain)	5 (15.6)
• Сердечно-сосудистые заболевания (гипертоническая болезнь, нарушения ритма (пароксизмальная тахикардия), ИБС) / Cardiovascular diseases (hypertension, cardiac rhythm disorders (paroxysmal tachycardia), CAD):	7 (21.9)
гипертоническая болезнь (2–3-я стадия) / hypertension (stage 2–3)	5 (15.6)
• Хроническая болезнь почек / Chronic kidney disease:	10 (31.2)
СКФ / GFR < 30	0
СКФ ≥ 30 до ≤ 60 / GFR ≥ 30 to ≤ 60	4 (12.5)
СКФ / GFR > 60	6 (18.7)
• Хронический необструктивный бронхит / Chronic non-obstructive bronchitis	2 (6.2)
• Ожирение / Obesity:	5 (15.6)
1–2-я степень / degree 1–2	4 (12.5)
3-я степень / degree 3	1 (3.1)
• Тромбоз глубоких вен голени в анамнезе / Deep vein thrombosis in a history	2 (6.2)
• Заболевания щитовидной железы (АИТ, гипотиреоз) / Thyroid diseases (AIT, hypothyroidism)	4 (12.5)
Длительность заболевания (ММ) на начало терапии даратумумабом (мес) / Duration of disease (MM) at the start of daratumumab therapy (months)	73.1 (диапазон / range 18–144)
Медиана линий предшествующей терапии / Median value of prior lines of therapy	2 (диапазон / range 2–4)

Окончание табл. 1 / Ending of Table 1

Показатель / Parameter	Значение / Value
Линия терапии на момент начала терапии даратумумабом Number of therapy line at the time of initiation of daratumumab treatment:	
4-я / 4th	1 (3.1)
3-я / 3rd	7 (21.9)
2-я / 2nd	24 (75)
Предшествующая терапия ИП / Prior PIs therapy: бортезомиб / bortezomib (VCD, PAD, Vd, VMP)	32 (100)
Предшествующая терапия ИМИД / Prior IMiDs therapy: леналидомид / lenalidomide (Rd, VRd)	32 (100)
Другие варианты предшествующей терапии / Other variants of prior therapy: бендамустин / bendamustine (BP) иксазомиб / ixazomib (IxaRd)	1 (3.1) (3.1)
Двойная рефрактерность (к ИП и ИМИД) / Double refractory MM (to PIs and IMiDs)	24 (75)
Рецидив после последней линии терапии без двойной рефрактерности Relapse after the last line of therapy without double refractoriness	8 (25)
Предшествующая ауто-ТГСК / Prior auto-HSCT	11 (34.4)

П р и м е ч а н и е . ECOG – Eastern Cooperative Oncology Group; ISS – International Scoring System; ЛДГ – лактатдегидрогеназа; СЛЦ – свободные легкие цепи; ИБС – ишемическая болезнь сердца; СКФ – скорость клубочковой фильтрации; АИТ – аутоиммунный тиреоидит; ММ – множественная миелома; ИП – ингибиторы протеасом; ИМИД – противоопухолевые иммуномодуляторы; VCD – бортезомиб + циклофосфамид + дексаметазон; PAD – бортезомиб + доксорубин + дексаметазон; Vd – бортезомиб + дексаметазон; VMP – бортезомиб + мелфалан + преднизолон; Rd – леналидомид + дексаметазон; VRd – бортезомиб + леналидомид + дексаметазон; ауто-ТГСК – аутологичная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток.

N o t e . ECOG – Eastern Cooperative Oncology Group; ISS – International Scoring System; LDH – lactate dehydrogenase; FLC – free light chains; CAD – coronary artery disease; GFR – glomerular filtration rate; AIT – autoimmune thyroiditis; MM – multiple myeloma; PIs – proteasome inhibitors; IMiDs – immunomodulatory drugs; VCD – bortezomib + cyclophosphamide + dexamethasone; PAD – bortezomib + doxorubicin + dexamethasone; Vd – bortezomib + dexamethasone; VMP – bortezomib + melphalan + prednisolone; Rd – lenalidomide + dexamethasone; VRd – bortezomib + lenalidomide + dexamethasone; auto-HSCT – autologous hematopoietic stem cell transplantation.

табл. 1). Медиана времени от момента постановки диагноза ММ до начала терапии даратумумабом составила 73.1 мес (диапазон 18–144 мес) (см. табл. 1).

Пациентам, включенным в исследование, даратумумаб был назначен в режиме монотерапии в дозе 16 мг/кг в виде в/в инфузии с частотой один раз в неделю для первого и второго 28-дневного циклов, один раз в 2 нед для третьего-шестого циклов и затем (с седьмого цикла) – 1 раз в месяц до прогрессирования или неприемлемой токсичности.

Все пациенты за один час до инфузии даратумумаба в качестве стандартной премедикации получали парацетамол 1000 мг внутрь, дифенгидрамин 50 мг в/в или внутрь и дексаметазон 20 мг в/в или внутрь для уменьшения риска возникновения инфузионных реакций. С целью профилактики отсроченных инфузионных реакций всем пациентам в первый и второй дни после инфузии даратумумаба в качестве постмедикации назначали 20 мг метилпреднизолона внутрь.

С целью профилактики положительной CD38-специфической агглютинации при проведении пробы на индивидуальную совместимость крови реципиента и донора у больных ММ, получающих даратумумаб, при необходимости трансфу-

Complete response was diagnosed in patients with MM, in whom the number of plasma cells of normal morphology in bone marrow aspirates was less than 5%, monoclonal immunoglobulin and light chains in the urine were not detected. To clarify the depth of complete response, immunofixation was used, which made it possible, with a negative result, to verify CR in patients, and with a positive one – close to complete response (cCR). Stringent complete response was determined in patients with CR with a normal ratio of free light chains (FLC) and the absence of clonal plasma cells in the bone marrow according to immunohistochemical or immunophenotypic analysis. A very good partial response was identified when M-protein in the blood serum and urine was detected only during immunofixation, but not during electrophoresis, or there was a decrease in the level of M-protein in the serum by 90% or more, and M-protein in the urine – to less than 100 mg/day. For a disease assessed by FLC alone, a reduction in the difference between involved and uninvolved FLC by 90% or more is required. With partial response, the level of M-gradient in the serum should decrease by 50% or more, and in the urine – by 90% or more, while the absolute M-protein count in the urine should be less than 200 mg/day. The size of bone and extramedullary plasmacytomas should

зии компонентов донорской крови с целью коррекции анемии, всем пациентам перед началом использования препарата определяли группу крови и резус-принадлежность, выполняли непрямой тест Кумбса, а также проводили расширенное фенотипирование по клинически значимым антигенам эритроцитов (Келл, MNS, Даффи, Кидд) [29].

Оценка ответа на лечение проводилась с использованием унифицированных критериев международной рабочей группы по изучению миеломы (International Myeloma Working Group (IMWG), 2006) [30], согласно которым выделяли полную ремиссию (ПР), строгую полную ремиссию (сПР), очень хорошую частичную ремиссию (охЧР), частичную ремиссию (ЧР), стабилизацию заболевания (СЗ) и прогрессирование заболевания (ПЗ).

Полную ремиссию диагностировали у больных ММ, у которых в пунктате костного мозга число плазматических клеток нормальной морфологии было менее 5 %, моноклональный иммуноглобулин и легкие цепи в моче не обнаруживались. Для уточнения глубины полной ремиссии использовали тест иммунофиксации, что позволяло, при отрицательном результате теста, верифицировать у больных ПР, а при положительном – близкую к полной (пПР). Строгая полная ремиссия определялась у больных с ПР при нормальном соотношении свободных легких цепей (СЛЦ) и отсутствии клональных плазматических клеток в костном мозге по данным иммуногистохимического или иммунофенотипического методов анализа. Очень хорошую частичную ремиссию определяли, когда М-протеин в сыворотке крови и моче выявлялся только при иммунофиксации, но не при электрофорезе или отмечалось снижение уровня М-протеина в сыворотке на 90 % и более, а М-протеина в моче – до уровня менее 100 мг/сут. Для болезни, «измеряемой» только по уровню СЛЦ, требуется снижение разницы уровня вовлеченных и невовлеченных СЛЦ на 90 % и более. При частичной ремиссии в сыворотке уровень М-градиента должен уменьшиться на 50 % и более, а в моче – на 90 % и более, при этом абсолютное количество М-протеина в моче должно быть менее 200 мг/сут. Размеры костных и внекостных плазмочитом должны уменьшиться на 50 % и более. При миеломе, «измеряемой» только по уровню СЛЦ, ЧР устанавливается при снижении разницы уровня вовлеченных и невовлеченных СЛЦ на 50 %. Прогрессирование болезни фиксировалось при увеличении уровня (от минимально достигнутого) моноклонального

decrease by 50% or more. In myeloma, assessed by only the level of FLC, PR is established when the difference in the level of involved and uninvolved FLC decreases by 50%. Disease progression was recorded with the increase in the level (from the minimum) of monoclonal immunoglobulin by 25% (in the serum – by 5 g/l, in the urine – by 200 mg/day); the detection of new sites in skeleton bones or an increase in previously detected ones; the appearance of soft tissue plasmacytomas or increase in their size, hypercalcemia (>11.5 mg/dl, or 2.65 mmol/l). Stable disease was established when the indicators did not meet the criteria for CR, vgPR, PR, and myeloma progression. The overall response rate was defined as the total number of patients who achieved partial response, very good partial response, or complete response as a result of therapy [30].

The safety of daratumumab was assessed in patients after each course of therapy or during the course, depending on the clinical situation, based on all developing adverse events (AEs) (AEs ≥ 3 grade, which occurred during treatment; severe AEs (SAEs); infusion-related reactions) using the National Cancer Institute – Common Toxicity Criteria (NCI-CTC) (National Cancer Institute Common Terminology Criteria for Adverse Events – NCI-CICAE v5.0.).

Statistical analysis was performed using STATISTICA 10.0 software (StatSoft Inc., USA) and SPSS Statistics (version 23.0). Normal data distribution was determined using the Kolmogorov-Smirnov test. With non-normal data distribution, the results are presented as a median and an interquartile range Me (Q1; Q3), where Me is the median, Q1 is 25%, Q3 is 75%. Descriptive statistics for nominal indicators in tables and text are presented as absolute and relative values (n , %). To compare qualitative features, the Pearson test (χ^2) was used if the total number of observations was at least 50 and the number of observations of each variant of values was at least 5, or the two-tailed Fisher's exact test if the conditions for applying the χ^2 criterion were not met. The criterion of statistical significance was $p < 0.05$ when comparing two groups and $p < 0.01$ when comparing three or more groups. Overall survival was calculated according to the Kaplan-Meier analysis, defined as the time interval from the date of inclusion in the protocol of patients until death from any cause (completed observation) or until the date of the last appearance of the patient (censored observation), with graphical plotting of survival curves. The median OS was understood as the period of time that half of the patients with a certain diagnosis will survive. Progression-free survival was

иммуноглобулина на 25 % (в сыворотке – на 5 г/л, в моче – на 200 мг/сут), выявлении новых очагов в костях скелета или увеличении ранее обнаруженных, появлении мягкотканых плазмочитом или увеличении их размеров, гиперкальциемии (>11.5 мг/дл, или 2.65 ммоль/л). Стабилизация заболевания устанавливалась при несоответствии показателей критериям ПР, охЧР, ЧР и прогрессирования миеломы. Частота общего ответа определялась как общее количество пациентов, у которых была достигнута частичная ремиссия, очень хорошая частичная ремиссия или полная ремиссия заболевания в результате проводимой терапии [30].

Оценка безопасности даратумумаба проводилась у пациентов после каждого курса терапии или в период проведения курса, в зависимости от клинической ситуации, на основании учета всех развивающихся нежелательных явлений (НЯ) (НЯ ≥ 3 ст., возникших на фоне лечения; серьезных НЯ (СНЯ); реакций, связанных с инфузией) с использованием шкалы National Cancer Institute – Common Toxicity Criteria (NCI-CTC) (National Cancer Institute Common Terminology Criteria for Adverse Events – NCI-CICAE v5.0.).

Для статистического анализа использовали стандартный пакет прикладных программ Statistica 10.0 (StatSoft, США) и SPSS Statistics (версия 23.0). Соответствие данных нормальному распределению определялось методом Колмогорова – Смирнова. При ненормальном распределении показателя полученные результаты представлены в виде медианы и межквартильного размаха Me (Q_1 ; Q_3), где Me – медиана, Q_1 – 25 %, Q_3 – 75 %. Описательная статистика для номинальных показателей в таблицах и тексте представлена как абсолютные и относительные величины (n , %). Для сравнения качественных признаков применялся метод Пирсона (χ^2), если общее количество наблюдений было не менее 50 и количество наблюдений каждого варианта значений не менее 5, или точный двусторонний критерий Фишера, если не выполнялись условия применения критерия χ^2 . Критерием статистической достоверности был уровень $p < 0.05$ – при сравнении двух групп и $p < 0.01$ – при сравнении трех и более групп. Общую выживаемость рассчитывали по методу Kaplan – Meier, определяемую как промежуток времени от даты включения в протокол больных до смерти от любой причины (завершенное наблюдение) или до даты последней явки больного (цензурированное наблюдение), с графическим построением кривых

defined as the time from initial diagnosis to the date of progression, relapse, or death, with graphing of the survival curves. The significance of survival differences in the study groups was calculated using the log-rank test, the differences were deemed significant at $p < 0.05$. All calculations of the results obtained for this study were carried out in May 2022. The median follow-up of patients was 13.1 months (95% confidence interval (CI) 9.0–17.5) (range 5–28 months).

RESULTS

The median duration of daratumumab treatment was 12.2 months (95% CI 8.6–15.9) (range 4–22 months). The median number of infusions was 18 (range 2–43). The average duration of infusions was 7.1, 4.4 and 3.5 hours for the first, second and all subsequent infusions, respectively.

The effectiveness of therapy was evaluated in 31 of 32 patients treated with daratumumab since one patient developed the grade 3 infusion reaction (bronchospasm) associated with the administration of the drug which was the reason for discontinuation of therapy.

ORR (CR + vgPR + PR) was 67.7% ($n = 21$), while 9 (29%) patients had vgPR, 12 (38.7%) had PR, and 6 (19.4%) had no responses to therapy but disease was stable, disease progression was recorded in 12.9% of patients (Table 2). The median time to response was 3.5 months (range 2.5–6 months). The median duration of response was 7.9 months (95% CI 4.7–11.5). The main reasons for discontinuation of treatment included disease progression (6 people – 19.3%) and a severe infusion related reaction (3.1%). At the time of analysis of the results, 25 patients continued to receive therapy with daratumumab.

The median PFS in our study was 19.1 months (95% CI 15.3–23.6), while the 12- and 18-month PFS were 91% and 50%, respectively (Fig. 1).

The median OS was not achieved, and the 12- and 18-month overall survival values were 100% and 96.3%, respectively (Fig. 2).

In a subgroup analysis of PFS values depending on the number of prior lines of therapy, there were no statistically significant differences in PFS between groups who received two, or three, or more lines of therapy (the median PFS in patients who received 2 previous lines of therapy was 21 months versus 19.1 months in patients who received 3–4 lines of therapy, log-rank $p = 0.115$), which confirms the rather high and long-term effectiveness of daratumumab monotherapy not only in earlier lines of therapy, but also in heavily pretreated patients with RRMM (Fig. 3).

выживаемости. Под медианой ОВ понимали период времени, который переживет половина пациентов с определенным диагнозом. Выживаемость без прогрессирования определяли как время от первоначального диагноза до даты прогрессирования, рецидива или смерти, с графическим построением кривых выживаемости. Достоверность различий выживаемости в исследуемых группах рассчитывалась с помощью лог-рангового критерия (log-rank test), различия считались достоверными при $p < 0.05$. Все расчеты полученных результатов для данной работы проведены в мае 2022 г. Медиана наблюдения за больными составила 13.1 мес (95% доверительный интервал (ДИ) 9.0–17.5) (диапазон 5–28 мес).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Медиана продолжительности лечения даратумумабом составила 12.2 мес (95% ДИ 8.6–15.9) (диапазон 4–22 мес). Среднее количество проведенных инфузий составило 18 (диапазон 2–43). Средняя продолжительность инфузий составила 7.1, 4.4 и 3.5 ч для первой, второй и всех последующих инфузий соответственно.

Эффективность терапии была оценена у 31 из 32 пациентов, получавших терапию даратумумабом, ввиду того, что у одного больного на фоне первого введения даратумумаба развилась инфузионная реакция 3-й степени тяжести (бронхоспазм), связанная с введением препарата, что явилось причиной прекращения терапии.

ЧОО (ПР + охЧР + ЧР) составила 67.7 % ($n = 21$), при этом у 9 (29 %) больных была установлена охЧР, у 12 (38.7 %) – ЧР, у 6 (19.4 %) объективного ответа на терапию получено не было, но отмечалась стабилизация заболевания, у 12.9 % больных на фоне терапии было зарегистрировано прогрессирование (табл. 2). Медиана

With an increase in the follow-up period, the 12- and 18-month PFS values remained quite high in both analyzed subgroups, however, there was a statistically significant decrease in the proportion of patients who maintained the ability to respond to daratumumab therapy in the subgroup of more pre-treated patients (12-month PFS values were 88% in the group of patients who received 2 lines of chemotherapy (CT) and 92% in the group of patients who received 3–4 lines of CT ($\chi^2 = 0.88$, $p = 0.346$); 18-month PFS values were 65 and 92%, respectively ($\chi^2 = 20.37$, $p < 0.001$)) (see Fig. 3).

When analyzing PFS values depending on age, a statistically significantly lower PFS value was recorded in patients over 65 years of age which most likely may be associated with a greater susceptibility of elderly patients to side effects of CT in the presence of concomitant diseases that cause an increase in the intervals between courses and a decrease in the therapy effectiveness (Fig. 4).

However, despite this, the PFS values in both analyzed subgroups were quite high (the median PFS in patients ≥ 65 years was 19.1 months, while in the group of patients younger than 65 years the median PFS was not reached; 12-month PFS values were 100% in the group of patients younger than 65 years and 86% in the group of patients ≥ 65 years ($\chi^2 = 12.180$, $p < 0.001$); 18-month PFS values were 100% and 72%, respectively ($\chi^2 = 29.401$, $p < 0.001$)), which confirms high effectiveness and duration of daratumumab monotherapy in patients of any age group (see Fig. 4).

In a subgroup analysis of PFS values depending on the depth of the achieved response to daratumumab therapy, it was found that during 12 months of follow-up, 100% of patients with any variant of the achieved response (vgPR, PR, SD) showed no signs of disease progression. With an increase in the follow-up period to 18 months, the proportion of

Таблица 2. Эффективность терапии даратумумабом в монорежиме у пациентов с рецидивирующей/рефрактерной множественной миеломой ($n = 31$)

Table 2. Effectiveness of daratumumab monotherapy in patients with relapsed/refractory multiple myeloma ($n = 31$)

Ответ / Response	Число пациентов, абс. (%) / Number of patients, abs. (%)
Общая частота ответа (ПР + охЧР) Overall response rate (CR + vgPR)	21 (67.7)
ПР / CR	0
охЧР / vgPR	9 (29)
ЧР / PR	12 (38.7)
Стабилизация / Stabilization	6 (19.4)
Прогрессирование / Progression	4 (12.9)

П р и м е ч а н и е . ПР – полная ремиссия; охЧР – очень хорошая частичная ремиссия; ЧР – частичная ремиссия.
N o t e . CR – complete response; vgPR – very good partial response; PR – partial response.

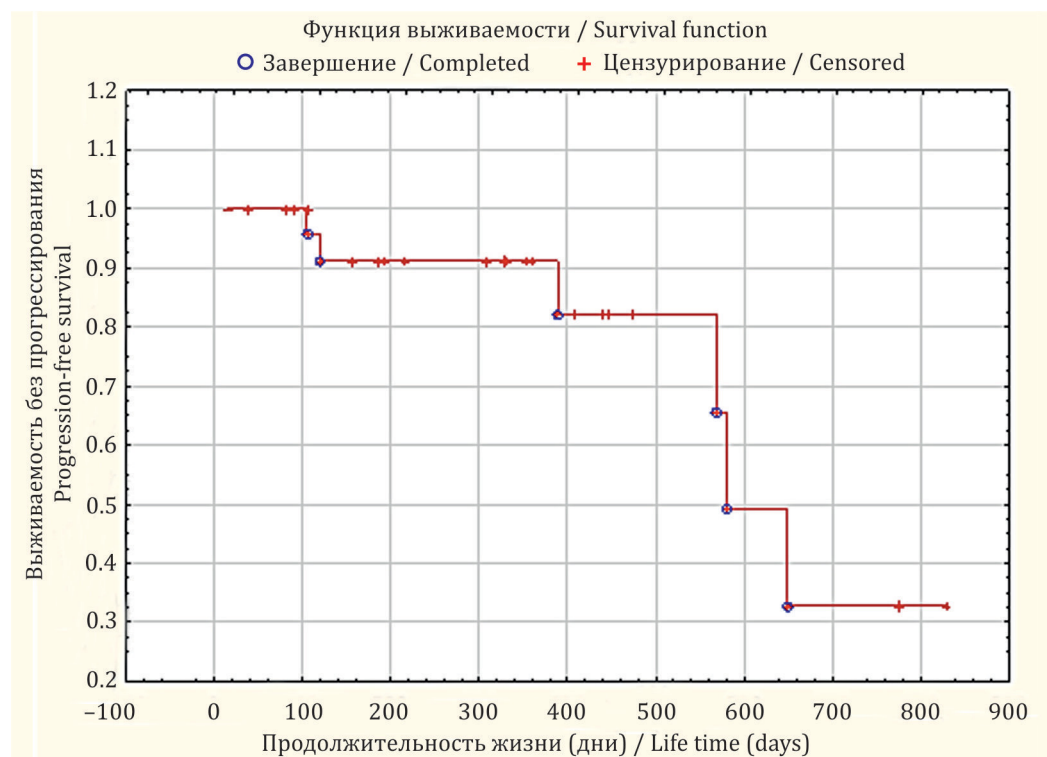


Рис. 1. Выживаемость без прогрессирования пациентов с рецидивирующей/рефрактерной множественной миеломой на фоне терапии даратумумабом в монорежиме
Fig. 1. Progression-free survival in patients with relapsed/refractory multiple myeloma who received daratumumab monotherapy

времени до наступления ответа составила 3.5 мес (диапазон 2.5–6 мес). Средняя продолжительность ответа составила 7.9 мес (95% ДИ 4.7–11.5). Основные причины прекращения лечения включали прогрессирование заболевания (6 чел. – 19.3 %) и развитие тяжелой инфузионной реакции, связанной с препаратом (3.1 %). На момент анализа результатов 25 пациентов продолжали получать терапию даратумумабом.

Медиана ВБП в нашем исследовании составила 19.1 мес (95% ДИ 15.3–23.6), при этом 12- и 18-месячная ВБП составила 91 и 50 % соответственно (рис. 1).

Медиана ОВ не была достигнута, а значения 12- и 18-месячной общей выживаемости составили 100 и 96.3 % соответственно (рис. 2).

При подгрупповом анализе показателей ВБП в зависимости от количества линий предшествующей терапии статистически значимых различий ВБП между группами, получившими две или три и более линии терапии, обнаружено не было (медиана ВБП у пациентов, получивших 2 предшествующие линии терапии, составила 21 мес против 19.1 мес у пациентов, получивших 3–4 линии терапии, log-rank $p = 0.115$), что подтверждает достаточно высокую и продолжитель-

patients maintaining a response to daratumumab therapy decreased statistically significantly only in the subgroup of patients with signs of stable disease, but remained to be quite high (12-month PFS was 100% in the vgPR, PR, SD subgroup; 18-month PFS – 100% in the vgPR and PR subgroups and 81% – in the SD subgroup, respectively ($\chi^2 = 19.207$, $p < 0.001$)), which indicates the possibility of improving the survival of patients with RRMM in the setting of long-term daratumumab monotherapy at any depth of response (Fig. 5).

Analysis of the safety of the therapy showed a rather favorable toxicity profile of daratumumab. The main types of toxicity including infusion reactions are given in Table 3.

Among the non-hematological adverse events that occurred during daratumumab therapy, in our patients there were registered upper and lower respiratory tract infections (in 15.6 and 12.5% of patients, respectively) and fatigue (15.6%), mainly grade 1–2 degrees of severity, were most often reported in our patients ($\geq 10\%$), which did not require interruption of therapy or an increase in the intervals between the drug administration (see Table 3). Hematological toxicity was characterized by anemia (15.6%), neutropenia (6.2%) and thrombocytopenia (6.2%) and

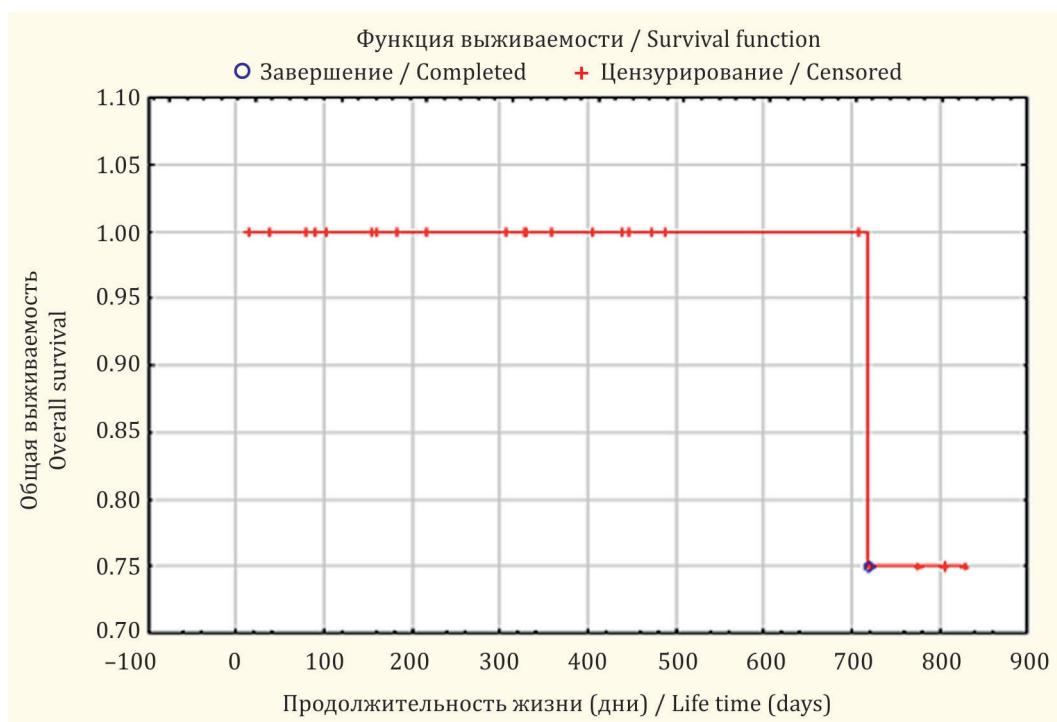


Рис. 2. Общая выживаемость пациентов с рецидивирующей/рефрактерной множественной миеломой на фоне терапии даратумумабом в монорежиме

Fig. 2. Overall survival in patients with relapsed/refractory multiple myeloma who received daratumumab monotherapy

ную эффективность монотерапии даратумумабом не только в более ранних линиях терапии, но и у интенсивно предлеченных пациентов с РРММ (рис. 3).

С увеличением времени наблюдения показатели 12- и 18-месячной ВБП сохранялись достаточно высокими в обеих анализируемых подгруппах, однако отмечалось статистически значимое снижение доли пациентов, сохраняющих ответ на терапию даратумумабом, в подгруппе более предлеченных больных (12-месячные показатели ВБП составили 88 % в группе больных, получивших 2 линии химиотерапии (ХТ), и 92 % в группе пациентов, получивших 3–4 линии ХТ ($\chi^2 = 0.88$, $p = 0.346$), 18-месячные показатели ВБП составили 65 и 92 % соответственно ($\chi^2 = 20.37$, $p < 0.001$)) (см. рис. 3).

При анализе показателей ВБП в зависимости от возраста статистически значимо меньшее значение ВБП было зарегистрировано у пациентов старше 65 лет, что, вероятнее всего, может быть связано с большей восприимчивостью пациентов пожилого возраста к побочным явлениям ХТ на фоне наличия сопутствующих заболеваний, обуславливающих увеличение промежутков между курсами и снижение эффективности терапии (рис. 4).

corresponded to the grade 1–2 of severity, and therefore there was no need for the exchange blood transfusion or use of colony-stimulating factors (see Table 3).

Infusion reactions associated with the administration of daratumumab occurred in 43.7% of patients, including 2 patients, they corresponded to grade 3 (1 – dyspnea and 1 – bronchospasm, respectively), which led to discontinuation of therapy in one patient. In the majority of patients (37.5%), infusion reactions (nasal congestion, dyspnea, cough, hyperthermia, allergic rhinitis, irritation in the throat) corresponded to grade 1–2, developed mainly during the first administration of the drug, were easily reversed by antihistamines, glucocorticosteroids, paracetamol and were not the reason for discontinuation of daratumumab therapy (see Table 3).

With the development of an infusion reaction, daratumumab infusion was temporarily suspended and patients were administered antihistamines (diphenhydramine 50 mg i/v), paracetamol 500 mg, and glucocorticosteroid hormones. After reversing the reaction, infusion of daratumumab was resumed, but at a slower rate (25–50 ml/h). In the absence of repeated infusion reactions, infusions of the drug were performed in the standard regimen.

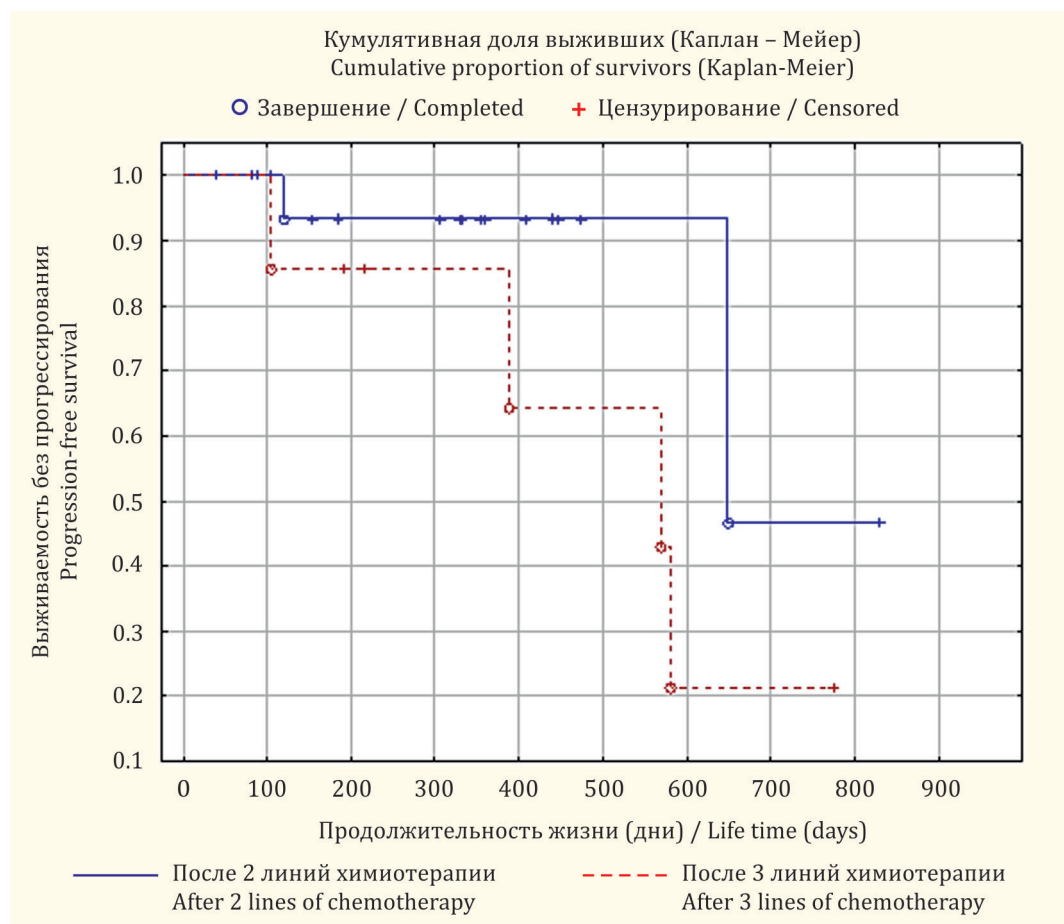


Рис. 3. Выживаемость без прогрессирования пациентов с рецидивирующей/рефрактерной множественной миеломой, получавших терапию даратумумабом в монорежиме, в зависимости от количества линий предшествующей терапии

Fig. 3. Progression-free survival in patients with relapsed/refractory multiple myeloma who received daratumumab monotherapy, depending on the number of prior lines of therapy

Однако, несмотря на это, показатели ВБП в обеих анализируемых подгруппах оказались достаточно высокими (медиана ВБП у пациентов ≥ 65 лет составила 19.1 мес, в то время как в группе больных моложе 65 лет медиана ВБП была не достигнута; 12-месячные показатели ВБП составили 100 % в группе больных моложе 65 лет и 86 % в группе пациентов ≥ 65 лет ($\chi^2 = 12.180$, $p < 0.001$), 18-месячные показатели ВБП составили 100 и 72 % соответственно ($\chi^2 = 29.401$, $p < 0.001$)), что подтверждает высокую эффективность и продолжительность терапии даратумумабом в монорежиме у пациентов любой возрастной группы (см. рис. 4).

При подгрупповом анализе показателей ВБП в зависимости от глубины достигнутого ответа на терапию даратумумабом было отмечено, что в течение 12 мес наблюдения у 100 % пациентов с любым вариантом глубины достигнутого ответа (оХЧР, ЧР, СЗ) не было зарегистрировано при-

DISCUSSION

In Novosibirsk and the Novosibirsk region, the possibility of using daratumumab monotherapy in patients with refractory/relapsed MM has appeared since March 2020 as a part of the Federal Program for the Treatment of 14 High-Cost Entities. From March 2020 to February 2022, 32 patients with RRMM received this therapy.

The results of our analysis of the effectiveness and safety of daratumumab therapy in real-life clinical practice showed high and long-term effectiveness, as well as a fairly favorable safety profile of daratumumab monotherapy in patients with double refractory RRMM.

Despite the fact that our study cohort included patients with poor prognostic factors (56.2% of patients aged ≥ 65 years, 56.3% with bone-related soft tissue plasmacytomas at the start of daratumumab therapy, 37.5% with high LDH activity,

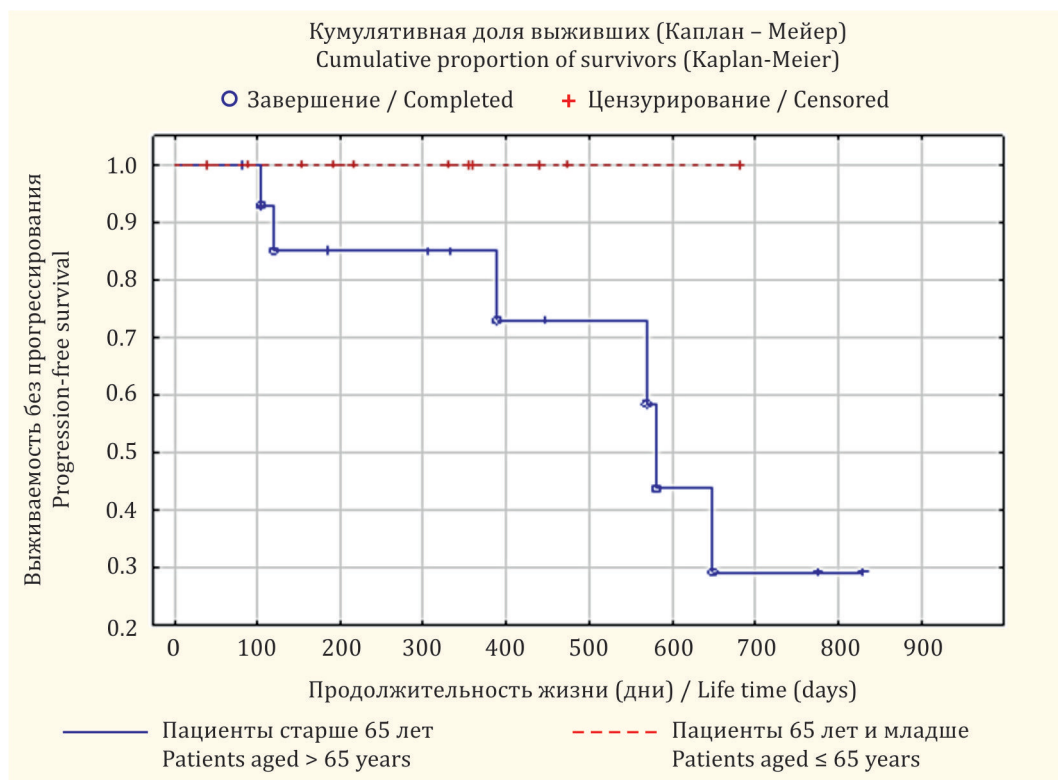


Рис. 4. Выживаемость без прогрессирования пациентов с рецидивирующей/рефрактерной множественной миеломой, получавших терапию даратумумабом в монорежиме, в зависимости от возраста пациентов

Fig. 4. Progression-free survival in patients with relapsed/refractory multiple myeloma who received daratumumab monotherapy, depending on the age of patients

знаков прогрессирования заболевания. При увеличении времени наблюдения до 18 мес доля пациентов, сохраняющих ответ на терапию даратумумабом, статистически значимо уменьшилась только в подгруппе пациентов с признаками стабилизации заболевания, но продолжала оставаться достаточно высокой (12-месячная ВБП составила 100 % в подгруппе охЧР, ЧР, СЗ; 18-месячная ВБП – 100 % в подгруппах охЧР и ЧР и 81 % – в подгруппе СЗ соответственно ($\chi^2 = 19.207$, $p < 0.001$)), что указывает на возможность пролонгирования выживаемости пациентов с РРММ на фоне длительной терапии даратумумабом в монорежиме при любом варианте глубины достигнутого ответа (рис. 5).

Анализ безопасности проводимой терапии показал достаточно благоприятный профиль токсичности даратумумаба. Основные виды токсичности, включая инфузионные реакции, приведены в табл. 3.

Среди негематологических нежелательных явлений, возникших на фоне терапии даратумумабом, у наших пациентов наиболее часто (≥ 10 %) регистрировались инфекции верхних и

31.2% with grade 2–3 CKD, and in 12.5% of patients creatinine clearance was from ≥ 30 to ≤ 60 ml/min/1.73 m² (according to CKD-EPI), 34.4% of patients previously underwent auto-HSCT, 75% were double refractory), most of the patients had comorbidities and a long history of MM (the median time from diagnosis of MM to the start of treatment with daratumumab was 73.1 months (range 18–144 months)); response to daratumumab therapy occurred fairly quickly and was prolonged in the majority patients (the median time to response was 3.5 months (range 2.5–6 months), and the median duration of response was 7.9 months (95% CI 4.7–11.5)).

In 67.7% of patients, a deep clinical response was achieved (vgPR in 29%, PR in 38.7%), and in 19.4% of patients during therapy there were no signs of progression and the disease was stabilized. The results obtained indicate that the use of daratumumab in most cases allows to overcome double refractoriness, as well as the negative impact of unfavorable prognostic factors, and even as a monotherapy can be an effective treatment option for patients with RRMM.

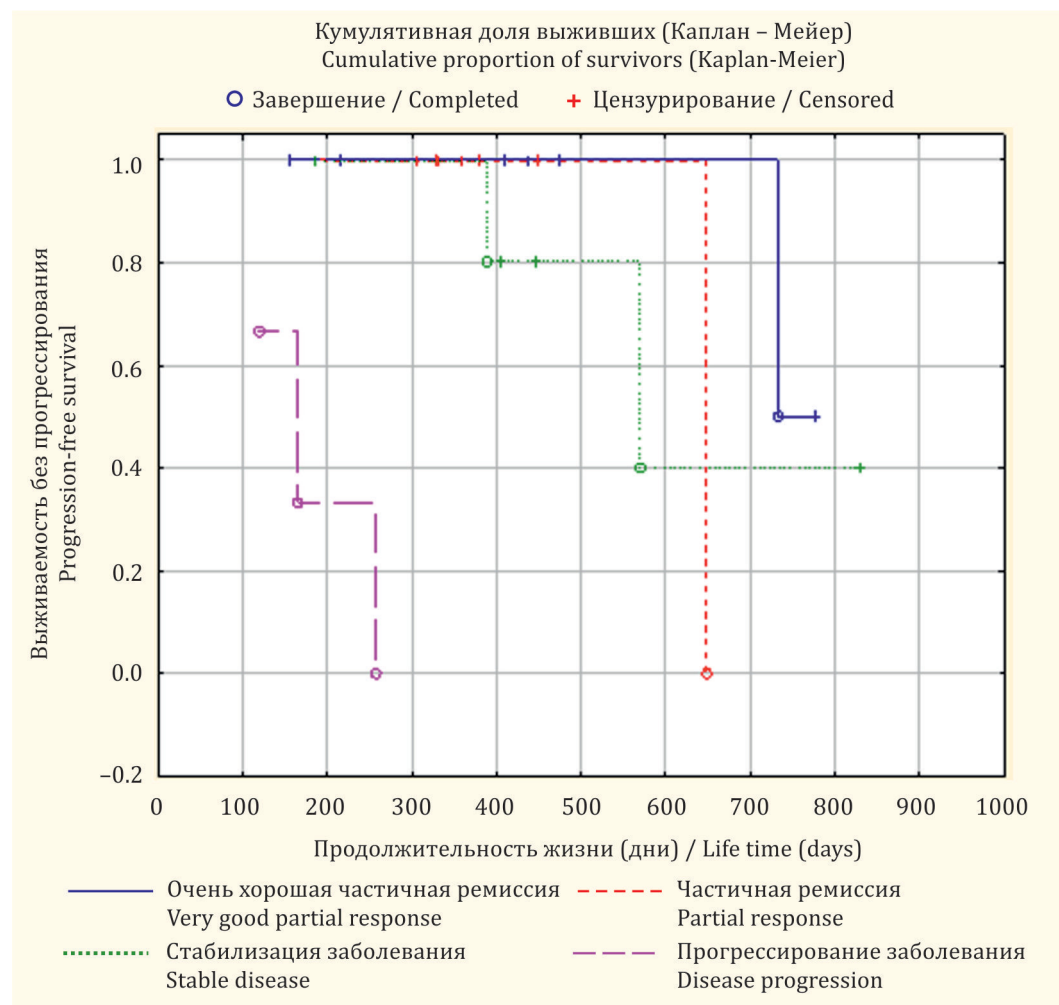


Рис. 5. Выживаемость без прогрессирования пациентов с рецидивирующей/рефрактерной множественной миеломой, получавших терапию даратумумабом в монорежиме, в зависимости от глубины ответа на терапию

Fig. 5. Progression-free survival in patients with relapsed/refractory multiple myeloma who received daratumumab monotherapy, depending on the depth of response to therapy

нижних дыхательных путей (у 15.6 и 12.5 % пациентов соответственно) и усталость (15.6 %), преимущественно 1–2-й степени тяжести, которые не требовали прерывания терапии или увеличения промежутков между введениями препарата (см. табл. 3).

Гематологическая токсичность характеризовалась анемией (15.6 %), нейтропенией (6.2 %) и тромбоцитопенией (6.2 %) и соответствовала 1–2-й степени тяжести, в связи с чем необходимости в проведении заместительной гемотранфузионной терапии или назначении колониестимулирующих факторов не было (см. табл. 3).

Инфузионные реакции, связанные с введением даратумумаба, имели место у 43.7 % пациентов, в том числе у 2 больных они соответствовали 3-й степени тяжести (1 – одышка и 1 – брон-

Despite the pretreatment, presence of double refractoriness in the majority of patients (75%), the daratumumab therapy provided a significant survival advantage for patients with RRMM. Thus, the median PFS in our study was 19.1 months (95% CI 15.3–23.6), and the 12- and 18-month PFS were at the level of 91 and 50%, respectively. The median OS was not achieved, and 12- and 18-month overall survival were 100% and 96.3%, respectively.

In a subgroup analysis, we showed that unfavorable factors that have a statistically significant effect on PFS are the inadequate depth of the achieved response to daratumumab therapy, as well as the age of patients ≥ 65 years, while the number of prior lines of therapy did not affect survival rates which confirms the possibility of effective use of daratumumab monotherapy in patients

Таблица 3. Нежелательные явления у пациентов с рефрактерной/рецидивирующей множественной миеломой, получавших даратумумаб в монорежиме ($n = 32$), абс. (%)**Table 3.** Adverse events in patients with refractory/relapsed multiple myeloma treated with daratumumab as monotherapy ($n = 32$), abs. (%)

Нежелательные явления, связанные с терапией Adverse events associated with therapy	Любая степень тяжести Any level of severity	Степень ≥ 3 Severity grade ≥ 3
<i>Инфузионные реакции / Infusion reactions</i>		
Бронхоспазм / Bronchospasm	0	1 (3.1) (3-я ст.) / (grade 3)
Заложенность носа (1-й ст.), первое введение Nasal congestion (grade 1), first administration	5 (15.6)	0
Кашель (1-й ст.), первое введение Cough (grade 1), first administration	4 (12.5)	0
Аллергический ринит (1-й ст.), первое введение Allergic rhinitis (grade 1), first administration	5 (15.6)	0
Озноб, первое введение / Chills, first administration	3 (9.4)	0
Першение в горле (1-й ст.), первое введение Throat irritation (grade 1), first administration	6 (18.7)	0
Одышка / Dyspnea	3 (9.3)	1 (3.1) (3-я ст.) / (grade 3)
Гипертермия / Hyperthermia	5 (15.6)	0
Тошнота / Nausea	1 (3.1)	0
<i>Негематологическая токсичность / Non-hematological toxicity</i>		
Инфекции верхних дыхательных путей Upper respiratory tract infections	5 (15.6)	0
Инфекции нижних дыхательных путей Low respiratory tract infections	4 (12.5)	1 (3.1) (3-я ст.) / (grade 3)
Боли в костях / Bone pain	2 (6.2)	0
Усталость / Fatigue	5 (15.6)	0
<i>Гематологическая токсичность / Hematological toxicity</i>		
Анемия / Anemia	5 (15.6)	0
Нейтропения / Neutropenia	2 (6.2)	0
Тромбоцитопения / Thrombocytopenia	2 (6.2)	0

хоспазм соответственно), что привело к прекращению терапии у одного пациента. У большинства пациентов (37.5 %) инфузионные реакции (заложенность носа, одышка, кашель, гипертермия, аллергический ринит, першение в горле) соответствовали 1-й и 2-й степени тяжести, развивались преимущественно при первом введении препарата, легко купировались назначением антигистаминных препаратов, глюкокортикостероидов, парацетамола и не являлись причиной отказа от терапии даратумумабом (см. табл. 3).

При развитии инфузионной реакции введение даратумумаба временно приостанавливалось, пациентам вводились антигистаминные препараты (дифенгидрамин 50 мг в/в), парацетамол 500 мг и глюкокортикостероидные гормоны. После купирования реакции инфузия даратумумаба возобновлялась, но в более медленном режиме (25–50 мл/ч). При отсутствии

with RRMM who received more than 2–3 lines of therapy.

It should be noted that, despite the fact that the depth of response had a statistically significant effect on the PFS parameters, patients who achieved only stabilization of the disease during long-term therapy with daratumumab also had a significant advantage in PFS over the patients with signs of disease progression. Thus, the results of a subgroup analysis of PFS depending on the depth of response to therapy showed that within 12 months follow-up observation, 100% of patients with any variant of the depth of the achieved response to treatment (vgPR, PR, SD) showed no signs of disease progression. With an increase in the follow-up period, 18-month PFS values decreased statistically significantly in the subgroup of patients with signs of stable disease, but remained quite high (18-month PFS was 100% in the vgPR and PR subgroups and 81% in the SD subgroup,

повторных инфузионных реакций в дальнейшем инфузии препарата выполнялись в стандартном режиме.

ОБСУЖДЕНИЕ

В г. Новосибирске и Новосибирской области возможность применения даратумумаба в монорежиме у пациентов с рефрактерной/рецидивирующей ММ появилась с марта 2020 г. в рамках Федеральной программы по лечению 14 высокозатратных нозологий. С марта 2020 по февраль 2022 г. данную терапию получили 32 пациента с РРММ.

Результаты проведенного нами анализа эффективности и безопасности терапии даратумумабом в условиях реальной клинической практики показали высокую и продолжительную эффективность, а также достаточно благоприятный профиль безопасности монорежима даратумумаба у пациентов с РРММ с двойной рефрактерностью.

Несмотря на то, что когорта нашего исследования включала больных, имеющих факторы неблагоприятного прогноза (56.2 % пациентов в возрасте ≥ 65 лет, 56.3 % – с оссальными мягкоткаными плазмочитомами на момент начала терапии даратумумабом, 37.5 % – с высокой активностью ЛДГ, 31.2 % – с ХБП 2–3-й стадии, причем у 12.5 % больных клиренс креатинина составлял ≥ 30 до ≤ 60 мл/мин/1.73 м² (по СКД-ЕРІ), 34.4 % больным ранее проведена ауто-ТГСК, у 75 % была зарегистрирована двойная рефрактерность), у большей части пациентов имелись сопутствующие заболевания и длительный анамнез течения ММ (медиана времени от момента постановки диагноза ММ до начала лечения даратумумабом составила 73.1 мес (диапазон 18–144 мес)), ответ на терапию даратумумабом наступал достаточно быстро и был продолжительным у большинства больных (медиана времени до наступления ответа составила 3.5 мес (диапазон 2.5–6 мес), а средняя продолжительность ответа – 7.9 мес (95% ДИ 4.7–11.5)).

У 67.7 % пациентов удалось достичь глубокого клинического ответа (охЧР – у 29 %, ЧР – у 38.7 %), а еще у 19.4 % больных на фоне терапии отсутствовали признаки прогрессирования и сохранялся контроль над заболеванием в виде стабилизации опухолевого процесса. Полученные результаты указывают на то, что применение даратумумаба в большинстве случаев позволяет преодолеть двойную рефрактерность, а также негативное влияние факторов неблагоприятного прогноза и даже в монорежиме может

respectively ($\chi^2 = 19.207$, $p < 0.001$), which indicates the possibility of improvement in the survival of patients with MM during long-term monotherapy with daratumumab, even in the absence of a deep clinical response. In the literature, this fact of increasing survival of MM patients in long-term therapy with daratumumab is explained by the influence of additional immune-mediated and immunomodulatory mechanisms of the drug. Thus, in a study by Krejcik et al. it has been suggested that additional immunomodulatory effects mediated by T cell activation and expansion due to the elimination of regulatory T and B cells and myeloid-derived suppressor cells, that express CD38, may contribute to a deeper and longer response [11].

In our study, the analysis of adverse events of the therapy did not record new manifestations of toxicity and showed a rather favorable safety profile of daratumumab, similar to previously published data [12, 13, 15–21]. No infusion reactions or adverse events that occurred during therapy did not lead to death of patients. Only in one patient (out of 32) therapy was discontinued as a result of grade 3 infusion reaction (bronchospasm) on the first administration of the drug. In most cases (37.5% of patients), infusion reactions (nasal congestion, shortness of breath, cough, hyperthermia, allergic rhinitis, throat irritation) corresponded to grade 1 and 2, developed mainly during the first infusion, were easily reversed by administration of antihistamines, glucocorticosteroids, paracetamol, and were not the reason for discontinuation of daratumumab therapy. Decreased infusion rate and adequate premedication prior to the daratumumab administration, resulted in a decrease in the frequency and severity of these reactions during subsequent infusions.

Manifestations of hematological toxicity were characterized by anemia (15.6%), neutropenia (6.2%) and thrombocytopenia (6.2%), predominantly of grade 1–2 and did not require exchange blood transfusion or use of colony-stimulating factors in the setting of therapy with daratumumab.

The likelihood of grade ≥ 3 adverse events (mainly pneumonia) and severe AEs (dyspnea, hypotension) was low, confirming the favorable tolerability and safety profile of daratumumab monotherapy in patients with RRMM.

It should be noted that, when compared with literature data, the results of our study showed similar effectiveness of daratumumab monotherapy to those of the registration trials GEN501 [12] and SIRIUS [13] [2]. Thus, the results of a pooled analysis of the trials GEN501 and SIRIUS, which included 148 patients who received an average of 5 prior lines of

являться эффективным вариантом терапии больных РРММ.

Несмотря на предпочтенность, наличие двойной рефрактерности у большинства пациентов (75 %), терапия даратумумабом давала существенное преимущество в выживаемости больных РРММ. Так, медиана ВБП в нашем исследовании составила 19.1 мес (95% ДИ 15.3–23.6), а 12- и 18-месячная ВБП были на уровне 91 и 50 % соответственно. Медиана ОВ не была достигнута, а значения 12- и 18-месячной общей выживаемости составили 100 и 96.3 % соответственно.

При подгрупповом анализе нами было показано, что неблагоприятными факторами, оказывающими статистически значимое влияние на показатели ВБП, являются недостаточная глубина достигнутого ответа на терапию даратумумабом, а также возраст пациентов ≥ 65 лет, в то время как количество линий предшествующей терапии не влияло на показатели выживаемости, что подтверждает возможность эффективного использования монорежима даратумумаба у пациентов с РРММ, получивших более 2–3 линий терапии.

Следует отметить, что, несмотря на то, что глубина ответа оказывала статистически значимое влияние на показатели ВБП, пациенты, достигшие только стабилизации заболевания на фоне длительной терапии даратумумабом, также имели существенное преимущество в ВБП по сравнению с больными, имеющими признаки прогрессирования заболевания. Так, результаты подгруппового анализа ВБП в зависимости от глубины ответа на терапию показали, что в течение 12 мес наблюдения у 100 % пациентов с любым вариантом глубины достигнутого ответа на лечение (оХЧР, ЧР, СЗ) не было зарегистрировано признаков прогрессирования заболевания. При увеличении времени наблюдения 18-месячные показатели ВБП статистически значимо уменьшились в подгруппе пациентов с признаками стабилизации заболевания, но оставались достаточно высокими (18-месячная ВБП составила 100 % в подгруппах оХЧР и ЧР и 81 % – в подгруппе СЗ соответственно ($\chi^2 = 19.207$, $p < 0.001$)), что указывает на возможность prolongирования выживаемости пациентов с ММ на фоне длительной терапии даратумумабом в монорежиме даже при отсутствии глубокого клинического ответа. В литературе данный факт увеличения выживаемости больных ММ при длительном воздействии даратумумаба объясняется влиянием дополнительных иммуноопосредованных и иммуномодулирующих механизмов препа-

therapy (range 2–14), showed ORR of 31.1% (CR – 4.7%) with the median response duration of 7.6 months. With the median follow-up of 20.7 months (range 0.5–27.1 months), the median PFS was 4.0 months and the median OS was 20.1 months, respectively [2].

Our data were also comparable with the results of studies of daratumumab monotherapy in real-life clinical practice carried out in other countries and showed a steady clinical effectiveness and safety of daratumumab in patients with RRMM [15–21, 31] (Table 4).

The peculiarities of our study include the fact that the largest number of patients in the analyzed cohort received daratumumab in the early stages, mainly as a third-line therapy (75%), which probably could contribute to a longer overall and progression-free survival, as well as longer duration of response to treatment.

CONCLUSION

The study's results of the use of monotherapy with daratumumab in real-life clinical practice confirmed its effectiveness and safety in patients with RRMM. Third-line therapy with daratumumab, including double refractory patients, allows to achieve tumor control in 75% of patients, is safe and satisfactorily tolerated. The depth of response to daratumumab therapy has a significant effect on the prolongation of PFS, regardless of the number of prior lines of therapy.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

рата. Так, в исследовании J. Krejcik et al. было высказано предположение, что дополнительные иммуномодулирующие эффекты, опосредованные активацией и экспансией Т-клеток, которые обусловлены элиминацией экспрессирующих CD38 регуляторных Т- и В-клеток и клеток-супрессоров миелоидного происхождения, могут способствовать более глубокому и продолжительному ответу [11].

В нашем исследовании анализ нежелательных явлений проводимой терапии не зафиксировал новых проявлений токсичности и показал достаточно благоприятный профиль безопасности даратумумаба, аналогичный ранее опубликованным данным [12, 13, 15–21]. Никакие инфузионные реакции или нежелательные явления, возникшие на фоне терапии, не привели к смерти

Таблица 4. Результаты исследований эффективности терапии даратумумабом в монорежиме в реальной клинической практике
Table 4. The results of studies of the effectiveness of daratumumab monotherapy in real-life clinical practice

Характеристика Characteristics	Chari et al. [15]	Park et al. [16]	Salomon-Perzyński et al. [17]	Cejalvo et al. [18]	Cook et al. [19]	Lovas et al. [20]	Бессмельцев и др. [31] Bessmeltsev et al. [31]	Iida et al. [21]	Beksac et al. [7]
Тип исследования Study type	ПРД ЕАТР	ПРД ЕАТР	ПРД ЕАТР	Открытое исследование (диализные пациенты) Open-label study (dialysis patients)	ПРД ЕАТР	РКП RISР	ПРД ЕАТР	I фаза исследования, повышение дозы Phase 1, dose escalation	ПРД ЕАТР
Медиана продолжительности наблюдения, мес Median duration of follow-up, months	2.8	12	7.2	12	6.3	18.6	-	9.9	14.8
Пациенты / Patients, n	348	16	30	12	293	99	10	-	42
Средний возраст, лет Mean age, years	65	69	62.4	62	64	-	57	-	56.5
Медиана интервала с момента постановки диагноза ММ, лет Median time since MM diagnosis, years	н.д. ND	6.95	4.1	2.2	н.д. ND	-	2-9	-	5.1
Медиана предыдущих линий терапии, n Median of previous lines of therapy, n	>3	4	4	3	≥3	3	5 (3-6)	≥2	5.5
Средняя продолжительность терапии, мес Median duration of therapy, months	1.9	10.0	5.6	1.5	4.2	-	7.6	-	6
Медиана ВБП, мес Median PFS, months	н.д. ND	2.7	9.5	н.д. ND	4.63	17.0	17.8	9.5	5.5
Медиана ОБ, мес Median OS, months	н.д. ND	9.8-10.7	13.8	н.д. ND	н.д. ND	н.д. ND	Не достигнута Not achieved	-	19.3 (среднее) (mean)
ЧОО (ЧР или лучше), % ORR (PR or better), %	23	56.3	42.8	50	33.1	63.6	50	44.0	45.2
ПР или лучше, % PR or better, %	1	25	18.5	0	2.7	13.6	10	-	9.5

П р и м е ч а н и е . ПРД – программа раннего доступа; н.д. – нет данных; ВБП – выживаемость без прогрессирования; ОБ – общая выживаемость; ЧОО – частота общего ответа; ЧР – частичная ремиссия; ПР – полная ремиссия.
 Note . EATR – early access treatment protocol; RISР – real-life clinical practice; MM – multiple myeloma; ND – no data; PFS – progression-free survival; OS – overall survival; ORR – overall response rate; PR – partial response; CR – complete response.

пациентов. Только у одного больного (из 32) терапия была завершена в результате возникновения инфузионной реакции 3-й степени тяжести (бронхоспазм) на первое введение препарата. В большинстве же случаев (37.5 % пациентов) инфузионные реакции (заложенность носа, одышка, кашель, гипертермия, аллергический ринит, першение в горле) соответствовали 1-й и 2-й степени тяжести, развивались преимущественно при первом введении препарата, легко купировались назначением антигистаминных препаратов, глюкокортикостероидов, парацетамола и не являлись причиной для отказа от терапии даратумумабом. Снижение скорости инфузии и адекватная премедикация перед введением даратумумаба приводили к снижению частоты и тяжести данных реакций при последующих введениях.

Проявления гематологической токсичности характеризовалась анемией (15.6 %), нейтропенией (6.2 %) и тромбоцитопенией (6.2 %) преимущественно 1–2-й степени тяжести и не требовали проведения заместительной гемотрансфузионной терапии или назначения колониестимулирующих факторов на фоне проведения активной терапии даратумумабом.

Вероятность нежелательных явлений ≥ 3 степени тяжести (в основном пневмония) и серьезных НЯ (одышка, гипотония) была низкой, что подтверждает благоприятный профиль переносимости и безопасности монотерапии даратумумабом у пациентов с РРММ.

Следует отметить, что при сопоставлении с данными литературы результаты настоящего исследования показали аналогичную с регистрационными исследованиями GEN501 [12] и SIRIUS [13] эффективность монотерапии даратумумабом [2]. Так, результаты объединенного анализа регистрационных исследований GEN501 и SIRIUS, в которых принимали участие 148 пациентов, получивших в среднем 5 предшествующих

линий терапии (диапазон 2–14), показали ЧОО – 31.1 % (ПР – 4.7 %) с медианой продолжительности ответа 7.6 мес. При средней продолжительности наблюдения 20.7 мес (диапазон 0.5–27.1 мес) медиана ВБП составила 4.0 мес, а медиана ОВ – 20.1 мес соответственно [2].

Полученные нами данные были также сопоставимы с результатами исследований монорежима даратумумаба в реальной клинической практике, проведенных в других странах и показавших устойчивую клиническую эффективность и безопасность даратумумаба у больных РРММ [15–21, 31] (табл. 4).

К особенностям нашего исследования можно отнести тот факт, что наибольшее количество пациентов анализируемой когорты получало даратумумаб в ранние сроки, преимущественно в качестве третьей линии терапии (75 %), что, вероятно, могло способствовать более длительной как общей, так и беспрогрессивной выживаемости, а также большей продолжительности ответа на лечение.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Заключение. Результаты настоящего исследования применения монотерапии даратумумабом в условиях реальной клинической практики подтвердили его эффективность и безопасность для пациентов с РРММ. Терапия даратумумабом в третьей линии, в том числе у пациентов с двойной рефрактерностью, позволяет достичь контроля над опухолью у 75 % пациентов, является безопасной и удовлетворительно переносится. Глубина ответа на терапию даратумумабом значительно влияет на пролонгирование ВБП, независимо от количества линий предшествующей терапии.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Morandi F., Horenstein A.L., Costa F. et al. CD38: a target for immunotherapeutic approaches in multiple myeloma // *Front. Immunol.* 2018;9:2722. DOI: 10.3389/fimmu.2018.02722.
2. Usmani S.Z., Weiss B.M., Plesner T. et al. Clinical efficacy of daratumumab monotherapy in patients with heavily pretreated relapsed or refractory multiple myeloma // *Blood.* 2016;128(1):37-44. DOI: 10.1182/blood-2016-03-705210.
3. van de Donk N.W.C.J., Richardson P.G., Malavasi F. CD38 antibodies in multiple myeloma: back to the future // *Blood.* 2018;131(1):13-29. DOI: 10.1182/blood-2017-06-740944.

REFERENCES

1. Morandi F., Horenstein A.L., Costa F. et al. CD38: a target for immunotherapeutic approaches in multiple myeloma. *Front. Immunol.* 2018;9:2722. DOI: 10.3389/fimmu.2018.02722.
2. Usmani S.Z., Weiss B.M., Plesner T. et al. Clinical efficacy of daratumumab monotherapy in patients with heavily pretreated relapsed or refractory multiple myeloma. *Blood.* 2016;128(1):37-44. DOI: 10.1182/blood-2016-03-705210.
3. van de Donk N.W.C.J., Richardson P.G., Malavasi F. CD38 antibodies in multiple myeloma: back to the future. *Blood.* 2018;131(1):13-29. DOI: 10.1182/blood-2017-06-740944.

4. Usmani S.Z., Diels J., Ito T. et al. Daratumumab monotherapy compared with historical control data in heavily pretreated and highly refractory patients with multiple myeloma: an adjusted treatment comparison // *Am. J. Hematol.* 2017;92(8):E146-E152. DOI: 10.1002/ajh.24781.
5. Usmani S., Ahmadi T., Ng Y. et al. Analysis of real-world data on overall survival in multiple myeloma patients with ≥ 3 prior lines of therapy including a proteasome inhibitor (PI) and an immunomodulatory drug (IMiD), or double refractory to a PI and an IMiD // *Oncologist.* 2016;21(11):1355-1361. DOI: 10.1634/theoncologist.2016-0104.
6. Jelínek T., Mihályová J., Hájek R. CD38 targeted treatment for multiple myeloma // *Vnitr Lek.* 2018;64(10):939-948. PMID: 30590941.
7. Beksac M., Aydin Y., Goker H. et al. Early access program results from Turkey and a literature review on daratumumab monotherapy among heavily pretreated patients with relapsed/refractory myeloma // *Clin. Lymphoma Myeloma Leuk.* 2020;20(8):e474-e484. DOI: 10.1016/j.clml.2020.02.017.
8. de Weers M., Tai Y.T., van der Veer M.S. et al. Daratumumab, a novel therapeutic human CD38 monoclonal antibody, induces killing of multiple myeloma and other hematological tumors // *J. Immunol.* 2011;186(3):1840-1848. DOI: 10.4049/jimmunol.1003032.
9. Overdijk M.B., Verploegen S., Bögels M. et al. Antibody-mediated phagocytosis contributes to the anti-tumor activity of the therapeutic antibody daratumumab in lymphoma and multiple myeloma // *MAbs.* 2015;7(2):311-321. DOI: 10.1080/19420862.2015.1007813.
10. van Bueren J.L., Jakobs D., Kaldenhoven N. et al. Direct *in vitro* comparison of daratumumab with surrogate analogs of CD38 antibodies MOR03087, SAR650984 and Ab79 // *Blood.* 2014;124(21):3474. DOI: 10.1182/blood.V124.21.3474.3474.
11. Krejcik J., Casneuf T., Nijhof I.S. et al. Daratumumab depletes CD38+ immune regulatory cells, promotes T-cell expansion, and skews T-cell repertoire in multiple myeloma // *Blood.* 2016;128(3):384-394. DOI: 10.1182/blood-2015-12-687749.
12. Lokhorst H.M., Plesner T., Laubach J.P. et al. Targeting CD38 with daratumumab monotherapy in multiple myeloma // *N. Engl. J. Med.* 2015;373(13):1207-1219. DOI: 10.1056/NEJMoa1506348.
13. Lonial S., Weiss B.M., Usmani S.Z. et al. Daratumumab monotherapy in patients with treatment-refractory multiple myeloma (SIRIUS): an open-label, randomised, phase 2 trial // *Lancet.* 2016;387(10027):1551-1560. DOI: 10.1016/S0140-6736(15)01120-4.
14. McKeage K. Daratumumab: First global approval // *Drugs.* 2016;76(2):275-281. DOI: 10.1007/s40265-015-0536-1.
15. Chari A., Lonial S., Mark T.M. et al. Results of an early access treatment protocol of daratumumab in United States patients with relapsed or refractory multiple myeloma // *Cancer.* 2018;124(22):4342-4349. DOI: 10.1002/cncr.31706.
16. Park S.S., Eom H.S., Kim J.S. et al.; Korean multiple myeloma working party. Brief report: clinical experiences after emergency use of daratumumab monotherapy for relapsed or refractory multiple myeloma in real
4. Usmani S.Z., Diels J., Ito T. et al. Daratumumab monotherapy compared with historical control data in heavily pretreated and highly refractory patients with multiple myeloma: an adjusted treatment comparison. *Am. J. Hematol.* 2017;92(8):E146-E152. DOI: 10.1002/ajh.24781.
5. Usmani S., Ahmadi T., Ng Y. et al. Analysis of real-world data on overall survival in multiple myeloma patients with ≥ 3 prior lines of therapy including a proteasome inhibitor (PI) and an immunomodulatory drug (IMiD), or double refractory to a PI and an IMiD. *Oncologist.* 2016;21(11):1355-1361. DOI: 10.1634/theoncologist.2016-0104.
6. Jelínek T., Mihályová J., Hájek R. CD38 targeted treatment for multiple myeloma. *Vnitr Lek.* 2018;64(10):939-948. PMID: 30590941.
7. Beksac M., Aydin Y., Goker H. et al. Early access program results from Turkey and a literature review on daratumumab monotherapy among heavily pretreated patients with relapsed/refractory myeloma. *Clin. Lymphoma Myeloma Leuk.* 2020;20(8):e474-e484. DOI: 10.1016/j.clml.2020.02.017.
8. de Weers M., Tai Y.T., van der Veer M.S. et al. Daratumumab, a novel therapeutic human CD38 monoclonal antibody, induces killing of multiple myeloma and other hematological tumors. *Immunol.* 2011;186(3):1840-1848. DOI: 10.4049/jimmunol.1003032.
9. Overdijk M.B., Verploegen S., Bögels M. et al. Antibody-mediated phagocytosis contributes to the anti-tumor activity of the therapeutic antibody daratumumab in lymphoma and multiple myeloma. *MAbs.* 2015;7(2):311-321. DOI: 10.1080/19420862.2015.1007813.
10. van Bueren J.L., Jakobs D., Kaldenhoven N. et al. Direct *in vitro* comparison of daratumumab with surrogate analogs of CD38 antibodies MOR03087, SAR650984 and Ab79. *Blood.* 2014;124(21):3474. DOI: 10.1182/blood.V124.21.3474.3474.
11. Krejcik J., Casneuf T., Nijhof I.S. et al. Daratumumab depletes CD38+ immune regulatory cells, promotes T-cell expansion, and skews T-cell repertoire in multiple myeloma. *Blood.* 2016;128(3):384-394. DOI: 10.1182/blood-2015-12-687749.
12. Lokhorst H.M., Plesner T., Laubach J.P. et al. Targeting CD38 with daratumumab monotherapy in multiple myeloma. *N. Engl. J. Med.* 2015;373(13):1207-1219. DOI: 10.1056/NEJMoa1506348.
13. Lonial S., Weiss B.M., Usmani S.Z. et al. Daratumumab monotherapy in patients with treatment-refractory multiple myeloma (SIRIUS): an open-label, randomised, phase 2 trial. *Lancet.* 2016;387(10027):1551-1560. DOI: 10.1016/S0140-6736(15)01120-4.
14. McKeage K. Daratumumab: First global approval. *Drugs.* 2016;76(2):275-281. DOI: 10.1007/s40265-015-0536-1.
15. Chari A., Lonial S., Mark T.M. et al. Results of an early access treatment protocol of daratumumab in United States patients with relapsed or refractory multiple myeloma. *Cancer.* 2018;124(22):4342-4349. DOI: 10.1002/cncr.31706.
16. Park S.S., Eom H.S., Kim J.S. et al.; Korean multiple myeloma working party. Brief report: clinical experiences after emergency use of daratumumab monotherapy for relapsed or refractory multiple myeloma in real

- practice // *Jpn J. Clin. Oncol.* 2019;49(1):92-95. DOI: 10.1093/jjco/hyy177.
17. Salomon-Perzyński A., Walter-Croneck A., Usnarska-Zubkiewicz L. et al. Efficacy of daratumumab monotherapy in real-world heavily pretreated patients with relapsed or refractory multiple myeloma // *Adv. Med. Sci.* 2019;64(2):349-355. DOI: 10.1016/j.advms.2019.05.001.
 18. Cejalvo M.J., Legarda M., Abella E. et al. Single-agent daratumumab in patients with relapsed and refractory multiple myeloma requiring dialysis: results of a Spanish retrospective, multicentre study // *Br. J. Haematol.* 2020;190(5):e289-e292. DOI: 10.1111/bjh.16286.
 19. Cook G., Corso A., Streetly M. et al. Daratumumab monotherapy for relapsed or refractory multiple myeloma: results of an early access treatment protocol in Europe and Russia // *Oncol. Ther.* 2021;9(1):139-151. DOI: 10.1007/s40487-020-00137-x.
 20. Lovas S., Varga G., Farkas P. et al. Real-world data on the efficacy and safety of daratumumab treatment in Hungarian relapsed/refractory multiple myeloma patients // *Int. J. Hematol.* 2019;110(5):559-565. DOI: 10.1007/s12185-019-02715-w.
 21. Iida S., Suzuki K., Kusumoto S. et al. Safety and efficacy of daratumumab in Japanese patients with relapsed or refractory multiple myeloma: a multicenter, phase 1, dose-escalation study // *Int. J. Hematol.* 2017;106(4):541-551. DOI: 10.1007/s12185-017-2281-6.
 22. Mateos M.V., Cavo M., Blade J. et al. Overall survival with daratumumab, bortezomib, melphalan, and prednisone in newly diagnosed multiple myeloma (ALCYONE): a randomised, open-label, phase 3 trial // *Lancet.* 2020;395(10218):132-141. DOI: 10.1016/S0140-6736(19)32956-3.
 23. Bahlis N.J., Dimopoulos M.A., White D.J. et al. Daratumumab plus lenalidomide and dexamethasone in relapsed/refractory multiple myeloma: extended follow-up of POLLUX, a randomized, open-label, phase 3 study // *Leukemia.* 2020;34(7):1875-1884. DOI: 10.1038/s41375-020-0711-6.
 24. Facon T., Kumar S., Plesner T. et al.; MAIA Trial Investigators. Daratumumab plus lenalidomide and dexamethasone for untreated myeloma // *N. Engl. J. Med.* 2019;380(22):2104-2115. DOI: 10.1056/NEJ-Moa1817249.
 25. Palumbo A., Chanan-Khan A., Weisel K. et al.; CASTOR Investigators. Daratumumab, bortezomib, and dexamethasone for multiple myeloma // *N. Engl. J. Med.* 2016;375(8):754-766. DOI: 10.1056/NEJ-Moa1606038.
 26. Dimopoulos M., Quach H., Mateos M.V. et al. Carfilzomib, dexamethasone, and daratumumab versus carfilzomib and dexamethasone for patients with relapsed or refractory multiple myeloma (CANDOR): results from a randomised, multicentre, open-label, phase 3 study // *Lancet.* 2020;396(10245):186-197. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)30734-0.
 27. Множественная миелома. Клинические рекомендации. 2021. URL: <https://rusoncohem.ru/klinrec/klinicheskie-rekomendaczii-mnozhestvennaya-mieloma/> (дата обращения: 26.04.2023).
 28. Rajkumar S.V., Dimopoulos M.A., Palumbo A. et al. International Myeloma Working Group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma // *Lancet* practice. *Jpn J. Clin. Oncol.* 2019;49(1):92-95. DOI: 10.1093/jjco/hyy177.
 17. Salomon-Perzyński A., Walter-Croneck A., Usnarska-Zubkiewicz L. et al. Efficacy of daratumumab monotherapy in real-world heavily pretreated patients with relapsed or refractory multiple myeloma. *Adv. Med. Sci.* 2019;64(2):349-355. DOI: 10.1016/j.advms.2019.05.001.
 18. Cejalvo M.J., Legarda M., Abella E. et al. Single-agent daratumumab in patients with relapsed and refractory multiple myeloma requiring dialysis: results of a Spanish retrospective, multicentre study. *Br. J. Haematol.* 2020;190(5):e289-e292. DOI: 10.1111/bjh.16286.
 19. Cook G., Corso A., Streetly M. et al. Daratumumab monotherapy for relapsed or refractory multiple myeloma: results of an early access treatment protocol in Europe and Russia. *Oncol. Ther.* 2021;9(1):139-151. DOI: 10.1007/s40487-020-00137-x.
 20. Lovas S., Varga G., Farkas P. et al. Real-world data on the efficacy and safety of daratumumab treatment in Hungarian relapsed/refractory multiple myeloma patients. *Int. J. Hematol.* 2019;110(5):559-565. DOI: 10.1007/s12185-019-02715-w.
 21. Iida S., Suzuki K., Kusumoto S. et al. Safety and efficacy of daratumumab in Japanese patients with relapsed or refractory multiple myeloma: a multicenter, phase 1, dose-escalation study. *Int. J. Hematol.* 2017;106(4):541-551. DOI: 10.1007/s12185-017-2281-6.
 22. Mateos M.V., Cavo M., Blade J. et al. Overall survival with daratumumab, bortezomib, melphalan, and prednisone in newly diagnosed multiple myeloma (ALCYONE): a randomised, open-label, phase 3 trial. *Lancet.* 2020;395(10218):132-141. DOI: 10.1016/S0140-6736(19)32956-3.
 23. Bahlis N.J., Dimopoulos M.A., White D.J. et al. Daratumumab plus lenalidomide and dexamethasone in relapsed/refractory multiple myeloma: extended follow-up of POLLUX, a randomized, open-label, phase 3 study. *Leukemia.* 2020;34(7):1875-1884. DOI: 10.1038/s41375-020-0711-6.
 24. Facon T., Kumar S., Plesner T. et al.; MAIA Trial Investigators. Daratumumab plus lenalidomide and dexamethasone for untreated myeloma. *N. Engl. J. Med.* 2019;380(22):2104-2115. DOI: 10.1056/NEJ-Moa1817249.
 25. Palumbo A., Chanan-Khan A., Weisel K. et al.; CASTOR Investigators. Daratumumab, bortezomib, and dexamethasone for multiple myeloma. *N. Engl. J. Med.* 2016;375(8):754-766. DOI: 10.1056/NEJ-Moa1606038.
 26. Dimopoulos M., Quach H., Mateos M.V. et al. Carfilzomib, dexamethasone, and daratumumab versus carfilzomib and dexamethasone for patients with relapsed or refractory multiple myeloma (CANDOR): results from a randomised, multicentre, open-label, phase 3 study. *Lancet.* 2020;396(10245):186-197. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)30734-0.
 27. Multiple Myeloma. Clinical guidelines. (2021). URL: <https://rusoncohem.ru/klinrec/klinicheskie-rekomendaczii-mnozhestvennaya-mieloma/> (accessed 26.04.2023).
 28. Rajkumar S.V., Dimopoulos M.A., Palumbo A. et al. International Myeloma Working Group updated cri-

- Oncol. 2014;15(12):e538-e548. DOI: 10.1016/S1470-2045(14)70442-5.
29. Минева Н.В., Кробинет И.И., Бодрова Н.Н. и др. Алгоритм индивидуального подбора гемокомпонентов и проведения исследования антигенов эритроцитов и антиэритроцитарных антител в сложно диагностируемых случаях: метод. пособие. СПб.: ВиТ-принт, 2018. 24 с.
 30. Менделеева Л.П., Вотякова О.М., Покровская О.С. и др. Национальные клинические рекомендации по диагностике и лечению множественной миеломы // Гематология и трансфузиология. 2014;59(1-S3):2-24. DOI: 10.18821/0234-5730-2016-61-1.
 31. Бессмелтцев С.С., Карягина Е.В., Илюшкина Е.Ю. и др. Клиническая эффективность даратумумаба в монотерапии рецидивов и рефрактерной множественной миеломы // Клин. онкогематология. 2020;13(1):25-32. DOI: 10.21320/2500-2139-2020-13-1-25-32.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Скворцова Наталия Валерьевна – д-р мед. наук, доцент кафедры терапии, гематологии и трансфузиологии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия. ORCID 0000-0001-6938-3802.

Воронцова Екатерина Валерьевна – заведующий отделением гематологии ГБУЗ НСО «Государственная Новосибирская областная клиническая больница», Новосибирск, Россия.

Нечунаева Ирина Николаевна – канд. мед. наук, заведующий отделением гематологии ГБУЗ НСО «Городская клиническая больница № 2», Новосибирск, Россия.

Воропаева Елена Николаевна – д-р мед. наук, старший научный сотрудник лаборатории молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний НИИ терапии и профилактической медицины – филиала ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН», Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0001-7542-7285.

Ковынев Игорь Борисович – д-р мед. наук, профессор кафедры терапии, гематологии и трансфузиологии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия.

Поспелова Татьяна Ивановна – д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой терапии, гематологии и трансфузиологии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0002-1261-5470.

teria for the diagnosis of multiple myeloma. *Lancet Oncol.* 2014;15(12):e538-e548. DOI: 10.1016/S1470-2045(14)70442-5.

29. Mineeva N.V., Krobinets I.I., Bodrova N.N., et al. (2018). *Algorithm for the Individual Selection of Blood Components and the Detection of Erythrocyte Antigens and Anti-erythrocyte Antibodies in Difficult-to-diagnose Cases: Guidelines*. Saint Petersburg: ViT-print, 24 p. (In Russ.)
30. Mendeleva L.P., Votyakova O.M., Pokrovskaya O.S. et al. National clinical recommendations on diagnosis and treatment of multiple myeloma. *Russian Journal of Hematology and Transfusiology*. 2014;59(1-S3):2-24. DOI: 10.18821/0234-5730-2016-61-1. (In Russ.)
31. Bessmeltsev S.S., Karyagina E.V., Ilyushkina E.Yu. et al. Clinical efficacy of daratumumab in monotherapy or relapsed/refractory multiple myeloma. *Clinical Oncohematology*. 2020;13(1):25-32. DOI: 10.21320/2500-2139-2020-13-1-25-32. (In Russ.)

ABOUT THE AUTHORS

Nataliya V. Skvortsova – Dr. Sci. (Med.), Associate Professor, Department of Therapy, Hematology and Transfusiology, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0001-6938-3802.

Ekaterina V. Vorontsova – Head, Department of Hematology, Novosibirsk Regional Clinical Hospital, Novosibirsk, Russia.

Irina N. Nechunaeva – Cand. Sci. (Med.), Head, Department of Hematology, City Clinical Hospital No. 2, Novosibirsk, Russia.

Elena N. Voropayeva – Dr. Sci. (Med.), Senior Researcher, Laboratory of Molecular Genetic Studies of Internal Diseases, Research Institute Internal and Preventive Medicine – Branch of the Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0001-7542-7285.

Igor B. Kovynev – Dr. Sci. (Med.), Professor, Department of Therapy, Hematology and Transfusiology, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia.

Tatyana I. Pospelova – Dr. Sci. (Med.), Professor, Head, Department of Therapy, Hematology and Transfusiology, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0002-1261-5470.

Экспериментальное изучение аллергизирующего действия препарата на основе гиалуронидазы, пегилированной по технологии электронно-лучевого синтеза

В.Е. Забанова^{1, 2}, К.И. Ершов^{1, 2}, А.М. Швецова², Е.Ю. Шерстобоев³, В.В. Жданов³, Т.А. Дробышева¹, А.Ж. Фурсова^{1, 2}, П.Г. Мадонов^{1, 2}

¹ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Новосибирск, Россия

²Институт клинической и экспериментальной лимфологии – филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики» СО РАН, Новосибирск, Россия

³Научно-исследовательский институт фармакологии и регенеративной медицины им. Е.Д. Гольдберга ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», Томск, Россия

АННОТАЦИЯ

В в е д е н и е . Гиалуронидаза – ферментный препарат, широко использующийся в медицине, в том числе и офтальмологии. Гиалуронидаза, имея белковую структуру, несет потенциальную опасность в виде нежелательных аллергических реакций. Чтобы избежать аллергизирующих эффектов, белковые структуры модифицируют путем соединения с полимерным носителем, например полиэтиленгликолем.

Ц е л ь и с с л е д о в а н и я . Изучение возможного аллергогенного действия гиалуронидазы, пегилированной по технологии электронно-лучевого синтеза, при различных путях введения.

М а т е р и а л ы и м е т о д ы . Объект исследования – пегилированная гиалуронидаза (ПЭГ-Гиал). Экспериментальные животные – мыши-гибриды и морские свинки. Было проведено 7 типов экспериментов: анафилактическая активность; конъюнктивальная проба; кожные аппликации; реакция гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ); активная кожная анафилаксия; непрямая реакция дегрануляции тучных клеток; реакция воспаления на конканавалин А (КонА).

Р е з у л ь т а т ы . При изучении анафилактической активности анафилактической реакции у морских свинок не наблюдалось. Конъюнктивальный тест также не выявил признаков повышенной чувствительности к препарату. При исследовании сенсibilизирующего действия не наблюдалось развития местных аллергических реакций. В экспериментах по изучению реакции ГЗТ на мышях не выявлено достоверных различий индекса реакции ГЗТ в опытной и контрольной группах. В эксперименте по оценке активной кожной анафилаксии показано, что диаметр окрашенного пятна достоверно не отличался в обеих опытных группах от контрольной. В экспериментах по непрямо́й реакции дегрануляции тучных клеток установлено, что статистически значимого изменения показателя дегрануляции тучных клеток не наблюдалось. Оценка аллергизирующего действия ПЭГ-Гиал в реакции воспаления на КонА показала, что нет статистически достоверной разницы между опытными и контрольными группами.

З а к л ю ч е н и е . На основании результатов проведенных экспериментов можно сделать вывод о том, что ПЭГ-Гиал не обладает аллергизирующим действием при различных путях введения, что существенно расширяет возможности ее клинического применения.

Ключевые слова: гиалуронидаза, пегилированная гиалуронидаза, аллергизирующее действие, сенсibilизация, реакция гиперчувствительности замедленного типа.

Образец цитирования: Забанова В.Е., Ершов К.И., Швецова А.М., Шерстобоев Е.Ю., Жданов В.В., Фурсова А.Ж., Мадонов П.Г. Экспериментальное изучение аллергизирующего действия препарата на основе гиалуронидазы, пегилированной по технологии электронно-лучевого синтеза // Journal of Siberian Medical Sciences. 2023;7(2):114-127. DOI: 10.31549/2542-1174-2023-7-2-114-127

Поступила в редакцию 18.04.2023
Прошла рецензирование 03.05.2023
Принята к публикации 17.05.2023

Автор, ответственный за переписку
Забанова Виктория Евгеньевна: ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России. 630091, г. Новосибирск, Красный просп., 52.
E-mail: vikazabanova@gmail.com

Received 18.04.2023
Revised 03.05.2023
Accepted 17.05.2023

Corresponding author
Viktoria E. Zabanova: Novosibirsk State Medical University, 52, Krasnyy prosp., Novosibirsk, 630091, Russia.
E-mail: vikazabanova@gmail.com

Experimental study of the allergenic potential of a drug based on hyaluronidase PEGylated using the technology of electron beam synthesis

V.E. Zabanova^{1,2}, K.I. Ershov^{1,2}, A.M. Shvetsova², E.Yu. Sherstoboev³, V.V. Zhdanov³,
T.A. Drobysheva¹, A.Zh. Fursova^{1,2}, P.G. Madonov^{1,2}

¹Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia

²Institute of Clinical and Experimental Lymphology, Branch of the Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia

³Goldberg Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine, Tomsk, Russia

ABSTRACT

I n t r o d u c t i o n . Hyaluronidase is an enzyme preparation widely used in medicine, including ophthalmology. Hyaluronidase, having a protein structure, carries a potential danger in the form of undesirable allergic reactions. To avoid allergenic effects, protein structures are modified by combining with a polymer carrier, for example, by polyethylene glycol (PEG).

A i m . To study the possible allergenic potential of hyaluronidase, PEGylated using the technology of electron beam synthesis, with various routes of administration.

M a t e r i a l s a n d m e t h o d s . The object of the study is PEGylated hyaluronidase (PEG-Hyal). Experimental animals are hybrid mice and guinea pigs. Seven types of experiments were carried out: anaphylactogenic activity; conjunctival challenge test; cutaneous applications; delayed-type hypersensitivity (DTH); active cutaneous anaphylaxis; indirect mast cell degranulation; inflammatory response to concanavalin A (ConA).

R e s u l t s . When studying anaphylactogenic activity, an anaphylactic reaction was not observed in guinea pigs. The conjunctival challenge test also revealed no signs of hypersensitivity to the drug. In the study of sensitization, no development of local allergic reactions was observed. In experiments to the study DTH in mice, there were no significant differences for the DTH index in the experimental and control groups. The assessment of active skin anaphylaxis has been showed that the diameter of the stained spot did not significantly differ in both experimental groups from the control one. In indirect mast cell degranulation experiments, it was found that there was no statistically significant change in the mast cell degranulation index. Evaluation of the allergenic potential of PEG-Hyal in the inflammatory response to ConA showed that there is no statistically significant difference between the experimental and control groups.

C o n c l u s i o n . Based on the results of the experiments, it can be concluded that PEG-Hyal does not have an allergenic potential in various routes of administration, which significantly expands the possibilities of its clinical use.

Keywords: hyaluronidase, PEGylated hyaluronidase, allergenic potential, sensitization, delayed-type hypersensitivity.

Citation example: Zabanova V.E., Ershov K.I., Shvetsova A.M., Sherstoboev E.Yu., Zhdanov V.V., Fursova A.Zh., Madonov P.G. Experimental study of the allergenic potential of a drug based on hyaluronidase PEGylated using the technology of electron beam synthesis. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2023;7(2):114-127. DOI: 10.31549/2542-1174-2022-7-2-114-127

ВВЕДЕНИЕ

Гиалуронидаза широко используется в различных областях медицины, включая анестезиологию, кардиологию, рентгенографию, онкологию, офтальмологию, пластическую хирургию, эстетическую медицину. Она имеет широкий спектр клинических применений благодаря своей уникальной способности облегчать рассеивание и/или всасывание различных лекарственных препаратов. Этот фермент также используется для лечения келоидных рубцов в качестве альтернативы стероидам, для лечения гематом и

INTRODUCTION

Hyaluronidase is used in various fields of medicine, including anesthesiology, cardiology, radiography, oncology, ophthalmology, plastic surgery, aesthetic medicine. It has a wide range of clinical applications because of its unique ability to facilitate the dispersion and/or absorption of various drugs. This enzyme is also used to treat keloid scars as an alternative to steroids, to treat hematomas and lymphedema. Hyaluronidase can also be used to eliminate persistent edema, given its ability to increase the permeability of capillaries and tissues.

лимфедемы. Также можно использовать гиалуронидазу для устранения стойких отеков, учитывая ее способность увеличивать проницаемость капилляров и тканей.

Однако, имея белковую структуру, этот нативный фермент несет потенциальную опасность для организма в виде высокой иммуногенности и аллергического потенциала. При использовании гиалуронидазы в основном возникают местные аллергические реакции. Сообщается, что частота аллергических реакций составляет от 0.05 до 0.69 % [1, 2]. Аллергические реакции на гиалуронидазу представляют собой реакции гиперчувствительности немедленного действия (тип I, опосредованный иммуноглобулином E), встречаются менее чем в 0.1 % случаев, также могут возникать реакции гиперчувствительности замедленного типа (тип IV, опосредованный Т-клетками) [3, 4]. В 2016 г. было опубликовано сообщение о реакции гиперчувствительности немедленного типа при использовании гиалуронидазы в сочетании с местными анальгетиками при оперативных вмешательствах на глазах, когда в раннем послеоперационном периоде наблюдался отек век и хемоз конъюнктивы, который был купирован использованием антигистаминных препаратов и глюкокортикостероидов [5]. Реакция замедленного типа в ответ на введение гиалуронидазы отмечалась в виде целлюлита орбитальной клетчатки с последующей необратимой потерей зрения [6, 7].

Предполагается существование связи между способом введения и дозировкой, что может быть фактором тяжести аллергической реакции. В целом при местном введении гиалуронидазы в дозах менее 1500 МЕ наблюдаются локальные аллергические реакции (например, отек, эритема, крапивница) в области инъекции без общих симптомов [8]. Когда дозы варьируют от 1500 до 200 000 МЕ и/или вводятся внутривенно, у большинства пациентов с аллергией наблюдаются более общие симптомы [8, 9].

Тестирование на кожную аллергию широко распространено в практике эстетической медицины для предотвращения анафилактической реакции, однако наиболее ценной информацией для врача является история болезни пациента – прием лекарств, аллергии и любая реакция на предшествующее воздействие гиалуронидазы. Существуют определенные группы пациентов, у которых при возникновении реакции I типа на какой-либо препарат или аллерген будет более выраженный анафилактический ответ. Примерами таких пациентов являются люди, принима-

However, having a protein structure, this native enzyme carries a potential danger to the body as high immunogenicity and allergenic potential. When using hyaluronidase, local allergic reactions occur. It is reported that the frequency of allergic reactions ranges from 0.05 to 0.69% [1, 2]. Allergic reactions to hyaluronidase are immediate hypersensitivity reactions (type I, mediated by immunoglobulin E), occur in less than 0.1% of cases, delayed-type hypersensitivity reactions may also occur (type IV, mediated by T cells) [3, 4]. In 2016, a report was published on an immediate hypersensitivity reaction to hyaluronidase in combination with local anesthetics during eye phacoemulsification, when in the early postoperative period there were lid edema and conjunctival chemosis, which were managed with antihistamines and glucocorticosteroids [5]. Delayed hypersensitivity reaction in response to introducing hyaluronidase was noted in the form of orbital cellulitis with subsequent irreversible loss of vision [6, 7].

It is assumed that there is a relationship between the route of administration and dose strength, which may be a factor in the severity of allergic reaction. In general, with topical administration of hyaluronidase at doses less than 1500 IU, local allergic reactions (for example, edema, erythema, urticaria) are observed in the injection site without general symptoms [8]. When doses range from 1500 to 200 000 IU and/or are administered intravenously, most patients with allergy experience more general symptoms [8, 9].

Skin testing is widespread in the practice of aesthetic medicine to prevent anaphylactic reaction, but the most valuable information for a doctor is the patient's medical history – taking medications, allergies and any response to hyaluronidase. There are certain groups of patients who, when a type I reaction to a drug or allergen occurs, will have a more pronounced anaphylactic response. Examples of such patients are people taking angiotensin converting enzyme inhibitors, beta-blockers, patients with mast cell activation and high trypsin levels, susceptibility to allergic reactions, with C1-esterase deficiency, hereditary angioedema [10].

To increase the effectiveness, reduce the sensitization and toxicity of protein-based drugs, their modification is used – physico-chemical transformation via the conjugation of a protein molecule with a polymer carrier. At the moment, a lot of attention is paid to polyethylene glycols (PEG) of various molecular weights. Conjugation of a poly-

ющие ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента, бета-блокаторы, пациенты с поражением тучных клеток и высоким уровнем трипсина, предрасположенностью к аллергическим реакциям, с дефицитом С1-эстеразы, наследственным ангионевротическим отеком [10].

Для повышения эффективности, снижения аллергенности и токсичности лекарственных препаратов белковой природы используется их модификация – физико-химическая трансформация за счет соединения белковой молекулы с полимерным носителем. На данный момент много внимания уделяется полиэтиленгликолям (ПЭГ) различной молекулярной массы. Процесс присоединения молекулы полиэтиленгликоля к другой молекуле носит название пегилиция или пегилирование. Эффекты пегилированных препаратов модифицируются за счет повышения растворимости в воде; устойчивости к действию ферментов, полностью их разрушающих или частично снижающих концентрацию в тканях препарата; адресной доставки лекарственного препарата до мишени. Помимо этого, пегилирование продлевает период его полувыведения и способно снижать иммуногенность [11].

В нашем исследовании мы изучали аллергизирующие свойства пегилированной гиалуронидазы с целью расширения потенциальных направлений применения данного препарата, в том числе и в офтальмологии. Данное исследование выполнено в трех учреждениях, указанных в аффилиации. Публикация данной статьи одобрена Локальным экспертным комитетом Института клинической и экспериментальной лимфологии (Новосибирск) (протокол № 179 от 23.03.2023).

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучение возможного аллергического действия гиалуронидазы, пегилированной по технологии электронно-лучевого синтеза, при различных путях введения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объект исследования. Пегилированная гиалуронидаза (ПЭГ-Гиал) изготовлена в АО «Сибирский центр фармакологии и биотехнологии» (г. Новосибирск) и любезно предоставлена для экспериментальных исследований в рамках научного сотрудничества. ПЭГ-Гиал представляет собой тестикулярную гиалуронидазу H20, которая была подвергнута электронно-лучевой иммобилизации на полиэтиленоксиде (Макрогол-1500) в потоке ускоренных электронов в дозе

ethylene glycol molecule with another molecule is called PEGylation. The effects of PEGylated drugs are modified by increasing solubility in water; resistance to enzymes that completely destroy them or partially reduce the tissue concentration of the drug; by targeted delivery of the drug. In addition, PEGylation prolongs its half-life and can reduce immunogenicity [11].

In our study, we investigated the allergenic properties of PEGylated hyaluronidase in order to expand the potential uses of this drug, including ophthalmology. This study was carried out in three institutions specified in the affiliation. The publication of this article was approved by the Local Expert Committee of the Institute of Clinical and Experimental Lymphology (Novosibirsk) (No. 179 dated 2023-03-23).

AIM OF THE RESEARCH

To study the possible allergenic potential of hyaluronidase PEGylated using the technology of electron beam synthesis with various routes of administration.

MATERIALS AND METHODS

Object of study. Pegylated hyaluronidase (PEG-Hyal) was manufactured by Siberian Center of Pharmacology and Biotechnology, JSC (Novosibirsk) and kindly provided for experimental research within the scientific cooperation. PEG-Hyal is a testicular hyaluronidase H20, which was subjected to electron beam immobilization on polyethylene oxide (Macrolog-1500) in accelerated electron flux at a dose of 1.5 Mrad generated by a pulsed linear accelerator ILU-10 (manufactured by the Budker Institute of Nuclear Physics, Novosibirsk). PEG-Hyal used in the experiments is a lyophilized powder of light gray color with an enzymatic activity of 2800 IU per 1 g of dry matter, easily soluble in crystalloid and colloidal solutions.

Currently, there are no approved PEG-Hyal-based medications to treat degenerative diseases. Meanwhile, there is a long-term research experience in determining the specific regenerative activity of PEG-Hyal [12–16]. This circumstance provides for the positioning of this drug as a medication for regenerative medicine not for bolus injection, but for long-term use. Where, the most compliant is topical and oral administration of PEG-Hyal medications.

Experimental animals. F1(CBA/C57Bl/6), Balb/c hybrid mice of both sexes aged 6–8 weeks weighing 18–20 g. Guinea pigs of both sexes weigh-

1.5 Мрад, создаваемым импульсным линейным ускорителем ИЛУ-10 (производство – Институт ядерной физики им. Г.И. Будкера СО РАН, Новосибирск). Используемая в экспериментах ПЭГ-Гиал представляет собой лиофилизированный порошок светло-серого цвета с ферментативной активностью 2800 ЕД в 1 г сухого вещества, легко растворяющийся в кристаллоидных и коллоидных растворах.

В настоящее время нет зарегистрированных лекарственных препаратов на основе ПЭГ-Гиал для лечения дегенеративных заболеваний. Между тем есть многолетний опыт исследований по определению специфической регенеративной активности ПЭГ-Гиал [12–16]. Это обстоятельство предполагает позиционирование данного препарата как средства для регенеративной медицины, предусматривающего не болюсное, а курсовое длительное применение. В этом случае максимально комплаентным является местный и пероральный прием лекарственных препаратов на основе ПЭГ-Гиал.

Экспериментальные животные. Мыши-гибриды обоего пола F1(CBA/C57Bl/6), Balb/c 6–8-недельного возраста массой тела 18–20 г. Морские свинки обоего пола массой 250–270 г. Содержание животных осуществлялось в соответствии с правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных (Страсбург, 1986); ГОСТ 33216-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила содержания и ухода за лабораторными грызунами и кроликами» от 01.07.2016; ГОСТ 33215-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила оборудования помещений и организации процедур» от 01.07.2016. Выведение животных из эксперимента осуществлялось через 24 ч в соответствии с современными методами эвтаназии лабораторных животных (согласно Директиве 2010/63/EU по охране животных, используемых в научных целях, Европейского Парламента и Совета Европейского союза).

Методы изучения алергизирующего действия. Изучение алергизирующего действия ПЭГ-Гиал проводилось согласно [17] и состояло из 7 экспериментов:

1. Изучение анафилактической активности на морских свинках самцах (♂) и самках (♀). Сенсибилизацию животных осуществляли внутрижелудочным введением ПЭГ-Гиал в течение 5 суток в дозах 20.83 ЕД/кг (1 терапевтическая доза (ТД)) и 208.3 ЕД/кг (10 ТД). Анафилактические свойства ПЭГ-Гиал выявляли путем внутривенного введения раствора препарата на 14-е сутки после

инг 250–270 г. The animals were kept in accordance with the rules adopted by the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes (Strasbourg, 1986); GOST 33216-2014 Guidelines for the Management and Care of Laboratory Animals. Rules for the Management and Care of Laboratory Rodents and Rabbits dated 2016-07-01; GOST 33215-2014 Guidelines for Accommodation and Care of Animals. Environment, Housing and Management dated 2016-07-01. The animals were removed from the experiment after 24 hours in accordance with modern methods of euthanasia of laboratory animals (according to EU-Directive 2010/63/ on the use of animals for scientific purposes, the European Parliament and the Council of the European Union).

Methods of studying the allergenic potential. The study of the allergenic potential of PEG-Hyal was carried out according to [17] and consisted of 7 experiments:

1. Study of anaphylactogenic activity on male (♂) and female (♀) guinea pigs.

Animals were sensitized by intragastric administration of PEG-Hyal for 5 days at doses of 20.83 IU/kg (1 curative dose (CD)) and 208.3 U/kg (10 CD). The anaphylactogenic properties of PEG-Hyal were detected by intravenous administration of the drug solution on the 14th day following the last sensitizing application. Challenge test with intravenous administration of the studied drug was carried out at a dose of 208.3 IU/kg, which was ten-fold curative dose for guinea pigs. This dose was used both in guinea pigs with the administration of 1 CD and 10 CD. The control was non-sensitized guinea pigs, to which the drug was administered intravenously. The intensity of the anaphylactic reaction was evaluated by the Weigle method [18] using the formula

$$AI = (4 \cdot n + 3 \cdot n_1 + 2 \cdot n_2 + 1 \cdot n_3) / N,$$

AI – anaphylactic index;

n – number of animals whose anaphylactic reaction resulted in death;

n_1 – number of animals with intense manifestations of anaphylactic reaction;

n_2 – number of animals with moderate anaphylactic reaction;

n_3 – number of animals with mild anaphylactic reaction;

N – total number of animals in the group.

With an AI value of ≤ 1.0 , the anaphylactic reaction was considered negative.

последнего сенсibilизирующего применения. Разрешающее тестирующее внутривенное введение исследуемого препарата проводилось в дозе 208.3 ЕД/кг, которая составляла десятикратную терапевтическую дозу для свинок. Эта доза применялась как у морских свинок с введением 1 ТД, так и 10 ТД. Контролем служили несенсибилизированные морские свинки, которым препарат вводили внутривенно. Интенсивность анафилактической реакции оценивали по методу W.O. Weigle [18] с использованием формулы

$$AI = (4 \cdot n + 3 \cdot n_1 + 2 \cdot n_2 + 1 \cdot n_3) / N,$$

где AI – анафилактический индекс;

n – число животных, анафилактическая реакция которых заканчивалась смертельным исходом;

n_1 – число животных со значительными проявлениями анафилактической реакции;

n_2 – число животных со средними проявлениями реакции;

n_3 – число животных со слабыми проявлениями реакции;

N – общее число животных в группе.

При величине $AI \leq 1.0$ анафилактическая реакция считалась отрицательной.

2. Конъюнктивальная проба на морских свинках. Через 24 ч после завершения 5-дневного цикла сенсibilизирующих введений ПЭГ-Гиал внутрижелудочно в дозах 20.83 ЕД/кг и 208.3 ЕД/кг проводилось конъюнктивальное тестирование. Тест заключался в закапывании в левый глаз каждого животного 20 мкл раствора ПЭГ-Гиал с концентрацией 167 ЕД/мл (доза, не вызывающая раздражающего действия у интактных животных), в правый глаз – 2% раствор ПЭГ в том же объеме. Оценка состояния конъюнктивы глаза проводилась через 15 мин, 24 и 48 ч по следующей шкале (в баллах): 1 – легкое покраснение слезного протока; 2 – покраснение слезного протока и склеры в направлении к роговице; 3 – покраснение всей конъюнктивы и склеры.

3. Метод накожных аппликаций на морских свинках. Исследование сенсibilизирующего действия ПЭГ-Гиал проводили путем 20 повторных накожных аппликаций на участок боковой поверхности туловища размером 2×2 см по 5 раз в неделю. Наносили по 3 капли раствора ПЭГ-Гиал с концентрацией 167 ЕД/мл (доза, не вызывающая местнораздражающего действия). Контрольным группам морских свинок (5 самцов и 5 самок) наносили растворитель – 2% раствор ПЭГ-1500. Первое тестирование проводили после 10 аппликаций, второе – после 20. Реакцию кожи

2. Conjunctival challenge test on guinea pigs. Twenty-four hours after the completion of the 5-day cycle of sensitizing injections of PEG-Hyal intragastrically at doses of 20.83 IU/kg and 208.3 IU/kg, conjunctival testing was performed. The test consisted in instilling of 20 ml of PEG-Hyal solution at a concentration of 167 IU/ml (a dose that does not cause irritating effects in intact animals) into the left eye of each animal, and 2% PEG solution in the same volume – into the right eye. The assessment of the conjunctiva was carried out after 15 min, 24 and 48 hours using the following scale (in points): 1 – mild redness of the lacrimal duct; 2 – redness of the lacrimal duct and sclera in the direction of the cornea; 3 – redness of the entire conjunctiva and sclera.

3. Cutaneous applications on guinea pigs. The study of the sensitizing effect of PEG-Hyal was carried out by 20 repeated cutaneous applications to a 2×2 cm area of the lateral surface of the trunk 5 times a week. Three drops of PEG-Hyal solution were applied at a concentration of 167 IU/ml (a dose that does not cause local irritant effect). Control groups of guinea pigs (5 males and 5 females) were applied a solvent – a 2% PEG-1500 solution. The first test was performed after 10 applications, the second – after 20. The skin reaction was assessed according to the following criteria: if the skin in the area of drug application remains unchanged, the reaction is negative (–); if erythema appears at the site of application, the mild positive reaction (+) is registered; the presence of erythema and edema is evaluated as the positive reaction (++); when erythema and edema go beyond the limits of the drug's contact with the skin, the reaction is assessed as the strong positive (+++); when hyperergia is characterized by an extensive peripheral edema, erythema, vesiculation and ulceration of the skin, then the reaction is of the highest degree (++++).

4. Delayed-type hypersensitivity (DTH) in mice. Outbred albino mice were sensitized with a single intradermal injection of 60 µl of an emulsion consisting of 30 µl of PEG-Hyal solution at a concentration of 167 IU/ml and 30 µl of complete Freund's adjuvant (CFA) into the base of a tail. To detect sensitization 5 days later, 40 µl PEG-Hyal solution at a concentration of 167 IU/ml was injected into the pad of the hind paw of mice. Following six and twenty-four hours after the sensitizing injection, the intensity of DTH was evaluated by the reaction index (RI), which was calculated individually for each animal according to the formula

учитывали по следующим критериям: если кожа в области нанесения препарата остается неизменной – реакция отрицательная (–); при слабоположительной реакции (+) на месте нанесения появляется эритема; наличие эритемы и отека кожи оценивается как положительная реакция (++) при резкоположительной реакции (++++) эритема и отек выходят за пределы контакта препарата с кожей; высшая степень реакции (+++++) – гиперергия – выражается в обширном периферическом отеке, эритеме, везикуляции и изъязвлении кожи.

4. Реакция гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) на мышах. Беспородных мышей-альбиносов сенсибилизировали однократным внутрикожным введением в основание хвоста 60 мкл эмульсии, состоящей из 30 мкл раствора ПЭГ-Гиал с концентрацией 167 ЕД/мл и 30 мкл полного адьюванта Фрейнда (ПАФ). Для выявления сенсибилизации через 5 сут мышам в подушечку задней лапы вводили 40 мкл раствора ПЭГ-Гиал с концентрацией 167 ЕД/мл. Через 6 и 24 ч после сенсибилизирующей инъекции интенсивность реакции ГЗТ оценивали по индексу реакции (ИР), который вычисляли индивидуально для каждого животного по формуле

$$\text{ИР (\%)} = (M_{\text{оп}} - M_{\text{к}}) / M_{\text{к}} \cdot 100 \%,$$

где $M_{\text{оп}}$ – масса лапы животного опытной группы;
 $M_{\text{к}}$ – масса лапы животного контрольной группы.

Контрольных животных сенсибилизировали эмульсией ПАФ с раствором Хенкса по той же схеме, что и в опыте.

5. Активная кожная анафилаксия на мышах. Мышей линии Balb/c сенсибилизировали путем введения ПЭГ-Гиал в течение 5 суток внутрижелудочно в дозе 50 ЕД/кг (1 ТД) в 0.2 мл 2% раствора ПЭГ-1500 (1-я группа) и в дозе 500 мкг/кг (10 ТД) в 0.2 мл 2% раствора ПЭГ-1500 (2-я группа). Разрешающее введение ПЭГ-Гиал осуществляли через 1 неделю после последнего сенсибилизирующего применения в двукратных разведениях препарата в дозах 0.5 ЕД и 1 ЕД внутрикожно в объеме 0.03 мл. Через 20 мин мышам внутривенно вводили 0.5 мл 1% раствора синего Эванса. Через 30 мин проводили эвтаназию животных и определяли размеры синего пятна на внутренней стороне кожи в месте введения препарата. Разрешающие инъекции ПЭГ-Гиал и синего Эванса вводили также контрольным животным, которым в дни сенсибилизации опытных групп вводили только растворитель – 2% раствор ПЭГ.

$$\text{RI (\%)} = (M_{\text{exp}} - M_{\text{c}}) / M_{\text{c}} \cdot 100 \%,$$

M_{exp} – weight of the paw of the experimental animal;

M_{c} – weight of the paw of the control animal.

Control animals were sensitized using CFA emulsion with Hanks' solution according to the same scheme as in the experiment.

5. Active cutaneous anaphylaxis in mice. Balb/c mice were sensitized by administration of PEG-Hyal for 5 days intragastrically at a dose of 50 IU/kg (1 CD) in 0.2 ml of a 2% solution of PEG-1500 (group 1), and at a dose of 500 µg/kg (10 CD) in 0.2 ml of a 2% solution of PEG-1500 (group 2). The challenge injection of PEG-Hyal was performed 1 week after the last sensitizing procedure in twofold dilutions of the drug at doses of 0.5 IU and 1 IU intradermally in a volume of 0.03 ml. Twenty minutes after, 0.5 ml of a 1% Evans blue solution was intravenously administered to mice. Thirty minutes later, the animals were euthanized and the size of the blue spot on the inside of the skin at the injection site was determined. The challenge injections of PEG-Hyal and Evans blue were also administered to control animals, which were injected with a solvent only – 2% PEG solution on the days of sensitization of the experimental groups.

6. Indirect mast cell degranulation in mice. At the end of the 5-day administration of PEG-Hyal to CBA/C57Bl/6 mice at doses of 50 IU/kg and 500 IU/kg, the animals were euthanized and blood serum was obtained, which was then tested for the ability to cause mast cell degranulation in the presence of a specific PEG-Hyal antigen. To obtain mast cells, intact CBA/C57Bl/6 mice were euthanized, 4–5 ml of Hanks solution without phenol red was injected intraperitoneally, after a light massage of the abdominal wall for 1–1.5 min, an incision was made with scissors along the midline and the exudate was collected into a silicone tube. The specimens were prepared on cleared slides stained with 0.3% alcohol solution of neutral red and dried at room temperature. On one side of the slide, 0.03 ml of mast cell suspension, 0.03 ml of experimental animal serum and 0.03 ml of PEG-Hyal solution at a concentration of 0.15 IU/ml were mixed (the dose of the drug was selected in advance so that the index of mast cell degranulation during incubation with the test substance did not exceed 5%), this area was experimental; on the other side of the slide, 0.03 ml of mast cell suspension, 0.03 ml of experimental animal serum and 0.03 ml of Hanks' solution were

6. Непрямая реакция дегрануляции тучных клеток на мышах. По окончании 5-дневного курса введения мышам линии СВА/С57В1/6 ПЭГ-Гиал в дозах 50 ЕД/кг и 500 ЕД/кг проводили эвтаназию животных и получали сыворотку крови, которую затем тестировали на способность вызывать дегрануляцию тучных клеток в присутствии специфического антигена ПЭГ-Гиал. Для получения тучных клеток проводили эвтаназию интактных мышей линии СВА/С57В1/6, вводили внутрибрюшинно 4–5 мл раствора Хенкса без фенолового красного, после легкого массажа брюшной стенки в течение 1–1.5 мин делали ножницами разрез по средней линии и собирали экссудат в силиконизированную пробирку. Препараты готовили на обезжиренных предметных стеклах, окрашенных 0.3% спиртовым раствором нейтрального красного и высушенных при комнатной температуре. С одной стороны предметного стекла смешивали 0.03 мл взвеси тучных клеток, 0.03 мл сыворотки подопытного животного и 0.03 мл раствора ПЭГ-Гиал с концентрацией 0.15 ЕД/мл (дозу препарата подбирали заранее, так чтобы показатель дегрануляции тучных клеток при инкубации с исследуемым веществом не превышал 5 %) – опыт; с другой стороны – 0.03 мл взвеси тучных клеток, 0.03 мл сыворотки подопытного животного и 0.03 мл раствора Хенкса – контроль. Далее препараты покрывали покровными стеклами, затем инкубировали 15 мин в термостате при 37° С. Препараты изучали при увеличении $\times 20$. Оценку результатов проводили дифференциальным способом, подсчитывали показатель дегрануляции тучных клеток (ПДТК) по формуле

$$\text{ПДТК} = (1a + 2b + 3c + 3d) / 100,$$

где a, b, c, d – количество дегранулированных клеток соответственно степени дегрануляции (слабо выраженной, умеренной, резкой и полной дегрануляции клеток).

7. Оценка алергизирующего действия в реакции воспаления на конканавалин А (КонА). Опыты проводили на беспородных белых мышах массой 18–20 г. ПЭГ-Гиал вводили животным перорально в двух дозах – 50 ЕД/кг (1 ТД) и 500 ЕД/кг (10 ТД) однократно. Мышам контрольной группы аналогичным образом вводили 2% раствор ПЭГ-1500. Через 3 ч после введения препарата или растворителя мышам опытных и контрольной групп субплантарно вводили КонА в дозе 100 мкг/20 г массы тела (20 мкл раствора в концентрации 5 мг/мл), в контрлатеральную конечность – тот же объем физиологического раствора. Через 1 ч проводили эвтаназию, опре-

mixed, and this part was control. Next, the specimens were covered with cover slips, and then incubated for 15 minutes in a thermostat at 37°C. The specimens were studied at magnification $\times 20$. The results were evaluated in a differential way, the mast cell degranulation index (MCDI) was calculated according to the formula

$$\text{MCDI} = (1a + 2b + 3c + 3d) / 100,$$

a, b, c, d – number of degranulated cells corresponds to the degree of degranulation (mild, moderate, strong and complete degranulation of cells).

7. Inflammatory response to concanavalin A (ConA). Experiments were carried out on outbred albino mice weighing 18–20 g. PEG-Hyal was administered orally to animals in two doses – 50 IU/kg (1 CD) and 500 IU/kg (10 CD) once. The control mice were similarly administered the 2% PEG-1500 solution. Three hours after the administration of the drug or solvent, the mice of the experimental and control groups were injected subplantarily with ConA at a dose of 100 $\mu\text{g}/20$ g of body weight (20 μl of solution at a concentration of 5 mg/ml), the same volume of saline solution was injected into the contralateral limb. One hour later, euthanasia was performed, the weight of the hind paws was determined and the inflammatory response index (IRI) was calculated according to the formula

$$\text{IRI} = (M_{\text{exp}} - M_c) / M_c \cdot 100 \%,$$

M_{exp} – mass of the hind paw foot, into the pad of which the ConA was injected;

M_c – mass of the hind paw foot, into the pad of which the saline solution was injected.

RESULTS AND DISCUSSION

In experiments to study the anaphylactogenic activity, it was shown that the intravenous administration of PEG-Hyal did not lead to the development of an anaphylactic reaction in guinea pigs (Table 1). The anaphylactic index in both control and experimental groups of animals was less than 1.0.

The conjunctival challenge test revealed no signs of redness of the conjunctiva or lacrimal duct in guinea pigs, which indicates the absence of hypersensitivity to the PEG-Hyal drug (Table 2).

When assessing the sensitizing effect of PEG-Hyal, no development of redness or skin edema at the site of application of the studied drug following both 10 and 20 applications was found. The

Таблица 1. Оценка влияния ПЭГ-Гиал на реакцию общей анафилаксии
Table 1. Evaluation of the effect of PEG-Hyal on the anaphylactic reaction

Группа Group	Анафилактический индекс Anaphylactic index ($\bar{X} \pm m$)
Контроль 1 (2% раствор ПЭГ) / Control 1 (2% PEG solution) ♂ ($n = 5$)	0.60 ± 0.24
ПЭГ-Гиал, доза 20.83 ЕД/кг PEG-Hyal, dose 20.83 IU/kg ♂ ($n = 5$)	0.80 ± 0.20
ПЭГ-Гиал, доза 208.3 ЕД/кг PEG-Hyal, dose 208.3 IU/kg ♂ ($n = 5$)	0.80 ± 0.20
Контроль 2 (2% раствор ПЭГ) / Control 2 (2% PEG solution) ♀ ($n = 5$)	0.60 ± 0.24
ПЭГ-Гиал, доза 20.83 ЕД/кг PEG-Hyal, dose 20.83 IU/kg ♀ ($n = 5$)	0.60 ± 0.24
ПЭГ-Гиал, доза 208.3 ЕД/кг PEG-Hyal, dose 208.3 IU/kg ♀ ($n = 5$)	0.80 ± 0.20

деляли массу лап и подсчитывали индекс реакции воспаления (ИР) по формуле

$$\text{ИР} = (M_{\text{оп}} - M_{\text{к}}) / M_{\text{к}} \cdot 100 \%,$$

где $M_{\text{оп}}$ – масса стопы задней лапы, в подушечку которой вводили Кона;

$M_{\text{к}}$ – масса стопы задней лапы, в подушечку которой вводили физиологический раствор.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В экспериментах по изучению анафилактогенной активности показано, что тестирующее внутривенное введение ПЭГ-Гиал не приводило к развитию анафилактической реакции у морских свинок (табл. 1). Анафилактический индекс как в контрольной, так и в опытных группах животных был менее 1.0.

Конъюнктивальный тест не выявил признаков покраснения конъюнктивы или слёзного протока глаз морских свинок, что свидетельствует об отсутствии повышенной чувствительности к препарату ПЭГ-Гиал (табл. 2).

При оценке сенсибилизирующего действия ПЭГ-Гиал не наблюдалось развития покраснения или отека кожи на месте нанесения исследуемого препарата как после 10, так и после 20 апплика-

skin reaction in the experimental group did not differ from the reaction in the control group (Table 3).

In the experiments studying the delayed hypersensitivity reaction in mice, we have found no significant differences in the reaction index in the experimental group of mice which received PEG-Hyal with Freund's adjuvant, compared with the control group which received Freund's adjuvant alone, following 6 and 24 hours after administration (Table 4).

When studying active cutaneous anaphylaxis, it was shown that after an intradermal challenge PEG-Hyal injection, the diameter of the stained spot did not significantly differ in both experimental groups (50 IU/kg and 500 IU/kg) from the control one (Table 5).

In experiments evaluating the indirect mast cell degranulation, it was found that the serum of animals which received PEG-Hyal at doses of 50 and 500 IU/kg did not cause a statistically significant change in the MCDI compared with the control group (Table 6), and the MCDI did not significantly change either in the absence or in the presence of PEG-Hyal. The MCDI in the presence of PEG-Hyal but without the addition of mouse serum was 0.04.

Таблица 2. Оценка влияния инстилляций ПЭГ-Гиал на состояние конъюнктивы глаза
Table 2. Assessment of the effect of PEG-Hyal instillations on the state of the conjunctiva

Группа Group	Время после инстилляций Time after instillation		
	15 мин / min	24 ч / h	48 ч / h
Контроль 1 (2% раствор ПЭГ) / Control 1 (2% PEG solution) ♂ ($n = 5$)	н.и. / n.ch.	н.и. / n.ch.	н.и. / n.ch.
ПЭГ-Гиал, доза 20.83 ЕД/кг PEG-Hyal, dose 20.83 IU/kg ♂ ($n = 5$)	н.и. / n.ch.	н.и. / n.ch.	н.и. / n.ch.
ПЭГ-Гиал, доза 208.3 ЕД/кг PEG-Hyal, dose 208.3 IU/kg ♂ ($n = 5$)	н.и. / n.ch.	н.и. / n.ch.	н.и. / n.ch.
Контроль 2 (2% раствор ПЭГ) / Control 2 (2% PEG solution) ♀ ($n = 5$)	н.и. / n.ch.	н.и. / n.ch.	н.и. / n.ch.
ПЭГ-Гиал, доза 20.83 ЕД/кг PEG-Hyal, dose 20.83 IU/kg ♀ ($n = 5$)	н.и. / n.ch.	н.и. / n.ch.	н.и. / n.ch.
ПЭГ-Гиал, доза 208.3 ЕД/кг PEG-Hyal, dose 208.3 IU/kg ♀ ($n = 5$)	н.и. / n.ch.	н.и. / n.ch.	н.и. / n.ch.

Примечание. н.и. – нет изменений.
Note. n.ch. – no changes.

Таблица 3. Оценка влияния накожных аппликаций ПЭГ-Гиал на состояние кожных покровов морских свинок
Table 3. Evaluation of the effect of PEG-Hyal skin applications on the state of the guinea pigs' skin

Группа Group	Количество аппликаций Number of applications	
	10	20
Контроль 1 ♂ (2% раствор ПЭГ) / Control 1 ♂ (2% PEG solution) (n = 5)	–	–
ПЭГ-Гиал / PEG-Hyal ♂ (n = 5)	–	–
Контроль 2 ♀ (2% раствор ПЭГ) / Control 2 ♀ (2% PEG solution) (n = 5)	–	–
ПЭГ-Гиал / PEG-Hyal ♀ (n = 5)	–	–

П р и м е ч а н и е . «–» – отрицательная реакция.
 N o t e . «–» – negative reaction.

ций. Реакция кожи в опытной группе не отличалась от реакции в контрольной группе (табл. 3).

В экспериментах по изучению реакции гиперчувствительности замедленного типа на мышах установлено, что достоверных различий индекса реакции ГЗТ в опытной группе мышей, получавших ПЭГ-Гиал с адъювантом Фрейнда, по сравнению с контрольной группой, получавших только адъювант Фрейнда, не наблюдалось через 6 и 24 ч после введения (табл. 4).

При изучении активной кожной анафилаксии показано, что после внутрикожного введения разрешающей инъекции ПЭГ-Гиал диаметр окрашенного пятна достоверно не отличался в обеих опытных группах (50 ЕД/кг и 500 ЕД/кг) от контрольной (табл. 5).

В экспериментах по изучению непрямо́й реакции дегрануляции тучных клеток установлено, что сыворотка животных, получавших ПЭГ-Гиал в дозах 50 и 500 ЕД/кг, не вызывала статистически значимого изменения ПДТК по сравнению с контрольной группой (табл. 6), причем ПДТК достоверно не изменялся как в отсутствии, так и в присутствии ПЭГ-Гиал. ПДТК в присутствии ПЭГ-Гиал без добавления сыворотки мышей составил 0.04.

Оценка аллергизирующего действия ПЭГ-Гиал в реакции воспаления на конканавалин А

Evaluation of the allergenic potential of PEG-Hyal in the inflammatory response to concanavalin A showed that the course administration of the drug both at a dose of 50 IU/kg and at a dose of 500 IU/kg did not lead to a statistically significant difference in the IRI in the experimental and control groups (Table 7).

CONCLUSION

When studying the allergenic properties of PEG-Hyal in various experiments (anaphylactogenic activity, conjunctival challenge testing and cutaneous applications on guinea pigs; active cutaneous anaphylaxis, delayed-type hypersensitivity, indirect mast cell degranulation, cutaneous and inflammatory response to concanavalin A in mice), no significant differences were found between the control and experimental groups. Thus, PEG-Hyal does not have an allergenic potential in various routes of administration. This, firstly, significantly expands the possibilities of clinical use of PEG-Hyal, and, secondly, once again confirms that electron beam PEGylation of enzymes allows to achieve the effect of eluding of proteins from allergic response of immunocompetent cells.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Таблица 4. Оценка влияния ПЭГ-Гиал на интенсивность реакции ГЗТ
Table 4. Evaluation of the effect of PEG-Hyal on the intensity of the DTH

Группа Group	Индекс реакции ГЗТ / DTH index ($\bar{X} \pm m$)	
	через 6 ч / after 6 h	через 24 ч / after 24 h
Контроль (р-р Хенкса + адъювант Фрейнда) Control (Hanks' solution + Freund's adjuvant) (n = 5)	1.66 ± 0.53	2.42 ± 0.64
Опыт (ПЭГ-Гиал + адъювант Фрейнда) Experiment (PEG-Hyal + Freund's adjuvant) (n = 5)	7.58 ± 2.71	4.96 ± 1.19

П р и м е ч а н и е . ГЗТ – гиперчувствительность замедленного типа.
 N o t e . DTH – delayed-type hypersensitivity.

Таблица 5. Влияние введения ПЭГ-Гиал на активную кожную анафилаксию
Table 5. Effect of PEG-Hyal administration on active cutaneous anaphylaxis

Группа Group	Диаметр пятна (мм ²) ($\bar{X} \pm m$) при разрешающем введении ПЭГ-Гиал в дозе Spot diameter (mm ²) ($\bar{X} \pm m$) in challenge administration of PEG-Hyal at a dose of	
	0.5 ЕД / IU	1.0 ЕД / IU
Контроль (2% р-р ПЭГ) Control (2% PEG solution) (n = 5)	0.75 ± 0.19	1.06 ± 0.33
Опыт 1 (ПЭГ-Гиал, доза 50 ЕД/кг) Experiment 1 (PEG-Hyal, dose 50 IU/kg) (n = 5)	0.88 ± 0.18	2.19 ± 0.60
Опыт 2 (ПЭГ-Гиал, доза 500 ЕД/кг) Experiment 2 (PEG-Hyal, dose 500 IU/kg) (n = 5)	1.29 ± 0.26	2.0 ± 0.61

Таблица 6. Влияние введения ПЭГ-Гиал на реакцию дегрануляции тучных клеток
Table 6. Effect of PEG-Hyal administration on the mast cell degranulation

Группа (доноры сыворотки) Group (serum donors)	ПДТК ($\bar{X} \pm m$) в присутствии / MCDI ($\bar{X} \pm m$)	
	сыворотки for serum	сыворотки и ПЭГ-Гиал for serum and PEG-Hyal
Фон / Background (n = 5)	0.048 ± 0.005	0.046 ± 0.009
Контроль (2% р-р ПЭГ) / Control (2% solution PEG) (n = 5)	0.044 ± 0.008	0.050 ± 0.015
Опыт 1 (ПЭГ-Гиал, доза 50 ЕД/кг) Experiment 1 (PEG-Hyal, dose 50 IU/kg) (n = 5)	0.052 ± 0.010	0.060 ± 0.005
Опыт 2 (ПЭГ-Гиал, доза 500 ЕД/кг) Experiment 2 (PEG-Hyal, dose 500 IU/kg) (n = 5)	0.048 ± 0.010	0.046 ± 0.007

П р и м е ч а н и е . ПДТК – показатель дегрануляции тучных клеток.
N o t e . MCDI – mast cell degranulation index.

Таблица 7. Влияние введения ПЭГ-Гиал на индекс реакции (ИР) воспаления на конканавалин А
Table 7. Effect of PEG-Hyal administration on the inflammatory response index (IRI) to concanavalin A

Группа / Group	ИР / IRI ($\bar{X} \pm m$)
Контроль (2% р-р ПЭГ) / Control (2% solution PEG) (n = 5)	3.09 ± 0.59
Опыт 1 (ПЭГ-Гиал, доза 50 ЕД/кг) Experiment 1 (PEG-Hyal, dose 50 IU/kg) (n = 5)	3.25 ± 0.74
Опыт 2 (ПЭГ-Гиал, доза 500 ЕД/кг) Experiment 2 (PEG-Hyal, dose 500 IU/kg) (n = 5)	3.69 ± 0.87

показала, что курсовое введение препарата как в дозе 50 ЕД/кг, так и в дозе 500 ЕД/кг не приводило к статистически достоверной разнице по ИР в опытных и контрольной группах (табл. 7).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При изучении аллергизирующих свойств ПЭГ-Гиал в различных экспериментах (анафилактогенная активность, конъюнктивальное тестирование и накожные аппликации на морских свинках; активная кожная анафилаксия, реакция гиперчувствительности замедленного типа, реакция непрямого дегрануляции тучных клеток и реакция воспаления на конканавалин А

на мышцах) не было выявлено достоверных отличий между контрольными и опытными группами. Таким образом, ПЭГ-Гиал не обладает аллергизирующим действием при различных путях введения. Это обстоятельство, во-первых, существенно расширяет возможности клинического применения ПЭГ-Гиал, а во-вторых, еще раз подтверждает, что электронно-лучевое пегилирование ферментов позволяет достичь эффекта «ускользания» белков от аллергического ответа иммунокомпетентных клеток.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Dunn A.L., Heavner J.E., Racz G., Day M. Hyaluronidase: a review of approved formulations, indications and off-label use in chronic pain management // *Expert. Opin. Biol. Ther.* 2010;10(1):127-131. DOI: 10.1517/14712590903490382.
2. Jung H. Hyaluronidase: An overview of its properties, applications, and side effects // *Arch. Plast. Surg.* 2020;47(4):297-300. DOI: 10.5999/aps.2020.00752.
3. Kim M.S., Youn S., Na C.H., Shin B.S. Allergic reaction to hyaluronidase use after hyaluronic acid filler injection // *J. Cosmet. Laser Ther.* 2015;17(5):283-5. DOI: 10.3109/14764172.2015.1007069.
4. Sharma S.C., Lahiri A. Use of hyaluronidase in plastic surgery: a review // *J. Plast. Reconstr. Aesthet. Surg.* 2021;74(7):1610-1614. DOI: 10.1016/j.bjps.2021.03.125.
5. Mayor R., Gautam P., Agarwal M. et al. Hyaluronidase sensitivity: Our experience // *Indian J. Ophthalmol.* 2016;64(10):789-790. DOI: 10.4103/0301-4738.195008.
6. Ahluwalia H.S., Lukaris A., Lane C.M. Delayed allergic reaction to hyaluronidase: a rare sequel to cataract surgery // *Eye (Lond.)*. 2003;17(2):263-266. DOI: 10.1038/sj.eye.6700243.
7. Raichura N.D., Alam M.S., Jaichandran V.V. et al. Hyaluronidase allergy mimicking orbital cellulitis // *Orbit.* 2018;37(2):149-153. DOI: 10.1080/01676830.2017.1383465.
8. Murray G., Convery C., Walker L., Davies E. Guideline for the safe use of hyaluronidase in aesthetic medicine, including modified high-dose protocol // *J. Clin. Aesthet. Dermatol.* 2021;14(8):E69-E75.
9. Wu L., Liu X., Jian X. et al. Delayed allergic hypersensitivity to hyaluronidase during the treatment of granulomatous hyaluronic acid reactions // *J. Cosmet. Dermatol.* 2018;17(6):991-995. DOI: 10.1111/jocd.12461.
10. Scolaro R.J., Crilly H.M., Maycock E.J. et al. Australian and New Zealand Anaesthetic Allergy Group perioperative anaphylaxis investigation guidelines // *Anaesth. Intensive Care.* 2017;45(5):543-555. DOI: 10.1177/0310057X1704500504.
11. Мадонов П.Г., Ершов К.И., Дубровин А.В. и др. Электронно-лучевая модификация препаратов белковой природы для улучшения их фармакологических свойств // *Медицина и образование в Сибири.* 2013;4:83.
12. Дыгай А.М., Першина О.В., Крупин В.А. и др. Изучение антифибротической активности модифицированной и нативной гиалуронидазы при пневмофиброзе // *Сибирский науч. мед. журн.* 2017;37(4):5-10.
13. Скурихин Е.Г., Першина О.В., Крупин В.А. и др. Эффекты и механизм действия пегилированной гиалуронидазы у мышей C57BL/6 в условиях блеомин-индуцированного фиброза легких // *Патогенез.* 2015;13(3):56-64.
14. Дыгай А.М., Зюзьков Г.Н., Гурто Р.В. и др. Влияние пегилированной эндо-β-N-ацетилгексозаминазы на гуморальные механизмы регуляции функций прогениторных клеток при хроническом гепатите // *Бюл. эксперимент. биологии и медицины.* 2013;155(2):140-143.

REFERENCES

1. Dunn A.L., Heavner J.E., Racz G., Day M. Hyaluronidase: a review of approved formulations, indications and off-label use in chronic pain management. *Expert. Opin. Biol. Ther.* 2010;10(1):127-131. DOI: 10.1517/14712590903490382.
2. Jung H. Hyaluronidase: An overview of its properties, applications, and side effects. *Arch. Plast. Surg.* 2020;47(4):297-300. DOI: 10.5999/aps.2020.00752.
3. Kim M.S., Youn S., Na C.H., Shin B.S. Allergic reaction to hyaluronidase use after hyaluronic acid filler injection. *J. Cosmet. Laser Ther.* 2015;17(5):283-5. DOI: 10.3109/14764172.2015.1007069.
4. Sharma S.C., Lahiri A. Use of hyaluronidase in plastic surgery: a review. *J. Plast. Reconstr. Aesthet. Surg.* 2021;74(7):1610-1614. DOI: 10.1016/j.bjps.2021.03.125.
5. Mayor R., Gautam P., Agarwal M. et al. Hyaluronidase sensitivity: Our experience. *Indian J. Ophthalmol.* 2016;64(10):789-790. DOI: 10.4103/0301-4738.195008.
6. Ahluwalia H.S., Lukaris A., Lane C.M. Delayed allergic reaction to hyaluronidase: a rare sequel to cataract surgery. *Eye (Lond.)*. 2003;17(2):263-266. DOI: 10.1038/sj.eye.6700243.
7. Raichura N.D., Alam M.S., Jaichandran V.V. et al. Hyaluronidase allergy mimicking orbital cellulitis. *Orbit.* 2018;37(2):149-153. DOI: 10.1080/01676830.2017.1383465.
8. Murray G., Convery C., Walker L., Davies E. Guideline for the safe use of hyaluronidase in aesthetic medicine, including modified high-dose protocol. *J. Clin. Aesthet. Dermatol.* 2021;14(8):E69-E75.
9. Wu L., Liu X., Jian X. et al. Delayed allergic hypersensitivity to hyaluronidase during the treatment of granulomatous hyaluronic acid reactions. *J. Cosmet. Dermatol.* 2018;17(6):991-995. DOI: 10.1111/jocd.12461.
10. Scolaro R.J., Crilly H.M., Maycock E.J. et al. Australian and New Zealand Anaesthetic Allergy Group perioperative anaphylaxis investigation guidelines. *Anaesth. Intensive Care.* 2017;45(5):543-555. DOI: 10.1177/0310057X1704500504.
11. Madonov P. G., Ershov K. I., Dubrov A. V. et al. Electron-beam modification of preparations of the albuminous nature for improvement of their pharmacological properties. *Medicine and Education in Siberia.* 2013;4:83. (In Russ.)
12. Dygai A.M., Pershina O.V., Krupin V.A. et al. Study of antifibrotic activity of modified and native hyaluronidase at pulmonary fibrosis. *Siberian Scientific Medical Journal.* 2017;37(4):5-10. (In Russ.)
13. Skurihin E.G., Pershina O.V., Krupin V.A. et al. Effects and mechanisms of pegylated hyaluronidase in c57BL/6 mice under bleomycin induced pulmonary fibrosis. *Pathogenesis.* 2015;13(3):56-64. (In Russ.)
14. Dygai A.M., Zyuz'kov G.N., Gurto R.V. et al. Effect of pegylated hyaluronate-endo-β-N-acetylhexosaminidase on humoral mechanisms regulating the functions of progenitor cells during chronic hepatitis. *Bulletin Experimental Biology and Medicine.* 2013;155(2):140-143. (In Russ.)
15. Dygai A.M., Zyuz'kov G.N., Zhdanov V.V. et al. Method of stimulating liver stem cell differentiation in vitro

15. Дыгай А.М., Зюзьков Г.Н., Жданов В.В. и др. Способ стимуляции дифференцировки стволовых клеток печени in vitro в тканеспецифичном направлении: Патент на изобретение RUS 2477752. 17.02.2012.
16. Дыгай А.М., Зюзьков Г.Н., Жданов В.В. и др. Влияние иммобилизированной с помощью нанотехнологии электронно-лучевого синтеза гиалуронидазы на чувствительность прогениторных клеток к регуляторным факторам // Клеточные технологии в биологии и медицине. 2011;1:47-50.
17. Любимов Б.И., Коваленко Л.П., Федосеева В.Н. Методические указания по оценке алергизирующих свойств фармакологических веществ. М., 2000. С. 25–32.
18. Weigle W.O., Cochrane C.G., Dixon F.J. Anaphylactogenic properties of soluble antigen-antibody complexes in the guinea pig and rabbit // J. Immunol. 1960;85:469-477.
- in tissue-specific direction: Patent RUS 2477752. 17.02.2012. (In Russ.)
16. Dygai A.M., Zyuz'kov G.N., Zhdanov V.V. et al. Effect of hyaluronidase immobilized using electron-beam synthesis nanotechnology on sensitivity of progenitor cells to regulatory factors. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2011;151(1):150-153. DOI: 10.1007/s10517-011-1277-0.
17. Lyubimov B.I., Kovalenko L.P., Fedoseeva V.N. (2000). *Guidelines for the Evaluation of Allergenic Properties of Pharmacological Substances*. Moscow. P. 25–32. (In Russ.)
18. Weigle W.O., Cochrane C.G., Dixon F.J. Anaphylactogenic properties of soluble antigen-antibody complexes in the guinea pig and rabbit. *J. Immunol*. 1960;85:469-477.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Забанова Виктория Евгеньевна – ассистент кафедры офтальмологии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России; младший научный сотрудник лаборатории экспериментальной и клинической фармакологии Института клинической и экспериментальной лимфологии – филиала ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики» СО РАН, Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0001-9879-8986.

Ершов Константин Игоревич – канд. биол. наук, доцент кафедры фармакологии, клинической фармакологии и доказательной медицины ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России; научный сотрудник лаборатории фармацевтических технологий Института клинической и экспериментальной лимфологии – филиала ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики» СО РАН, Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0003-41399-036x.

Швецова Александра Михайловна – младший научный сотрудник лаборатории фармацевтических технологий Института клинической и экспериментальной лимфологии – филиала ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики» СО РАН, Новосибирск, Россия. ORCID: 0009-0002-7735-6032.

Шерстобоев Евгений Юрьевич – д-р мед. наук, профессор, заведующий отделом иммунофармакологии, заместитель директора по экспертизе доклинических исследований НИИ фармакологии и регенеративной медицины им. Е.Д. Гольдберга ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», Томск, Россия. ORCID: 0000-0002-6178-5329.

Жданов Вадим Вадимович – д-р мед. наук, профессор, член-корреспондент РАН, директор НИИ фармакологии и регенеративной медицины им. Е.Д. Гольдберга ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», Томск, Россия. ORCID: 0000-0002-9516-0204.

ABOUT THE AUTHORS

Viktoriya E. Zabanova – Assistant, Department of Ophthalmology, Novosibirsk State Medical University; Junior Researcher, Laboratory of Experimental and Clinical Pharmacology, Institute of Clinical and Experimental Lymphology, Branch of the Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0001-9879-8986.

Konstantin I. Ershov – Cand. Sci. (Bio.), Associate Professor, Department of Pharmacology, Clinical Pharmacology and Evidence-Based Medicine, Novosibirsk State Medical University; Researcher, Laboratory of Pharmaceutical Technology, Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology, Branch of the Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0003-41399-036x.

Alexandra M. Shvetsova – Junior Researcher, Pharmaceutical Technology Laboratory, Institute of Clinical and Experimental Lymphology, Branch of the Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0009-0002-7735-6032.

Evgeny Yu. Sherstoboev – Dr. Sci. (Med.), Professor, Head, Department of Immunopharmacology, Deputy Director for Examination of Preclinical Research, Goldberg Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine, Tomsk, Russia. ORCID: 0000-0002-6178-5329.

Vadim V. Zhdanov – Dr. Sci. (Med.), Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Head, Goldberg Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine, Tomsk, Russia. ORCID: 0000-0002-9516-0204.

Tatyana A. Drobysheva – Cand. Sci. (Med.), Assistant, Departments of Obstetrics and Gynecology, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0002-1639-1841.

Anzhella Zh. Fursova – Dr. Sci. (Med.), Associate Professor, Head, Department of Ophthalmology, Novosibirsk State Medical University; Leading Researcher, Institute Clinical and Experimental Lymphology, Branch of the Federal Research Center Institute of

Дробышева Татьяна Александровна – канд. мед. наук, ассистент кафедры акушерства и гинекологии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0002-1639-1841.

Фурсова Анжелла Жановна – д-р мед. наук, доцент, заведующий кафедрой офтальмологии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России; ведущий научный сотрудник ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики» СО РАН, Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0001-6311-5452.

Мадонов Павел Геннадьевич – д-р мед. наук, доцент, заведующий кафедрой фармакологии, клинической фармакологии и доказательной медицины ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России; руководитель отдела экспериментальной фармакологии Института клинической и экспериментальной лимфологии – филиала ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики» СО РАН, Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0002-1093-8938.

Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0001-6311-5452.

Pavel G. Madonov – Dr. Sci. (Med.), Associate Professor, Head, Department of Pharmacology, Clinical Pharmacology and Evidence-Based Medicine, Novosibirsk State Medical University; Head, Department of Experimental Pharmacology, Institute of Clinical and Experimental Lymphology, Branch of the Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0002-1093-8938.



Исследование молекулярно-клеточных механизмов фиброобразования печени крыс при посттоксическом гепатозе смешанной этиологии и при применении окисленного декстрана

М.А. Карпов^{1, 2}, А.П. Надеев^{1, 2}, В.Д. Клочин¹, В.А. Шкурупий¹, С.В. Позднякова²

¹Научно-исследовательский институт экспериментальной и клинической медицины ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины», Новосибирск, Россия

²ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия

АННОТАЦИЯ

В в е д е н и е . В основе развития цирроза печени, вне зависимости от этиологии, лежит процесс фиброза и структурной перестройки органа. Регуляция этого процесса связана с высоким уровнем экспрессии TGF- β и подавлением апоптоза в гепатоцитах. Окисленный декстран (ОД) обладает высокой противofiбротической эффективностью, способен изменять функциональное состояние фагоцитирующей клетки, препятствуя таким образом развитию фиброза, стимулируя репаративные процессы в органах при посттоксических гепатозах и циррозе печени. **Ц е л ь .** Изучение молекулярно-клеточных механизмов влияния ОД на экспрессию белков эпителиально-мезенхимальной транзиции в процессе фиброобразования и формирования цирроза печени при посттоксическом гепатозе у крыс.

М а т е р и а л ы и м е т о д ы . В эксперименте использовали 30 крыс-самцов породы Вистар с массой тела 280–320 г. Животных разделили на 2 группы. Крысам 1-й группы (гепатоз) посттоксический гепатоз моделировали путем введения раствора CCl_4 и этилового спирта. Животным 2-й группы посттоксический гепатоз моделировали аналогичным способом, что и крысам 1-й группы, и вводили ОД. Подсчитывали численную плотность (Nai) непаренхиматозных клеток печени, экспрессирующих TGF- β (клеток Купфера, эндотелиоцитов, фибробластов). Экспрессию Е-кадгерина, виментина, SNAIL + SLUG оценивали в фибробластах и гепатоцитах.

Р е з у л ь т а т ы . Численная плотность (Nai) гепатоцитов, экспрессирующих виментин, преобладала в печени крыс 1-й группы (гепатоз), в сравнении с таковой у животных 2-й группы (гепатоз + ОД) на 30-е и 60-е сутки. У животных 1-й (гепатоз) группы на 60-е сутки отмечали в 3 раза меньшую численную плотность гепатоцитов, экспрессирующих Е-кадгерин, в сравнении с таковой у крыс, получавших ОД (2-я группа). У животных 1-й (гепатоз) группы на 30-е и 60-е сутки отмечали в 2 раза и 5 раз большую численную плотность гепатоцитов, экспрессирующих SNAIL + SLUG, в сравнении с таковой у крыс 2-й группы. Численная плотность фибробластов, экспрессирующих виментин, преобладала в печени крыс 2-й группы (гепатоз + ОД), в сравнении с таковой у животных 1-й группы (гепатоз) на 30-е сутки. У животных 1-й (гепатоз) группы на 60-е сутки отмечали в 6 раз большую численную плотность фибробластов, экспрессирующих Е-кадгерин, в сравнении с таковой у крыс, получавших ОД (2-я группа). У животных 1-й (гепатоз) группы на 30-е и 60-е сутки отмечали в 6 и 7 раз большую численную плотность фибробластов, экспрессирующих SNAIL + SLUG, в сравнении с таковой у крыс, получавших ОД (2-я группа). В печени животных 2-й группы (гепатоз + ОД) численная плотность клеток, экспрессирующих TGF- β , была меньшей в сравнении с таковой у животных 1-й группы (гепатоз) в 2.5 раза – на 30-е сутки и в 3.6 раза – на 60-е сутки эксперимента.

З а к л ю ч е н и е . При посттоксическом гепатозе в паренхиматозных и непаренхиматозных клетках печени возрастает экспрессия белков TGF- β , SNAIL + SLUG и виментина, способствуя обретению клетками мезенхимального иммунофенотипа, что приводит к усилению профибротических эффектов и формированию цирроза печени. Применение ОД при посттоксическом гепатозе снижает экспрессию виментина, TGF- β и белков эпителиально-

Поступила в редакцию 27.04.2023
Прошла рецензирование 31.05.2023
Принята к публикации 08.06.2023

Автор, ответственный за переписку
Карпов Михаил Александрович: ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России. 630091, г. Новосибирск, Красный просп., 52.
E-mail: karpov-ma@mail.ru

Received 27.04.2023
Revised 31.05.2023
Accepted 08.06.2023

Corresponding author
Mikhail A. Karpov: Novosibirsk State Medical University, 52, Krasny prosp., Novosibirsk, 630091, Russia.
E-mail: karpov-ma@mail.ru

мезехимальной транзиции в паренхиматозных и непаренхиматозных клетках печени, что уменьшает выраженность фибропластических процессов и препятствует развитию цирроза печени.

Ключевые слова: токсический гепатоз, цирроз печени, крысы, окисленный декстран, эпителиально-мезенхимальная транзиция, TGF- β .

Образец цитирования: Карпов М.А., Надеев А.П., Клочин В.Д., Шкурупий В.А., Позднякова С.В. Исследование молекулярно-клеточных механизмов фиброзирования печени крыс при посттоксическом гепатозе смешанной этиологии и при применении окисленного декстрана // Journal of Siberian Medical Sciences. 2023;7(2):128-137. DOI: 10.31549/2542-1174-2023-7-2-128-137

Investigation of molecular and cellular mechanisms of liver fibrosis in rats with post-toxic hepatitis of various etiologies and with the use of oxidized dextran

M.A. Karpov^{1, 2}, A.P. Nadeev^{1, 2}, V.D. Klochin¹, V.A. Shkurupiy¹, S.V. Pozdnyakova²

¹Research Institute of Experimental and Clinical Medicine, Federal Research Center for Fundamental and Translational Medicine, Novosibirsk, Russia

²Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia

ABSTRACT

I n t r o d u c t i o n . The development of liver cirrhosis, regardless of etiology, is based on the process of fibrosis and structural alteration of the organ. Regulation of this process is associated with a high level of TGF- β expression and suppression of apoptosis in hepatocytes. Oxidized dextran (OD) has a high antifibrotic activity and is able to change the functional state of the phagocytic cell, thus preventing the development of fibrosis and stimulating reparative processes in organs with post-toxic hepatitis and liver cirrhosis.

A i m . To study the molecular and cellular mechanisms of the effect of OD on the expression of epithelial-mesenchymal transition (EMT)-associated proteins during fibrosis and the development of liver cirrhosis in rats with post-toxic hepatitis.

M a t e r i a l s a n d m e t h o d s . In the experiment, 30 male Wistar rats weighing 280–320 g were used. The animals were divided into 2 groups. In group 1 rats (hepatosis), the post-toxic hepatitis was modeled by administration of a solution of CCl₄ and ethyl alcohol. In rats from group 2, the post-toxic hepatitis was modeled in the same way, and OD was administered. The numerical density (Nai) of liver nonparenchymal cells expressing TGF- β (Kupffer cells, endothelial cells, fibroblasts) was calculated. The expression of E-cadherin, vimentin, SNAIL + SLUG by fibroblasts and hepatocytes was evaluated.

R e s u l t s . The numerical density (Nai) of hepatocytes expressing vimentin prevailed in the liver of group 1 rats (hepatosis), compared with that of group 2 animals (hepatosis + OD) on the 30th and 60th days. In animals of the 1st (hepatosis) group on the 60th day, a 3-fold lower numerical density of hepatocytes expressing E-cadherin was noted in comparison with that in rats treated with OD (group 2). In animals of the 1st (hepatosis) group on the 30th and 60th days, a 2-fold and 5-fold higher numerical density of hepatocytes expressing SNAIL + SLUG was noted in comparison with that in rats of the 2nd group. The numerical density of fibroblasts expressing vimentin prevailed in the liver of group 2 rats (hepatosis + OD), compared with that of group 1 animals (hepatosis) on day 30. In animals of the 1st (hepatosis) group on the 60th day, a 6-fold higher numerical density of fibroblasts expressing E-cadherin was noted in comparison with that in rats treated with OD (group 2). In animals of the 1st (hepatosis) group on the 30th and 60th days, the numerical density of fibroblasts expressing SNAIL + SLUG was 6 and 7 times higher than in rats treated with OD (group 2). In the liver of animals of the 2nd group (hepatosis + OD), the numerical density of cells expressing TGF- β was lower in comparison with that of animals of the 1st group (hepatosis) by 2.5 times on the 30th day and 3.6 times on the 60th day of the experiment.

C o n c l u s i o n . In post-toxic hepatitis, the expression of TGF- β , SNAIL + SLUG and vimentin proteins increases in liver parenchymal and nonparenchymal cells, contributing to the acquisition of a mesenchymal immunophenotype by cells, which leads to increased profibrotic activity and the development of liver cirrhosis. The use of OD in post-toxic hepatitis reduces the expression of vimentin, TGF- β and EMT-associated proteins in liver parenchymal and nonparenchymal cells, which decreases the severity of fibroplastic processes and prevents the development of liver cirrhosis.

Keywords: toxic hepatitis, liver cirrhosis, rats, oxidized dextran, epithelial-mesenchymal transition, TGF- β .

Citation example: Karpov M.A., Nadeev A.P., Klochin V.D., Shkurupiy V.A., Pozdnyakova S.V. Investigation of molecular and cellular mechanisms of liver fibrosis in rats with post-toxic hepatitis of various etiologies and with the use of oxidized dextran. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2023;7(2):128-137. DOI: 10.31549/2542-1174-2022-7-2-128-137

ВВЕДЕНИЕ

На современном этапе для цирроза печени характерны высокая частота заболеваемости и летальности [1, 2]. При этом лечение фиброза и цирроза печени носит симптоматический характер и направлено на коррекцию возникающих у пациентов осложнений, а в ряде случаев применяется трансплантация печени [3].

В основе развития цирроза печени, вне зависимости от этиологии, лежит процесс фиброза и структурной перестройки органа. Регуляция этого процесса связана с высоким уровнем экспрессии TGF- β и подавлением апоптоза в гепатоцитах [3]. В качестве основного источника продукции TGF- β рассматривают макрофаги, участвующие в регуляции процессов фиброза [4]. Кроме того, в процессе фиброобразования печени и развития цирроза задействованы механизмы эпителиально-мезенхимальной транзиции (ЭМТ). Этот процесс сопровождается экспрессией белков SNAIL и SLUG и имеет связь с увеличением экспрессии TGF- β [5]. При этом снижается уровень экспрессии компонентов, обеспечивающих клеточные соединения, в частности E-кадгерина, но возрастает экспрессия виментина в эпителиальных клетках печени [6, 7].

Ранее была продемонстрирована высокая противοфибротическая эффективность лизосомотропного вещества – окисленного декстрана (ОД), способного длительно находиться в вакуолярном аппарате макрофага и изменять функциональное состояние фагоцитирующей клетки, способствуя накоплению лизосомальных ферментов и экспрессии матриксных металлопротеиназ (ММР), их ингибиторов (ТИМР), ответственных за деградацию внеклеточного матрикса, препятствуя таким образом развитию фиброза, стимулируя репаративные процессы в органах при различных экспериментальных условиях, в том числе при посттоксических гепатозах и циррозе печени [8]. Однако в ходе проводимых исследований выявили, что экспрессия ММР и ТИМР при посттоксических гепатозах и циррозе печени выражена слабо и не объясняет в полной мере полученный противοфибротический эффект ОД.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучение молекулярно-клеточных механизмов влияния ОД на экспрессию белков ЭМТ в процессе фиброобразования и формирования цирроза печени при посттоксическом гепатозе у крыс.

INTRODUCTION

Currently, liver cirrhosis is characterized by high incidence and mortality [1, 2]. At the same time, the treatment of fibrosis and liver cirrhosis is symptomatic and aimed at correction of complications, and in some cases, liver transplantation is used [3].

The development of liver cirrhosis, regardless of etiology, is based on the process of fibrosis and structural alteration of the organ. Regulation of this process is associated with a high level of TGF- β expression and suppression of apoptosis in hepatocytes [3]. Macrophages involved in the regulation of fibrosis are considered the main source of TGF- β production [4]. In addition, the mechanisms of the epithelial-mesenchymal transition (EMT) are involved in the process of liver fibrosis and the development of cirrhosis. This process is accompanied by the expression of SNAIL and SLUG proteins and is associated with increased TGF- β expression [5]. At the same time, the level of expression of components providing cellular junctions, in particular E-cadherin, decreases, but the expression of vimentin in liver epithelial cells increases [6, 7].

Previously, a high antifibrotic activity of a lysosomotropic substance, oxidized dextran (OD) was demonstrated of being capable to stay in the vacuolar apparatus of the macrophage for a long time and change the functional state of the phagocytic cell, contributing to the accumulation of lysosomal enzymes and expression of matrix metalloproteinases (MMPs), their inhibitors (TIMP) responsible for the degradation of the extracellular matrix, thus preventing the development of fibrosis, stimulating reparative processes in organs under various experimental conditions, including post-toxic hepatoses and liver cirrhosis [8]. However, the studies conducted showed that the expression of MMPs and TIMP in post-toxic hepatitis and liver cirrhosis is poorly and does not fully explain the antifibrotic activity of OD.

AIM OF THE RESEARCH

To study the molecular and cellular mechanisms of the effect of OD on the expression of EMT-associated proteins during fibrosis and the development of liver cirrhosis in rats with post-toxic hepatitis.

MATERIALS AND METHODS

In the experiment, 30 male Wistar rats weighing 280–320 g were used. The experiment was carried out in accordance with the Directive 2010/63/EU of the European Parliament and the Council on the protection of animals used for scientific purposes, the

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В эксперименте использовали 30 крыс-самцов породы Вистар с массой тела 280–320 г. Эксперимент выполнен в соответствии с положениями Директивы 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского Союза по охране животных, используемых в научных целях, Межгосударственным стандартом по содержанию и уходу за лабораторными животными (7-е переиздание, 2019 г.).

Животных разделили на 2 группы. Крысам 1-й группы (гепатоз) посттоксический гепатоз моделировали путем интраперитонеального введения 1 раз в каждые 4 суток 50% масляного раствора CCl_4 в дозе 1 мл/кг массы тела. После каждого такого введения на следующие сутки через поилку вводили 6.5% водный раствор этилового спирта (в среднем 40 мл на крысу). Введение CCl_4 и водного раствора этилового спирта продолжали в течение 60 сут, до формирования цирроза печени с характерными признаками в виде асцита, гидроторакса, геморрагического синдрома и ложными дольками в печени. Животным 2-й группы (гепатоз + ОД) посттоксический гепатоз моделировали так же, как и животным 1-й группы, но, начиная с 1-х суток эксперимента, 1 раз в каждые 4 дня интраперитонеально вводили по 2 мл 5% водного раствора ОД (40 кДа). Введение ОД крысам 2-й группы (гепатоз + ОД) продолжали до 60-х суток. Животных во всех группах на протяжении эксперимента содержали в стандартных условиях вивария на стандартной лабораторной диете и выводили из эксперимента на 30-е и 60-е сутки от начала введения токсических факторов путем декапитации под наркозом из смеси тилетамина (50 мг) и золазепама (50 мг) по 0.1 мл на 100 г массы тела.

Для исследования забирали большую долю печени. После фиксации образцов печени в 10% забуференном нейтральном формалине их подвергали дальнейшей стандартной гистологической обработке: проводили через серию спиртов возрастающей концентрации, заключали в парафин. На микротоме Microm HM355S (Thermo Scientific, США) изготавливали гистологические срезы толщиной 5–6 мкм. Полученные срезы окрашивали гематоксилином и эозином. Иммуногистохимическое окрашивание срезов проводили стандартным пероксидазным методом, применяли моноклональные антитела к TGF- β , E-кадгерину, виментину, SNAIL + SLUG в разведении, рекомендованном производителем (Abcam, Великобритания), и докрашивали гематоксилином. Количественную оценку экспрессии

Interstate Standard for the Care of Laboratory Animals (7th reissue, 2019).

The animals were divided into 2 groups. In group 1 rats, the post-toxic hepatitis was modeled by intraperitoneal administration of a 50% CCl_4 oil solution at a dose of 1 ml/kg of body weight once every 4 days. After each administration, on the following day, a 6.5% aqueous solution of ethyl alcohol (on average, 40 ml per 1 rat) was administered using a drinker. The administration of CCl_4 and an aqueous solution of ethyl alcohol was continued for 60 days until the formation of liver cirrhosis with characteristic signs such as ascites, hydrothorax, hemorrhage, and pseudo-lobules in the liver. In group 2 animals (hepatosis + OD), the post-toxic hepatitis was modeled in the same way as in group 1, but since the 1st day of the experiment, 2 ml of a 5% aqueous solution of OD (40 kDa) was administered intraperitoneally once every 4 days. The administration of OD to group 2 rats (hepatosis + OD) was continued for 60 days. Animals in all groups throughout the experiment were kept in standard vivarium conditions on a standard laboratory diet, and were decapitated under tiletamine (50 mg) and zolazepam (50 mg) at a dose of 0.1 ml per 100 g of body weight on the 30th and 60th days from the start of the administration of toxicant solutions.

The large hepatic lobe was taken for the study. After fixation of the liver samples in 10% neutral formalin solution, they were subjected to further conventional tissue processing through ethanol of increasing concentrations, and embedded in paraffin. Serial sections of 5–6 μm were made using a Microm HM355S microtome (Thermo Scientific, USA). Sections were stained with hematoxylin and eosin. Immunohistochemical staining of sections was carried out by the conventional peroxidase method, monoclonal antibodies to TGF- β , E-cadherin, vimentin, SNAIL + SLUG were used in the dilution recommended by the manufacturer (Abcam, Great Britain), and were counterstained with hematoxylin. The quantitative assessment of the expression of the above markers was performed using an AxioStar microscope (Carl Zeiss, Germany) at magnification $\times 400$ using a morphometric grid with a test area of 1600 μm^2 . The numerical density (Nai) of liver nonparenchymal cells expressing TGF- β (Kupffer cells, endothelial cells, fibroblasts) was calculated due to the ability of these cells to produce this marker, their participation in the process of liver fibrosis, inflammation [4]. The expression of E-cadherin, vimentin, SNAIL + SLUG was evaluated in fibroblasts and hepatocytes [9].

Statistical analysis was performed using licensed Microsoft software. The probability of significance of

вышеуказанных факторов проводили с использованием светового микроскопа AxioStar (Carl Zeiss, Германия) при увеличении в 400 раз с использованием морфометрической сетки с тестовой площадью 1600 мкм². Подсчитывали численную плотность (Nai) непаренхиматозных клеток печени, экспрессирующих TGF- β (клеток Купфера, эндотелиоцитов, фибробластов), в связи со способностью этих клеток продуцировать указанный фактор, участием их в процессе фиброзирования печени, воспалении [4]. Экспрессию Е-кадгерина, виментина, SNAIL + SLUG оценивали в фибробластах и гепатоцитах [9].

Статистический анализ проводили с использованием лицензированного программного обеспечения Microsoft. Вероятность достоверности различий средних величин между сравниваемыми признаками оценивали при помощи *t*-критерия Стьюдента, при условии нормального распределения величин в вариационном ряду.

РЕЗУЛЬТАТЫ

За время эксперимента летальных исходов среди животных 1-й и 2-й группы не наблюдали. Макроскопически печень крыс 1-й группы (гепатоз) была плотной, с бугристой узловой поверхностью, тусклого красного цвета. При микроскопическом исследовании печени крыс 1-й (гепатоз) группы обнаруживали фиброз в области портальных трактов, между долек и в толще долек к 30-м суткам. Формирование ложных долек различного размера наблюдали на 60-е сутки эксперимента. У крыс 2-й группы (гепатоз + ОД) на 30-е и 60-е сутки печень макроскопически была гладкой, темно-красного цвета, плотно-эластической консистенции, а при микроскопическом исследовании наблюдали отложение коллагена вокруг портальных трактов, однако в иных локализациях относительно структуры печеночных долек, а также формирования ложных долек не наблюдали.

Численная плотность гепатоцитов, экспрессирующих виментин, преобладала в печени крыс 1-й группы (гепатоз), в сравнении с таковой у животных 2-й группы (гепатоз + ОД) на 30-е и 60-е сутки (табл. 1, рис. 1, А).

У животных 1-й (гепатоз) группы на 60-е сутки отмечали в 3 раза меньшую численную плотность гепатоцитов, экспрессирующих Е-кадгерин, в сравнении с таковой у крыс, получавших ОД (2-я группа) (см. табл. 1, рис. 1, В).

У животных 1-й (гепатоз) группы на 30-е и 60-е сутки отмечали в 2 раза и 5 раз большую численную плотность гепатоцитов, экспрессиру-

ifferences between the compared mean values was determined using the Student's *t*-test, provided that the values were distributed normally in the variation series.

RESULTS

During the experiment, fatal outcomes were not observed among animals of the 1st and 2nd groups. Macroscopically, the liver of group 1 rats (hepatosis) was dense, with a lumpy, nodose surface, dull red in color. Microscopic examination of the liver of rats with hepatosis (group 1) revealed fibrosis at the portal tracts, between the lobules and within the lobules by the 30th day. The formation of pseudo-lobules of various sizes was observed on the 60th day of the experiment. In group 2 rats (hepatosis + OD) on the 30th and 60th days, macroscopically the liver was smooth, dark red in color, solid and elastic, and during microscopic examination the deposition of collagen around the portal tracts was observed, however, in other localizations, with respect to the hepatic lobule structure, it was not found, as well as the formation of pseudo-lobules.

The numerical density of hepatocytes expressing vimentin prevailed in the liver of group 1 rats (hepatosis), in comparison with that of group 2 animals (hepatosis + OD) on the 30th and 60th days (Table 1, Fig. 1, A).

In animals of the 1st (hepatosis) group on the 60th day, a 3-fold lower numerical density of hepatocytes expressing E-cadherin was observed in comparison with that in rats receiving OD (group 2) (Table 1, Fig. 1, B).

In animals of the 1st (hepatosis) group on the 30th and 60th days, a 2-fold and 5-fold higher numerical density of hepatocytes expressing SNAIL + SLUG was noted in comparison with that in rats treated with OD (group 2) (Table 1, Fig. 1, C).

The numerical density of fibroblasts expressing vimentin prevailed in the liver of group 2 rats (hepatosis + OD), compared with that of group 1 animals (hepatosis) on day 30 (Table 2).

In animals of the 1st (hepatosis) group on the 60th day, a 6-fold higher numerical density of fibroblasts expressing E-cadherin was noted in comparison with that in rats treated with OD (group 2) (Table 2).

In animals of the 1st (hepatosis) group on the 30th and 60th days, a 6 and 7 times greater numerical density of fibroblasts expressing SNAIL + SLUG was observed in comparison with that in rats treated with OD (group 2) (Table 2).

It is known that SNAIL + SLUG proteins are involved in disruption of the assembly of cytoskeleton filaments of the epithelial cells, thus contributing

Таблица 1. Численная плотность (Nai) гепатоцитов, экспрессирующих маркеры эпителиально-мезенхимальной транзиции в печени крыс при посттоксическом гепатозе и в условиях коррекции окисленным декстраном ($M \pm m$)
Table 1. Numerical density (Nai) of hepatocytes expressing epithelial-mesenchymal transition markers in the liver of rats with post-toxic hepatitis and treated with oxidized dextran ($M \pm m$)

Показатель Marker	Период наблюдения (сут) Follow-up (day)	1-я группа 1st group	2-я группа 2nd group
Е-кадгерин E-cadherin	30	2.2 ± 0.19	2.9 ± 0.28
	60	1.9 ± 0.15	$5.9 \pm 0.41^*$
Виментин Vimentin	30	0.4 ± 0.12	$0.14 \pm 0.07^*$
	60	0.77 ± 0.19	$0.03 \pm 0.03^*$
SNAIL + SLUG	30	3.7 ± 0.26	1.9 ± 0.28
	60	5.9 ± 0.45	$0.1 \pm 0.05^*$

* Достоверные различия средних величин между 1-й и 2-й группами ($p < 0.05$).

* Differences of average values between the 1st and 2nd groups are significant ($p < 0.05$).

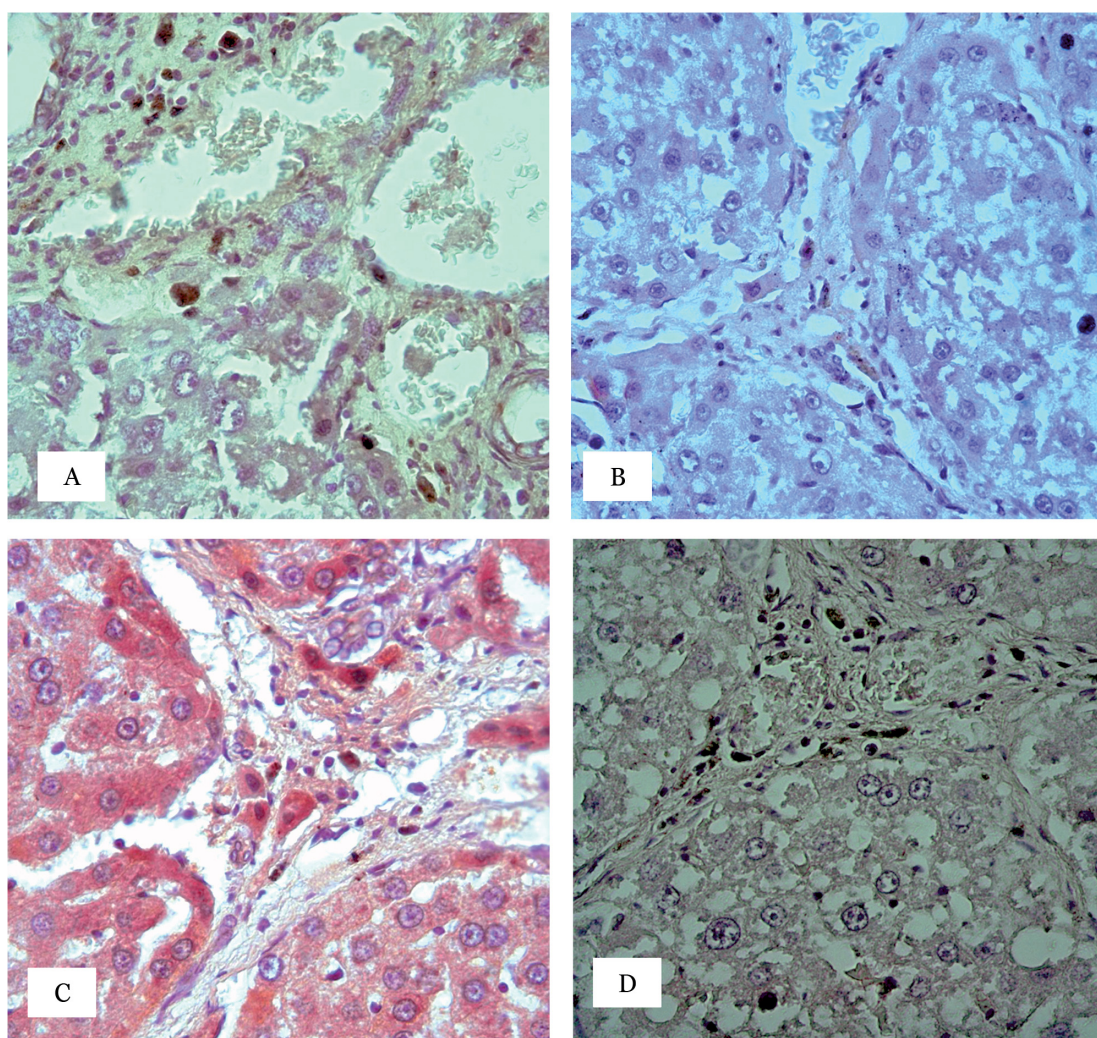


Рис. 1. Экспрессия исследуемых белков непаренхиматозными и паренхиматозными клетками печени крыс 1-й группы (гепатоз) на 60-е сутки эксперимента: А – виментина в гепатоцитах; В – Е-кадгерина в гепатоцитах и фибробластах; С – SNAIL + SLUG в фибробластах и гепатоцитах; D – TGF-β в фибробластах.

Докрашивание гематоксилином. Увеличение ×400

Fig. 1. Expression of the studied proteins by liver nonparenchymal and parenchymal cells of group 1 rats (hepatosis) on the 60th day of the experiment: A – vimentin in hepatocytes; B – E-cadherin in hepatocytes and fibroblasts; C – SNAIL + SLUG in fibroblasts and hepatocytes; D – TGF-β in fibroblasts. Counterstaining with hematoxylin. Magnification ×400

Таблица 2. Численная плотность (Nai) фибробластов, экспрессирующих маркеры эпителиально-мезенхимальной трансформации в печени крыс с посттоксическим гепатозом и в условиях коррекции окисленным декстраном ($M \pm m$)
Table 2. Numerical density (Nai) of fibroblasts expressing epithelial-mesenchymal transition markers in the liver of rats with post-toxic hepatosis and treated with oxidized dextran ($M \pm m$)

Показатель Marker	Период наблюдения (сут) Follow-up (day)	1-я группа 1st group	2-я группа 2nd group
Е-кадгерин E-cadherin	30	0.5 ± 0.17	0.2 ± 0.09
	60	1.2 ± 0.27	$0.2 \pm 0.06^*$
Виментин Vimentin	30	0.4 ± 0.14	$1.5 \pm 0.33^*$
	60	1.5 ± 0.37	1.3 ± 0.38
SNAIL + SLUG	30	0.6 ± 0.16	$0.1 \pm 0.08^*$
	60	0.7 ± 0.19	$0.1 \pm 0.07^*$

* Достоверные различия средних величин между 1-й и 2-й группами ($p < 0.05$).

* Differences of average values between the 1st and 2nd groups are significant ($p < 0.05$).

ющих SNAIL + SLUG, в сравнении с таковой у крыс, получавших ОД (2-я группа) (см. табл. 1, рис. 1, С).

Численная плотность фибробластов, экспрессирующих виментин, преобладала в печени крыс 2-й группы (гепатоз + ОД), в сравнении с таковой у животных 1-й группы (гепатоз) на 30-е сутки (табл. 2).

У животных 1-й (гепатоз) группы на 60-е сутки отмечали в 6 раз большую численную плотность фибробластов, экспрессирующих Е-кадгерин, в сравнении с таковой у крыс, получавших ОД (2-я группа) (см. табл. 2).

У животных 1-й (гепатоз) группы на 30-е и 60-е сутки отмечали в 6 и 7 раз большую численную плотность фибробластов, экспрессирующих SNAIL + SLUG, в сравнении с таковой у крыс, получавших ОД (2-я группа) (см. табл. 2).

Известно, что белки SNAIL + SLUG участвуют в нарушении сборки филаментов цитоскелета эпителиальных клеток, таким образом способствуя обретению клеткой мезенхимального или мезодермального иммунофенотипа [10]. Исследование численной плотности клеток, экспрессирующих SNAIL + SLUG, показало, что у крыс 1-й группы (гепатоз) величина исследуемого показателя с 30-х по 60-е сутки возросла на 35 %, тогда как у животных 2-й группы (гепатоз + ОД) численная плотность клеток, экспрессирующих SNAIL + SLUG, уменьшилось на 90 % в аналогичный период эксперимента. При этом численная плотность клеток, экспрессирующих SNAIL + SLUG, на 30-е и 60-е сутки в печени крыс 1-й группы (гепатоз) была на 53 и 97 % большей в сравнении с таковой в печени животных 2-й группы (гепатоз + ОД) (см. табл. 1, рис. 1, С).

to the acquisition by the cell of a mesenchymal or mesodermal immunophenotype [10]. A study of the numerical density of cells expressing SNAIL + SLUG showed that in rats of group 1 (hepatosis), the indicator increased by 35% from the 30th to the 60th day, whereas in animals of group 2 (hepatosis + OD), the numerical density of cells expressing SNAIL + SLUG decreased by 90% in the same time period. At the same time, the numerical density of cells expressing SNAIL + SLUG on the 30th and 60th days in the liver of group 1 rats (hepatosis) was 53 and 97% higher compared to that in the liver of group 2 animals (hepatosis + OD) (Table 1, Fig. 1, C).

In the liver of animals of the 2nd group (hepatosis + OD), a lower numerical density of cells expressing SNAIL + SLUG, in comparison with that of animals of the 1st group (hepatosis), was combined with a less pronounced (2.5 times – on the 30th day and 3.6 times – on the 60th day) expression of TGF- β (Table 3, Fig. 1, D).

DISCUSSION

The results obtained indicate the predominance of cells expressing vimentin in the liver of rats with post-toxic hepatosis (group 1), which is probably associated with the expression of SNAIL + SLUG and TGF- β and contributes to the mesenchymal transformation of liver cells and the progression of fibrosis with the formation of pseudo-lobules [11, 12]. At the same time, the OD has the ability to mediate less active production of TGF- β by liver cells, to prevent the formation of a mesenchymal trend in cell differentiation and the development of liver fibrosis and cirrhosis.

The result of the study demonstrates the involvement of EMT markers in the antifibrotic activity of OD, which is realized in a lower production of TGF- β

Таблица 3. Численная плотность (Nai) непаренхиматозных клеток печени крыс, экспрессирующих TGF- β , при посттоксическом гепатозе и в условиях коррекции окисленным декстраном ($M \pm m$)**Table 3.** Numerical density (Nai) of liver nonparenchymal cells of rats expressing TGF- β in post-toxic hepatitis and treated with oxidized dextran ($M \pm m$)

Показатель Indicator	Период наблюдения (сут) Follow-up (day)	1-я группа 1st group	2-я группа 2nd group
Клетки, экспрессирующие TGF- β Cells expressing TGF- β	30	3.8 ± 0.33	$1.5 \pm 0.22^*$
	60	6.5 ± 0.47	$1.8 \pm 0.18^*$

* Достоверные отличия при сравнении величин 1-й и 2-й группы ($p \leq 0.05$).Differences of average values between the 1st and 2nd groups are significant ($p < 0.05$).

В печени животных 2-й группы (гепатоз + ОД) меньшая численная плотность клеток, экспрессирующих SNAIL + SLUG, в сравнении с таковой у животных 1-й группы (гепатоз), сочеталась с менее выраженной (в 2.5 раза – на 30-е сутки и в 3.6 раза – на 60-е сутки эксперимента) экспрессией TGF- β (табл. 3, рис. 1, D).

ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные результаты указывают на преобладание клеток, экспрессирующих виментин, в печени крыс с посттоксическим гепатозом (1-я группа), что, вероятно, связано с экспрессией SNAIL + SLUG и TGF- β и способствует «мезенхимальной» трансформации клеток печени и прогрессированию фиброза с образованием ложных долек [11, 12]. Вместе с тем ОД обладает способностью опосредовать менее активную продукцию клетками печени TGF- β , препятствовать формированию «мезенхимальной» направленности дифференцировки клеток и развитию фиброза и цирроза печени.

Результат проведенного исследования демонстрирует участие маркеров ЭМТ в противофибротической эффективности ОД, которая реализуется в меньшей продукции TGF- β и его индукторов SNAIL + SLUG, что, вероятно, связано с лизосомотропностью и медленной деградацией ОД в вакуолярном аппарате макрофагов, участвующих в ответной реакции на повреждение печени при посттоксическом гепатозе и последующей репарации органа.

Очевидно, что при фиброзе и циррозе печени макрофаги печени имеют явные черты клеток типа M2 [12, 13]. При этом высокая экспрессия TGF- β в непаренхиматозных клетках печени сочеталась со снижением экспрессии E-кадгерина, увеличением экспрессии виментина, отражая проявления ЭМТ как в паренхиматозных, так и непаренхиматозных клетках печени [9]. Можно предположить, что применение ОД приводит к накоплению его в макрофагах, в том

и его индукторов SNAIL + SLUG, which is probably due to lysosomotropic activity and slow degradation of OD in the vacuolar apparatus of macrophages involved in the response to liver damage in post-toxic hepatitis and subsequent organ repair.

It is obvious that in liver fibrosis and cirrhosis, liver macrophages have distinct features of M2 cells [12, 13]. At the same time, the high expression of TGF- β in liver nonparenchymal cells was combined with a decrease in the expression of E-cadherin, an increase in the expression of vimentin, reflecting the manifestations of EMT in both liver parenchymal and nonparenchymal cells [9]. It can be assumed that the use of OD leads to its accumulation in macrophages, including in Kupffer cells, which prevents their expression of TGF- β and its inducers SNAIL + SLUG. In addition, the OD may interfere with the assembly of collagen from tropocollagen by forming strong bonds with aldehyde groups [8]. The decrease in fibroplastic complications in the liver may also be due to a decrease in the expression of TGF- β , SNAIL + SLUG, vimentin in fibroblasts.

CONCLUSION

The study conducted allows us to draw the following conclusions:

1. In post-toxic hepatitis, the expression of TGF- β , SNAIL + SLUG, and vimentin proteins increases in liver parenchymal and nonparenchymal cells, contributing to the acquisition of a mesenchymal immunophenotype by cells, which leads to an increased profibrotic activity and formation of liver cirrhosis.

2. The use of the OD in post-toxic hepatitis reduces the expression of vimentin, TGF- β and epithelial-mesenchymal transition-associated proteins in liver parenchymal and nonparenchymal cells, which decrease the severity of fibroplastic processes and prevents the liver cirrhosis development.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

числе в клетках Купфера, что препятствует экспрессии ими TGF- β и его индукторов SNAIL + SLUG. Кроме того, ОД, возможно, препятствует сборке коллагена из тропоколлагена путем образования прочных связей с альдегидными группами [8]. Снижение фибропластических осложнений в печени может быть также обусловлено уменьшением экспрессии TGF- β , SNAIL + SLUG, виментина в фибробластах.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное исследование позволяет сделать следующие выводы:

1. При посттоксическом гепатозе в паренхиматозных и непаренхиматозных клетках печени

возрастает экспрессия белков TGF- β , SNAIL + SLUG и виментина, способствуя обретению клетками мезенхимального иммунофенотипа, что приводит к усилению профибротических эффектов и формированию цирроза печени.

2. Применение ОД при посттоксическом гепатозе снижает экспрессию виментина, TGF- β и белков эпителиально-мезенхимальной транзиции в паренхиматозных и непаренхиматозных клетках печени, что уменьшает выраженность фибропластических процессов и препятствует формированию цирроза печени.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Nilsson E., Anderson H., Sargenti K. et al. Clinical course and mortality by etiology of liver cirrhosis in Sweden: a population based, long-term follow-up study of 1317 patients // *Aliment. Pharmacol. Ther.* 2019;49(11):1421-1430. DOI: 10.1111/apt.15255.
2. Ye F., Zhai M., Long J. et al. The burden of liver cirrhosis in mortality: Results from the global burden of disease study // *Front. Public Health.* 2022;10:1-13. DOI: 10.3389/fpubh.2022.909455.
3. Гарбузенко Д.В. Современные стратегии таргетной терапии фиброза печени // *Бюллетень сибирской медицины.* 2022;21(3):154-165. DOI: 10.20538/1682-0363-2022-3-154-165.
4. Zhang C., Yang M., Ericsson A.C. Function of macrophages in disease: current understanding on molecular mechanisms // *Front. Immunol.* 2021;12(620510):1-12. DOI: 10.3389/fimmu.2021.620510.
5. Дворяшина И.А., Великородная Ю.И., Терентьев А.В., Загребин В.Л. Эпителиально-мезенхимальный переход I типа как важный биологический процесс в эмбриогенезе // *Вестн. ВолгГМУ.* 2021;2(78):37-45. DOI: 10.19163/1994-9480-2021-2(78)-37-45.
6. Xu W., Wang N.R., Wang H.F. et al. Analysis of epithelial-mesenchymal transition markers in the histogenesis of hepatic progenitor cell in HBV-related liver diseases // *Diagn. Pathol.* 2016;11(1):136. DOI: 10.1186/s13000-016-0587-y.
7. Tennakoon A.H., Izawa T., Kuwamura M., Yamate J. Pathogenesis of type 2 epithelial to mesenchymal transition (EMT) in renal and hepatic fibrosis // *J. Clin. Med.* 2016;5(1):4. DOI: 10.3390/jcm5010004.
8. Карпов М.А., Ключин В.Д., Надеев А.П. и др. Структурные изменения в печени при посттоксическом циррозе и его лечении окисленным декстраном. Иммуногистохимическое исследование // *Бюл. эксперим. биологии и медицины.* 2022;174(9):392-395. DOI: 10.47056/0365-9615-2022-174-9-392-395.
9. Yang J., Antin P., Berx G. et al. Guidelines and definitions for research on epithelial-mesenchymal transition // *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* 2020;21(6):341-352. DOI: 10.1038/s41580-020-0237-9.

REFERENCES

1. Nilsson E., Anderson H., Sargenti K. et al. Clinical course and mortality by etiology of liver cirrhosis in Sweden: a population based, long-term follow-up study of 1317 patients. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 2019;49(11):1421-1430. DOI: 10.1111/apt.15255.
2. Ye F., Zhai M., Long J. et al. The burden of liver cirrhosis in mortality: Results from the global burden of disease study. *Front. Public Health.* 2022;10:1-13. DOI: 10.3389/fpubh.2022.909455.
3. Garbuzenko D.V. Current strategies for targeted therapy of liver fibrosis. *Bulletin of Siberian Medicine.* 2022;21(3):154-165. DOI: 10.20538/1682-0363-2022-3-154-165. (In Russ.)
4. Zhang C., Yang M., Ericsson A.C. Function of macrophages in disease: current understanding on molecular mechanisms. *Front. Immunol.* 2021;12(620510):1-12. DOI: 10.3389/fimmu.2021.620510.
5. Dvoryashina I.A., Velikorodnaya Yu.I., Terentev A.V., Zagrebina V.L. Type I epithelial-mesenchymal transition as an important biological process in embryogenesis. *Journal of Volgograd State Medical University.* 2021;2(78):37-45. DOI: 10.19163/1994-9480-2021-2(78)-37-45. (In Russ.)
6. Xu W., Wang N.R., Wang H.F. et al. Analysis of epithelial-mesenchymal transition markers in the histogenesis of hepatic progenitor cell in HBV-related liver diseases. *Diagn. Pathol.* 2016;11(1):136. DOI: 10.1186/s13000-016-0587-y.
7. Tennakoon A.H., Izawa T., Kuwamura M., Yamate J. Pathogenesis of type 2 epithelial to mesenchymal transition (EMT) in renal and hepatic fibrosis. *J. Clin. Med.* 2016;5(1):4. DOI: 10.3390/jcm5010004.
8. Karpov M.A., Klochin V.D., Nadeev A.P. et al. Structural changes in the liver in post-toxic cirrhosis and its treatment with oxidized dextran. Immunohistochemical research. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine.* 2022;174(9):392-395. DOI: 10.47056/0365-9615-2022-174-9-392-395. (In Russ.)
9. Yang J., Antin P., Berx G. et al. Guidelines and definitions for research on epithelial-mesenchymal transition. *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* 2020;21(6):341-352. DOI: 10.1038/s41580-020-0237-9.

10. Dongre A., Weinberg R.A. New insights into the mechanisms of epithelial-mesenchymal transition and implications for cancer // *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* 2019;20(2):69-84. DOI: 10.1038/s41580-018-0080-4.
11. Yu K., Li Q., Shi G., Li N. Involvement of epithelial-mesenchymal transition in liver fibrosis // *Saudi J. Gastroenterol.* 2018;24(1):5-11. DOI: 10.4103/sjg.SJG_297_17.
12. Chen S., Morine Y., Tokuda K. et al. Cancer associated fibroblast induced M2 polarized macrophages promote hepatocellular carcinoma progression via the plasminogen activator inhibitor 1 pathway // *Int. J. Oncol.* 2021;59(2):59. DOI: 10.3892/ijo.2021.5239.
13. Сарбаева Н.Н., Пономарева Ю.В., Милякова М.Н. Макрофаги: разнообразие фенотипов и функций, взаимодействие с чужеродными материалами // *Гены и клетки.* 2016;11(1):9-17.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Карпов Михаил Александрович – канд. мед. наук, доцент кафедры патологической анатомии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России; ведущий научный сотрудник НИИ экспериментальной и клинической медицины ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины», Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0002-8200-3998.

Надеев Александр Петрович – д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой патологической анатомии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России; ведущий научный сотрудник НИИ экспериментальной и клинической медицины ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины», Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0003-0400-1011.

Ключин Виталий Дмитриевич – научный сотрудник НИИ экспериментальной и клинической медицины ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины», Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0002-5418-1375.

Шкурूपий Вячеслав Алексеевич – д-р мед. наук, профессор, академик РАН, научный руководитель НИИ экспериментальной и клинической медицины ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины», Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0002-5078-4216.

Позднякова Светлана Васильевна – д-р биол. наук, профессор кафедры фармакологии, клинической фармакологии и доказательной медицины ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0003-2038-5131.

10. Dongre A., Weinberg R.A. New insights into the mechanisms of epithelial-mesenchymal transition and implications for cancer. *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* 2019;20(2):69-84. DOI: 10.1038/s41580-018-0080-4.
11. Yu K., Li Q., Shi G., Li N. Involvement of epithelial-mesenchymal transition in liver fibrosis. *Saudi J. Gastroenterol.* 2018;24(1):5-11. DOI: 10.4103/sjg.SJG_297_17.
12. Chen S., Morine Y., Tokuda K. et al. Cancer associated fibroblast induced M2 polarized macrophages promote hepatocellular carcinoma progression via the plasminogen activator inhibitor 1 pathway. *Int. J. Oncol.* 2021;59(2):59. DOI: 10.3892/ijo.2021.5239.
13. Sarbaeva N.N., Ponomareva J.V., Milyakova M.N. Macrophages: diversity of phenotypes and functions, interaction with foreign materials. *Genes and Cells.* 2016;11(1):9-17. (In Russ.)

ABOUT THE AUTHORS

Mikhail A. Karpov – Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Departments of Pathological Anatomy, Novosibirsk State Medical University; Leading Researcher, Research Institute of Experimental and Clinical Medicine, Federal Research Center for Fundamental and Translational Medicine, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0002-8200-3998.

Alexander P. Nadeev – Dr. Sci. (Med.), Professor, Head, Departments of Pathological Anatomy, Novosibirsk State Medical University; Leading Researcher, Research Institute of Experimental and Clinical Medicine, Federal Research Center for Fundamental and Translational Medicine, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0003-0400-1011.

Vitaly D. Klochin – Researcher, Research Institute of Experimental and Clinical Medicine, Federal Research Center for Fundamental and Translational Medicine, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0002-5418-1375.

Vyacheslav A. Shkurupiy – Dr. Sci. (Med.), Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, Academic Advisor, Research Institute of Experimental and Clinical Medicine, Federal Research Center for Fundamental and Translational Medicine, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0002-5078-4216.

Svetlana V. Pozdnyakova – Dr. Sci. (Bio.), Professor, Department of Pharmacology, Clinical Pharmacology and Evidence-Based Medicine, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0003-2038-5131.

К ранней диагностике Ку-лихорадки (обзор литературы)

А.Н. Вяжевич^{1, 2}, Е.И. Краснова¹, Н.И. Хохлова¹, В.В. Проворова¹, В.Г. Кузнецова¹,
Л.Л. Позднякова², Е.И. Бондаренко³, Я.С. Ульянова^{1, 2}, Колпакова Т.А.¹, Поддубная Л.В.¹

¹ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия

²ГБУЗ НСО «Городская инфекционная клиническая больница № 1», Новосибирск, Россия

³ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, р.п. Кольцово, Новосибирская область, Россия

АННОТАЦИЯ

В обзоре на основании данных литературы представлены современные сведения о широком спектре клинических проявлений Ку-лихорадки, а также о лабораторных методах диагностики заболевания. Ку-лихорадка является природно-очаговым заболеванием с многообразием путей передачи ее возбудителя – *Coxiella burnetii*. Основными переносчиками коксиелл являются иксодовые клещи, в антропоургических очагах их прокормителями являются домашние и сельскохозяйственные животные. Наличие очагов Ку-лихорадки в Новосибирской области установлено еще в 90-х годах прошлого века, однако лабораторная диагностика в течение двух последних десятилетий не проводилась. В связи с полиморфизмом клинической симптоматики болезнь не имеет патогномоничных признаков. Основными проявлениями острой Ку-лихорадки являются лихорадка, миалгии, пневмония. Подтверждение диагноза возможно только при выявлении генетических и серологических маркеров возбудителя *Coxiella burnetii*, что позволяет дифференцировать Ку-лихорадку от других инфекций и своевременно назначить необходимую терапию.

Ключевые слова: Ку-лихорадка, коксиеллез, эпидемиология, клиническая картина, диагностика.

Образец цитирования: Вяжевич А.Н., Краснова Е.И., Хохлова Н.И., Проворова В.В., Кузнецова В.Г., Позднякова Л.Л., Бондаренко Е.И., Ульянова Я.С., Колпакова Т.А., Поддубная Л.В. К ранней диагностике Ку-лихорадки (обзор литературы) // Journal of Siberian Medical Sciences. 2023;7(2):138-149. DOI: 10.31549/2542-1174-2023-7-2-138-149

Revisiting the early diagnosis of Q fever (literature review)

A.N. Vyazhevich^{1, 2}, E.I. Krasnova¹, N.I. Khokhlova¹, V.V. Provorova¹, V.G. Kuznetsova¹,
L.L. Pozdnyakova², E.I. Bondarenko³, Ya.S. Ulyanova^{1, 2}, Kolpakova T.A.¹, Poddubnaya L.V.¹

¹Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia

²City Infectious Disease Clinical Hospital No. 1, Novosibirsk, Russia

³State Research Center of Virology and Biotechnology VECTOR, Novosibirsk region, Koltsovo village, Russia

ABSTRACT

Based on literature data, the review presents current information on a wide range of clinical manifestations of Q fever, as well as on laboratory methods for diagnosing the disease. Q fever is a zoonotic disease with a variety of transmission routes of its pathogen – *Coxiella burnetii*. The main carriers of coxiellas are ixodid ticks; in anthropogenic foci their hosts are domestic and livestock animals. The Q fever foci in the Novosibirsk region were found back in the 90s of the last century, however, laboratory diagnostics was not performed over the past two decades. Due to the polymorphism of clinical symptoms, the

Поступила в редакцию 05.11.2022
Прошла рецензирование 09.11.2022
Принята к публикации 29.11.2022

Автор, ответственный за переписку
Кузнецова Вера Гавриловна: ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России. 630091, г. Новосибирск, Красный просп., 52.
E-mail: ver477@mail.ru

Received 05.11.2022
Revised 09.11.2022
Accepted 29.11.2022

Corresponding author
Vera G. Kuznetsova: Novosibirsk State Medical University, 52, Krasnyy prosp., Novosibirsk, 630091, Russia.
E-mail: ver477@mail.ru

disease has no pathognomonic signs. The main manifestations of acute Q fever are fever, myalgias, pneumonia. Confirmation of the diagnosis is possible only if genetic and serological markers of the causative agent *Coxiella burnetii* are identified, which makes it possible to differentiate Q fever from other infections and prescribe appropriate therapy in a timely manner.

Keywords: Q fever, coxiellosis, epidemiology, clinical picture, diagnosis.

Citation example: Vyazhevich A.N., Krasnova E.I., Khokhlova N.I., Provorova V.V., Kuznetsova V.G., Pozdnyakova L.L., Bondarenko E.I., Ulyanova Ya.S., Kolpakova T.A., Poddubnaya L.V. Revisiting the early diagnosis of Q fever (literature review). *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2023;7(2):138-149. DOI: 10.31549/2542-1174-2022-7-2-138-149

Ку-лихорадка – острая природно-очаговая зоонозная инфекционная болезнь с разнообразными механизмами передачи возбудителя, характеризующаяся развитием распространенного ретикулоэндотелиоза. Заболеванию свойственны лихорадка, интоксикация, поражение органов дыхания и других систем, в отдельных случаях – склонность к затяжному и хроническому течению [1, 2].

Возбудитель Ку-лихорадки – *Coxiella (C.) burnetii*. До 90-х годов прошлого века этот инфекционный агент относили к риккетсиям из-за трансмиссивной передачи возбудителя членистоногими и внутриклеточного размножения в органах-мишенях [3]. В настоящее время после расшифровки генома *C. burnetii* определяется как представитель класса *Gammaproteobacteria*, семейства *Coxiellaceae*, порядка *Legionellales* (II группа патогенности), в который входят легионеллы. Коксии обладают высокой инвазивностью, проникают через неповрежденные слизистые оболочки и микротравмы кожи. Они высоко вирулентны для человека, инфицирующая доза может составлять менее 10 клеток [2].

Первое в мире клиническое описание инфекции сделал в 1937 г. Э. Деррик, который сообщил о *C. burnetii* при расследовании вспышки фебрильных заболеваний среди рабочих скотобоен в Брисбене (Квинсленд, Австралия) и предложил название «Ку-лихорадка» [4]. Первый в США случай Ку-лихорадки выявлен у сотрудника института, культивировавшего инфекционный агент, выделенный Х.Р. Кохом у морских свинок, зараженных образцом клеща [5]. В 40-х годах XX в. описаны вспышки в Северной и Южной Америке [6] и Европе среди союзных войск во время Второй мировой войны [7]. Ку-лихорадка считалась острым заболеванием, вызывающим вспышки лихорадки и пневмонии.

В 50–70-е годы XX в. Ку-лихорадка описывалась и как хроническая персистирующая инфекция с длительной лихорадкой [8], подострым

Q fever is an acute zoonotic infectious disease with a variety of pathogen transmission mechanisms, characterized by the development of extensive reticulosis. The disease is characterized by fever, intoxication, the respiratory tract and other systems' lesions, and in some cases, a tendency to a protracted and chronic course [1, 2].

The causative agent of Q fever is *Coxiella (C.) burnetii*. Until the 90s of the last century, this infectious agent was referred to as *Rickettsia* due to the vector-borne transmission of the pathogen by arthropods and intracellular growth in target organs [3]. At present, after sequencing the genome of *C. burnetii*, it is defined as a representative of the *Gammaproteobacteria* class, *Coxiellaceae* family, *Legionellales* order (risk group 2), which includes legionellas. Coxiellas are highly invasive, penetrating through intact mucous membranes and microtraumas of the skin. They are highly virulent for humans, the infective dose can be less than 10 cells [2].

The world's first clinical description of the infection was given in 1937 by E. Derrick, who reported on *C. burnetii* while investigating an outbreak of febrile diseases among slaughterhouse workers in Brisbane (Queensland, Australia) and proposed the name “query fever,” or Q fever [4]. The first case of Q fever in the United States was in an employee of the institute which was involved in the cultivation of an infectious agent, isolated by H.R. Koch from guinea pigs infected with a tick [5]. In the 40s of the XX century, the outbreaks were described in North and South America [6], and Europe among allied forces during World War II [7]. Q fever was considered an acute illness that caused outbreaks of fever and pneumonia.

In the 50–70s of the XX century, Q fever has also been described as a chronic persistent infection with prolonged fever [8], subacute endocarditis with negative blood cultures and high titers of antibodies against *C. burnetii* phase I antigens, bacteria were isolated from the aortic valve of guinea pigs [9]. The presence of phase I antibodies in the absence of clin-

эндокардитом с отрицательным результатом посева крови и высоким уровнем антител к антигенам возбудителя Ку-лихорадки фазы I; бактерии выделены из образца аортального клапана морских свинок [9]. Наличие антител фазы I при отсутствии клинических признаков является признаком «персистирующей инфекции в прошлом» [10]. Группа Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) по риккетсиозам установила серологическое пороговое значение титров антител фазы I на уровне 1:200 для диагноза «эндокардит Ку-лихорадки» и его синонима «хроническая Ку-лихорадка».

По данным ВОЗ Ку-лихорадка выявляется повсеместно. В США ежегодно регистрируется около 200 случаев заболевания с тенденцией к постоянному увеличению их числа. Похожая ситуация отмечается в Болгарии, Франции и Германии. Во время вспышки в Нидерландах в 2007–2011 гг. число зарегистрированных случаев первичной Ку-лихорадки среди людей достигло 4108 [11].

В РФ Ку-лихорадка регистрируется с 1957 г. По данным Федерального центра гигиены и эпидемиологии в 1957–2019 годах верифицировано 13 836 случаев при показателе заболеваемости 0.1 на 100 тыс. населения, что говорит о спорадической ситуации. Данную инфекцию регистрируют более чем в 50 административных округах. В 2000–2019 годах Ку-лихорадка выявлялась преимущественно в Южном федеральном округе, прежде всего – в Астраханской области [8]. Наличие антропоургических очагов Ку-лихорадки в Новосибирской области установлено еще в 90-х годах прошлого столетия, но должного внимания ее лабораторной диагностике не уделялось [12].

Наиболее часто заражение людей происходит прямо или опосредованно от сельскохозяйственных животных. Ведущее значение имеют воздушно-пылевой путь передачи инфекции вследствие высокой устойчивости возбудителя во внешней среде и контактный, меньшее – алиментарный. Трансмиссивный путь передачи является редким [2].

МНОГООБРАЗИЕ КЛИНИЧЕСКИХ ПРОЯВЛЕНИЙ КУ-ЛИХОРАДКИ

Клиническая картина Ку-лихорадки зависит от вирулентности инфекционного штамма *C. burnetii* и факторов риска у инфицированного пациента. Болезнь протекает в острой форме в 40–60 % случаев либо бессимптомно [13]. С острой формой госпитализируют от 2 до 20 %

ical signs is an indication of past persistent infection [10]. The Consultation on the Laboratory Diagnosis of Rickettsial Diseases of the World Health Organization (WHO) has established a serologic cut-off for phase I antibodies titers at 1:200 for the diagnosis of Q fever endocarditis and its synonym, chronic Q fever.

According to WHO, Q fever is detected everywhere. In the United States, about 200 cases of the disease are registered annually with a tendency to a constant increase in their number. A similar situation is observed in Bulgaria, France and Germany. During the outbreak in 2007–2011 in the Netherlands, the number of reported cases of primary Q fever among humans has reached 4108 [11].

Q fever has been registered in the Russian Federation since 1957. According to the Federal Hygiene and Epidemiology Center, 13 836 cases were verified in 1957–2019 with an incidence rate of 0.1 per 100 000 population, which indicates a sporadic situation. This infection is registered in more than 50 administrative districts. In 2000–2019, Q fever was detected mainly in the Southern Federal District, primarily in the Astrakhan region [8]. The anthropogenic foci of Q fever in the Novosibirsk region were revealed as early as the 90s of the last century, but due attention was not paid to its laboratory diagnostics [12].

Most often, the infection of humans occurs directly or indirectly from livestock animals. The leading role is played by air-dust transmission due to the high resistance of the pathogen in the external environment, as well as percutaneous transmission, less one – alimentary transmission. Vector-borne transmission is rare [2].

VARIETY OF CLINICAL MANIFESTATIONS OF Q FEVER

The clinical picture of Q fever depends on the virulence of a *C. burnetii* strain and the risk factors of an infected patient. The disease proceeds in an acute form in 40–60% of cases or is asymptomatic [13]. With an acute form, from 2 to 20% of patients are hospitalized [14]. In 0.5–10% of immunocompromised individuals, a chronic form develops, often bypassing the acute stage of the disease, in the form of endocarditis with the lesions of the heart valves [15].

The latency period lasts from 2 to 60 days, averaging 19–21 days [16]. The most common acute form of infection occurs in the form of a flu-like syndrome: it begins acutely, with the fever rising up to 39–40°C, with chills, diffuse headache, dry cough, weakness, low appetite and sleep disturbances.

заболевших [14]. У 0.5–10 % иммунокомпрометированных лиц развивается хроническая форма, нередко минуя острую стадию болезни, в виде эндокардита с поражением клапанов сердца [15].

Инкубационный период длится от 2 до 60 сут, в среднем – 19–21 сут [16]. Наиболее часто острая форма инфекции протекает в виде гриппоподобного синдрома: начинается остро, с подъема температуры тела до 39–40 °С, с ознобом, диффузной головной болью, сухим кашлем, слабостью, снижением аппетита и нарушением сна. Пациенты жалуются на миалгии, боль в суставах и глазных яблоках. Отмечают также головокружение, тошноту, рвоту, носовые кровотечения. Ведущие симптомы – лихорадка, головная боль, миалгия. Реже болезнь развивается медленно с ощущением дискомфорта, легкого недомогания; появляются потливость, слабость, головная боль, температура повышается до 37.5–38.5 °С. В отсутствии лечения лихорадка длится 8–14 сут, у трети пациентов – 3–7 сут, может сохраняться до 3 нед, носит ремиттирующий характер. Снижение температуры тела проходит по типу ускоренного лизиса в течение 2–4 сут, реже критически.

В последующие дни болезни к неспецифическим симптомам присоединяются признаки поражения различных органов, в частности, в 8–32 % случаев – пневмония [17]. Пациенты жалуются на боль и чувство стеснения в груди, кашель, чаще сухой, иногда одышку. Объективно отмечается притупление перкуторного звука, при аускультации – жесткое дыхание, сухие или влажные хрипы. Рентгенологическая картина в легких варьирует и не имеет каких-либо особенностей, позволяющих установить ее коксиеллезное происхождение и отличить от поражения легких другой этиологии, что позволяет относить такое поражение легких к атипичной пневмонии [14]. Снижается прозрачность альвеол, усиливается прикорневой бронхиальный рисунок, появляются затемнения в виде отдельных очагов округлой формы с нерезкими контурами различной плотности. Возможен сухой и экссудативный плеврит. Полное рентгенологическое разрешение процесса часто наступает лишь через 6 мес после начала болезни. Как правило, пневмония чаще возникает у пожилых людей при наличии у них иммунодефицита и сопутствующих заболеваний [18].

Прогноз при пневмонии, вызванной *C. burnetii*, обычно благоприятный, с исчезновением симптомов в течение 30 дней. В качестве осложнения в 1 % случаев, что установлено во время

Patients complain of myalgias, pain in joints and eyeballs. Dizziness, nausea, less often – vomiting, nosebleed are also noted. Leading symptoms are fever, headache, myalgia. Less commonly, the disease develops slowly with a general feeling of malaise, being unwell; sweating, weakness, headache appear, body temperature is going up to 37.5–38.5 °C. In the absence of treatment, fever lasts 8–14 days, in a third of patients it lasts for 3–7 days, persisting for up to 3 weeks, and has remitting character. A decrease in body temperature proceeds by the type of accelerated lysis within 2–4 days, less often the defervescence occurs by crisis.

In the following days of illness, nonspecific symptoms are accompanied by signs of damage to various organs, in particular, pneumonia in 8–32% of cases [17]. Patients complain of pain and tightness in the chest, cough, often dry, sometimes shortness of breath. Objectively, dullness of percussion sound is noted, lung auscultation reveals harsh breathing, dry or fine moist rales. The X-ray picture of the lungs varies and does not have any features that make it possible to establish its relation to *Coxiella* and distinguish it from lung damage of another origin, which makes it possible to attribute such lung damage to atypical pneumonia [14]. The X-ray translucency of the alveoli decreases, the accentuated hilar bronchovascular pattern is observed, haziness appears in the form of solitary foci of a rounded shape with blurred contours, and of various density. Dry and exudative pleurisy is possible. Complete radiological resolution of the process often occurs only 6 months following the onset of the disease. As a rule, pneumonia develops more often in older people with immunodeficiency and concomitant diseases [18].

The prognosis for *C. burnetii* pneumonia is usually favorable, with disappearing of symptoms within 30 days. As a complication, in 1% of cases, which was revealed during an outbreak in the Netherlands, the respiratory distress syndrome may develop [19]. Fatal outcome was more common in patients with comorbidities.

Often, patients have hepato- and splenomegaly. Hepatitis is also characteristic of acute Q fever. It is more common than pneumonia in endemic countries, such as Spain [20], Taiwan [21], etc. Cytolysis is accompanied by fever, chills and headache, anorexia, vomiting, sometimes diarrhea and pain on palpation of the liver. Jaundice in severe hepatitis in Taiwan occurred in 37% of cases. Patients with jaundice experienced a longer duration of fever after initiation of antibiotic therapy compared with patients without jaundice. Liver biopsy reveals granuloma-

вспышки инфекции в Нидерландах, может развиться респираторный дистресс-синдром [19]. Летальный исход чаще отмечался у пациентов с сопутствующими заболеваниями.

Нередко у больных наблюдается гепато- и спленомегалия. Гепатит также характерен для острой Ку-лихорадки. Он чаще, чем пневмония, встречается в эндемичных странах, таких как Испания [20], Тайвань [21] и др. Синдром цитолиза сопровождается лихорадкой, ознобом и головной болью, анорексией, рвотой, иногда диареей и болью при пальпации печени. Желтуха при тяжелом гепатите на Тайване встречалась в 37 % случаев. У пациентов с желтухой наблюдалась более длительная лихорадка после начала антибактериальной терапии, по сравнению с пациентами без желтухи. При биопсии печени обнаруживают гранулематозный гепатит и острый холангит без гранулемы [22]. Прогноз при остром гепатите, вызванном *C. burnetii*, благоприятный, смертельные случаи из-за печеночной недостаточности редки.

Острый перикардит встречается в 1 % случаев Ку-лихорадки [23]. Тяжесть случаев перикардита различна, возможна опасная для жизни тампонада. Острый миокардит представляет собой редкую форму первичной инфекции [24], составляет от 0.5 до 1 % всех случаев Ку-лихорадки. Летальный исход отмечен у 7 из 23 больных (30 %), что свидетельствует о неблагоприятном прогнозе коксиеллезного миокардита [25]. Острая Ку-лихорадка должна учитываться при диагностике острого миокардита, поскольку антибактериальная терапия может значительно улучшить прогноз при данной потенциально фатальной локализации.

Эндокардит, вызванный *C. burnetii*, до сих пор считается проявлением хронической Ку-лихорадки, которая возникает в 2–10 % случаев после острой стадии [26]. В 60–70 % случаев коксиеллезный эндокардит затрагивал аортальный или митральный клапаны, иногда оба, с развитием соответствующих симптомов и сердечной недостаточности. Имеются сообщения о случаях эндокардита у 9 пациентов, у которых вегетации локализовались на аортальном клапане. Помимо симптомов эндокардита, у них отмечены лихорадка, пневмония или гепатит. В катамнезе один пациент умер спустя 15 мес после успешного лечения первичной Ку-лихорадки от инфаркта брыжейки, у 6 развился персистирующий эндокардит, вызванный *C. burnetii*. Предикторами Ку-лихорадки с поражением клапанов сердца у данных больных оказались иммуносупрессия и

tous hepatitis and acute cholangitis without granuloma [22]. The prognosis in acute *C. burnetii* hepatitis is favorable, and deaths due to liver failure are rare.

Acute pericarditis occurs in 1% of cases of Q fever [23]. The severity of cases of pericarditis varies, and life-threatening tamponade is possible. Acute myocarditis is a rare form of primary infection [24], accounting for 0.5 to 1% of all cases of Q fever. Fatal outcome was noted in 7 out of 23 patients (30%), which indicates an unfavorable prognosis of myocarditis caused by *Coxiella* [25]. Acute Q fever should be considered in the diagnosis of acute myocarditis, as antibiotic therapy can significantly improve the prognosis for this potentially fatal localization.

Endocarditis caused by *C. burnetii* is still considered a manifestation of chronic Q fever, which occurs in 2–10% of cases after the acute stage [26]. In 60–70% of cases, *C. burnetii* endocarditis affected the aortic or mitral valves, sometimes both, with the development of corresponding symptoms and heart failure. There are reports of cases of endocarditis in 9 patients with aortic valve vegetations. In addition to symptoms of endocarditis, they had fever, pneumonia or hepatitis. During the follow-up, one patient died 15 months after successful treatment of primary Q fever from mesenteric infarction, and in 6 patients the persistent endocarditis caused by *C. burnetii* developed. Immunosuppression and high IgG aCL levels (>100 IgG phospholipid units) were Q fever predictors with lesions of the heart valves in these patients. The pathophysiological mechanisms of this process are that the primary *C. burnetii* infection causes an increased production of autoantibodies, including IgG aCL, which leads to autoimmune damage to the heart valves [27]. The prognosis for *C. burnetii* endocarditis has improved significantly due to earlier diagnosis and appropriate antibiotic combination therapy.

Neurological involvement in acute Q fever is observed alone or in combination with other organs affection. Meningoencephalitis (1%) is a severe and sometimes the only manifestation of the disease followed by meningitis (0.8%) and peripheral myelitis [28]. The treatment included fluoroquinolones that cross the blood-brain barrier. Post-infectious neurological symptoms associated with immune disorders, such as peripheral sensory neuropathy, or Guillain-Barré syndrome [29], have been described, for which corticosteroid treatment is effective.

Skin lesions are rare clinical manifestations in patients with acute Q fever. The incidence of exanthema has been reported from 1% in the Netherlands [19] to 9% in Israel [30]. Rash is mainly represented

высокие уровни IgG aCL (>100 фосфолипидных единиц IgG). Патофизиологические механизмы данного процесса заключаются в том, что первичная инфекция *C. burnetii* вызывает резко выраженную секрецию аутоантител, включая IgG aCL, что приводит к аутоиммунным поражениям клапанов сердца [27]. Прогноз эндокардита, вызванного *C. burnetii*, значительно улучшился благодаря более ранней диагностике и соответствующей комбинированной терапии антибиотиками.

Неврологические поражения при острой Ку-лихорадке наблюдаются отдельно или в сочетании с поражением других органов. Менингоэнцефалит (1 %) является тяжелым и иногда единственным проявлением заболевания, за которым по частоте следуют серозный менингит (0.8 %) и периферический миелит [28]. В лечении используются фторхинолоны, проникающие через гематоэнцефалический барьер. Описаны постинфекционные неврологические симптомы, связанные с иммунными нарушениями, такие как периферическая сенсорная невропатия, или синдром Гийена-Барре [29], при котором эффективно лечение кортикостероидами.

Поражение кожи относится к редким клиническим проявлениям у пациентов с острой Ку-лихорадкой. Сообщалось о частоте появления экзантемы от 1 % в Нидерландах [19] до 9 % в Израиле [30]. Сыпь в основном представлена макуло-папулезными или везикулезными элементами, а иногда и пурпурой [31]. Имеются сообщения о случаях узловатой эритемы [32].

Описаны единичные случаи острой Ку-лихорадки с поражением шейных, подмышечных, медиастинальных, брюшных или паховых лимфатических узлов, ассоциированным с лихорадкой, головной болью, пневмонией или гепатитом. У одного пациента с острым лимфаденитом впоследствии диагностирована лимфома [33].

Биологические маркеры антигенной мимикрии часто присутствуют при Ку-лихорадке. Антитела против гладких мышц, антинейтрофильные цитоплазматические антитела (ANCA), а также антинуклеарные и антифосфолипидные антитела обнаружены во время острой фазы болезни [34]. M. Lefebvre et al. [35] сообщили о серии из семи случаев инфекции *C. burnetii*, которые при начальных проявлениях можно было спутать с синдромом Гудпасчера, болезнью Крона, болезнью Стилла, ревматической полимиалгией, узелковым полиартериитом, эссенци-

by maculopapular or vesicular elements, and sometimes purpura [31]. There are reports about cases of erythema nodosum [32].

Some cases of acute Q fever with involvement of the cervical, axillary, mediastinal, abdominal or inguinal lymph nodes associated with fever, headache, pneumonia, or hepatitis have been described. One patient with acute lymphadenitis was subsequently diagnosed with lymphoma [33].

Biological markers of antigenic mimicry are often present in Q fever. Anti-smooth muscle antibodies, antineutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA), as well as antinuclear and antiphospholipid antibodies have been revealed during the acute phase of the disease [34]. M. Lefebvre et al. [35] reported a series of seven cases of *C. burnetii* infection, the initial presentation of which could be confused with Goodpasture's syndrome, Crohn's disease, Still's disease, polymyalgia rheumatica, polyarteritis nodosa, essential type II cryoglobulinemia, and giant cell arteritis. The literature presents data on cases of Q fever both mimicking exacerbations of systemic lupus erythematosus, and complicated by thrombophlebitis with positive antiphospholipid antibodies in blood tests [27, 36].

The most common sequela of the acute stage of coxiellosis is post-infectious fatigue which is manifested by increased tiredness, sleep disturbances, headache, hyperesthesia, irritability, excessive sweating, dizziness, persisting from 1 to 6–12 months, less often up to 2 years [13].

Thus, Q fever is not characterized by a typical form of the disease that distinguishes it from other disorders, and there are no pathognomonic signs. It has a wide range of clinical manifestations, which is characteristic of many infectious diseases of various etiologies.

DIAGNOSTICS OF Q FEVER

Due to the polymorphism, the clinical diagnosis of Q fever is difficult and is possible only in endemic foci when there is unfavorable epidemiological situation. Differential diagnosis is carried out with influenza, typhus and typhoid fever, brucellosis, ornithosis, anicteric leptospirosis, sepsis, pneumonia of various etiologies. According to the guidelines, the diagnosis of Q fever can be confirmed by any of the following methods: serological, molecular genetic, microbiological [37].

The main methods for diagnosis of coxiellosis are the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and polymerase chain reaction (PCR). There are few laboratories able to confirm the disease serologically. Most often, seroconversion

альной криоглобулинемией II типа и гигантоклеточным артериитом. В литературе представлены данные о случаях Ку-лихорадки, имитирующих обострения системной красной волчанки, об осложненных тромбофлебитом формах с положительными антифосфолипидными антителами в анализах крови [27, 36].

Наиболее частым последствием острой стадии коксиеллеза является постинфекционная астения. Ее симптомы проявляются повышенной утомляемостью, нарушением сна, головной болью, гиперестезией, раздражительностью, повышенной потливостью, головокружением, сохраняются от 1 до 6–12 мес, реже до 2 лет [13].

Таким образом, для Ку-лихорадки не характерна типичная, отличающая ее от других, форма заболевания, отсутствуют патогномические признаки. Ей присущ широкий спектр клинических проявлений, который характерен для многих инфекционных болезней разной этиологии.

ДИАГНОСТИКА КУ-ЛИХОРАДКИ

В связи с полиморфизмом симптомов клиническая диагностика Ку-лихорадки затруднительна и возможна только в эндемичных очагах при наличии эпидемического неблагополучия. Дифференциальную диагностику проводят с гриппом, сыпным и брюшным тифом, бруцеллезом, орнитозом, безжелтушным лептоспирозом, сепсисом, пневмонией различной этиологии. Согласно нормативной документации, подтвердить диагноз Ку-лихорадки можно любым из существующих методов: серологическим, молекулярно-генетическим, микробиологическим [37].

Основными методами специфической диагностики коксиеллеза являются иммуноферментный анализ (ИФА) и полимеразная цепная реакция (ПЦР). Лаборатории, способные серологически подтвердить болезнь, немногочисленны. Чаще всего сероконверсия происходит к 7–15-м суткам после заражения. Реакция агглютинации (РА) использовалась в первые 30–40 лет после открытия коксиеллеза как нового заболевания, затем РА в сочетании с реакцией связывания комплемента (РСК). С 80-х годов XX в. появился более чувствительный метод иммунофлуоресценции (метод флуоресцирующих антител – МФА) в непрямом варианте (НМФА), иммуноферментный анализ (ИФА, ELISA) [13]. В зависимости от того, к антигенам какой фазы (I или II) определяются в ИФА антитела, делаются выводы относительно острой или хрониче-

occurs by the 7–15th day after infection. The agglutination test (AT) was used in the first 30–40 years after the discovery of coxiellosis as a new disease, then the AT was used in combination with the complement fixation test (CFT). In the 80s of the XX century, a more sensitive indirect immunofluorescence assay (fluorescent antibody test, FAT) appeared in its indirect version (indirect FAT), and enzyme immunoassay (EIA, ELISA) [13] came into use. Depending on the fact, to antigens of which phase (I or II) the antibodies are determined using ELISA, conclusions are drawn regarding the acute or chronic form of the disease. Acute Q fever is characterized by an increased IgG antibodies against phase II antigens of *C. burnetii* at a titer of 1:100 to 1:800. IgM have less diagnostic value in both acute (at a titer of 1:25–1:50) and chronic Q fever, since they have low specificity. If IgG antibodies against phase I antigens appear at a titer of 1:800–1:1600 and IgA antibodies against phase I antigens at a titer of 1:50, they are considered as evidence of chronicity. The IgG antibodies level at a titer of 1:50 is a sign of past *C. burnetii* infection, 6 months – 5 years before testing. As for the enzyme immunoassay (EIA), the IgM antibodies at a titer of 1:400 and IgG antibodies at a titer 1:200 are taken as the minimum cut-off levels for antibodies in human blood serum [38]. Due to the similarity of the antigenic structure of *C. burnetii* with bacteria of the genera *Legionella* and *Bartonella* in serodiagnosis, nonspecific serological cross-reactions are possible, while PCR allows to promptly perform a test with a high level of reliability of the results to identify the pathogen in various bioassays.

Amplification methods are aimed at the detection of *C. burnetii* DNA; genes encoding various bacterial proteins and promoters (non-transcribed regions) are used as targets, regardless of viability of the pathogen. The most widely used methods are PCR and real-time PCR (RT-PCR). Detection of *C. burnetii* is carried out by using various biological specimens from heart valves, vascular aneurysm, liver, breast milk, placenta, fetal tissues and amniotic fluid, blood; and for sanitary and hygienic control – specimens of food, water, etc. [12].

The RT-PCR method has the advantages of simultaneous detection and quantitative assessment of the pathogen in a sample, as well as higher sensitivity and specificity, and a short period of obtaining the result. Currently, for various scientific and practical tasks related to the detection of *C. burnetii* by using RT-PCR, various genes are used as targets for primers, while the *IS1111* transposase gene remains the most frequently used diagnostic target [12, 38].

ской формы заболевания. Для острой формы Ку-лихорадки характерно повышенное содержание IgG к антигенам II фазы в титре от 1:100 до 1:800. IgM имеют меньшее диагностическое значение как при острой (в титре 1:25 – 1:50), так и при хронической форме заболевания, поскольку обладают низкой специфичностью. Если появляются антитела IgG к антигенам I фазы в титрах 1:800 – 1:1600 и антитела IgA к антигенам фазы I в титре 1:50, их расценивают как свидетельство хронизации. Уровень IgG-антител в титре 1:50 является признаком «встречи» с возбудителем в прошлом, за 6 мес – 5 лет до момента исследования. В ИФА за минимальный диагностический уровень антител в сыворотке крови человека принят титр 1:400 IgM и 1:200 IgG-антител [38]. Из-за схожести антигенной структуры *C. burnetii* с бактериями родов *Legionella* и *Bartonella* при серологических исследованиях возможны неспецифические перекрестные реакции, тогда как метод ПЦР позволяет оперативно провести исследование с высоким уровнем достоверности результатов по выявлению возбудителя в различных биопробах.

Амплификационные методы направлены на детекцию ДНК *C. burnetii*, в качестве мишеней используются гены, кодирующие различные бактериальные белки и промоторы (нетранскрибируемые регионы) вне зависимости от жизнеспособности возбудителя. Наиболее широко применяются методы ПЦР и ПЦР в реальном времени (ПЦР-РВ). Детекция *C. burnetii* осуществляется в различных биологических образцах: материале из сердечных клапанов, сосудистой аневризмы, биоптате печени, молоке, плаценте, тканях плода и плодной жидкости, крови и для санитарно-гигиенического контроля – в образцах продуктов питания, пробах воды и др. [12].

Метод ПЦР-РВ обладает преимуществами одновременной детекции и количественной оценки возбудителя в образце, а также более высокой чувствительностью и специфичностью, коротким периодом получения результата исследования. В настоящее время для различных научных и практических задач, связанных с определением *C. burnetii* в материале с помощью ПЦР-РВ, в качестве мишени для праймеров используются различные гены, при этом ген

Since the 2000s, the Q fever laboratory diagnostics has not been performed in the Novosibirsk region for 18 years due to the lack of diagnostic kits. Thanks to the use of a comprehensive approach with the use of RT-PCR and EIA in the detection of clinical samples obtained from 9 patients with fever and suspected tick-borne infections, Bondarenko et al. in 2018 managed to confirm the diagnosis of Q fever, and also, taking into account the vector-borne route of transmission, to suggest, in addition to anthropogenic, the presence of natural foci of coxiellosis in the Novosibirsk region [12]. Further research in this direction is necessary to differentiate Q fever from other infections and timely adequate therapy, which will avoid chronic disease and disability of patients.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

транспозазы *IS1111* неизменно остается наиболее часто используемой диагностической мишенью [12, 38].

Начиная с 2000-х годов в Новосибирской области на протяжении 18 лет диагностика Ку-лихорадки не проводилась из-за отсутствия диагностикумов. Благодаря использованию комплексного подхода с применением ПЦР-РВ и ИФА в анализе клинических образцов, полученных от 9 больных с лихорадкой и подозрением на клещевые инфекции, Е.И. Бондаренко и соавт. в 2018 г. удалось подтвердить диагноз Ку-лихорадки, а также с учетом трансмиссивного пути передачи предположить, помимо антропоургических, наличие природных очагов коксиеллеза в Новосибирской области [12]. Проведение дальнейших исследований в данном направлении необходимо для дифференциации Ку-лихорадки от других инфекций и своевременной адекватной терапии, что позволит избежать хронизации болезни и инвалидизации пациентов.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Eldin C., Mélenotte C., Mediannikov O. et al. From Q fever to *Coxiella burnetii* infection: a paradigm change // Clin. Microbiol. Rev. 2017;30(1):115-190. DOI: 10.1128/CMR.00045-16.

REFERENCES

1. Eldin C., Mélenotte C., Mediannikov O. et al. From Q fever to *Coxiella burnetii* infection: a paradigm change. Clin. Microbiol. Rev. 2017;30(1):115-190. DOI: 10.1128/CMR.00045-16.

2. Инфекционные болезни: национальное руководство / под ред. Н.Д. Ющука, Ю.Я. Венгерова. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2019. 1104 с. (Серия: Национальные руководства).
3. Рудаков Н.В., Шпынов С.Н., Самойленко И.Е., Решетникова Т.А., Кумпан Л.В. Учение о риккетсиях и риккетсиозах // Бюл. СО РАМН. 2011;31(4):86-92.
4. Derrick E.H. "Q" fever, a new fever entity: clinical features, diagnosis and laboratory investigation // *Rev. Infect. Dis.* 1983;5(4):790-800. DOI: 10.1093/ci-nids/5.4.790.
5. Davis G.E., Cox H.R. A filter-passing infectious agent isolated from ticks // *Public Health Reports* (1896-1970). 1938;53(52):2259-2282. DOI: 10.2307/4582746.
6. Beck M.D., Bell J.A. Q fever studies in Southern California; an epidemiological study of 300 cases // *Public Health Reports* (1896-1970). 1949;64(2):41-56. DOI: 10.2307/4586820.
7. Robbins F.C., Ragan C.A. Q fever in the Mediterranean area; report of its occurrence in Allied troops; clinical features of the disease // *Am. J. Hyg.* 1946;44:6-22. DOI: 10.1093/oxfordjournals.aje.a119084.
8. Лобан К.М., Лобзин Ю.В., Лукин Е.П. Риккетсиозы человека (руководство для врачей). М.; СПб., 2002. 480 с.
9. Andrews P.S., Marmion B.P. Chronic Q fever. 2. Morbid anatomical and bacteriological findings in a patient with endocarditis // *Br. Med. J.* 1959;2(5158):983-988. DOI: 10.1136/bmj.2.5158.983.
10. Powell O.W., Stallman N.D. The incidence and significance of phase 1 complement-fixing antibody in Q fever // *J. Hyg. (Lond.)* 1962;60(3):359-364. DOI: 10.1017/S0022172400020477.
11. van Loenhout J.A., Paget W.J., Vercoulen J.H. et al. Assessing the long-term health impact of Q-fever in the Netherlands: a prospective cohort study started in 2007 on the largest documented Q-fever outbreak to date // *BMC Infect. Dis.* 2012;12:280. DOI: 10.1186/1471-2334-12-280.
12. Бондаренко Е.И., Филимонова Е.С., Краснова Е.И. и др. Случаи заболевания Ку-лихорадкой, выявленные у жителей Новосибирской области, госпитализированных с подозрением на инфекции, передаваемые клещами // *Клин. лабораторная диагностика.* 2021;66(4):229-236. DOI: 10.51620/0869-2084-2021-66-4-229-236.
13. Лукин Е.П., Мищенко О.А., Борисевич С.В. Лихорадка Ку в XXI в.: материал для подготовки лекции // *Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение.* 2019;8(4):62-77. DOI: 10.24411/2305-3496-2019-14009.
14. Пономаренко Д.Г., Логвиненко О.В., Ракитина Е.Л. и др. Особенности серопревалентности к *Coxiella burnetii* у больных бруцеллезом, проживающих на энзоотической территории // *Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение.* 2021;10(3):83-91. DOI: 10.33029/2305-3496-2021-10-3-83-91.
15. Лубова В.А., Леонова Г.Н. Ку-лихорадка – природно-очаговый зооноз // *Эпидемиология и вакцинопрофилактика.* 2020;19(4):97-101. DOI: 10.31631/2073-3046-2020-19-4-97-101.
16. Карпенко С.Ф., Галимзянов Х.М., Кантемирова Б.И. Особенности клинических проявлений кок-
2. Yushchuk N.D., Vengerova Yu.Ya. (2019). *Infectious Diseases: National Guidelines*. Moscow: GEOTAR-Media, 1104 p. (Series: National Guidelines). (In Russ.)
3. Rudakov N.V., Shpynov S.N., Samoilenko I.E., Reshetnikova T.A., Kumpan L.V. The theory of rickettsiae and rickettsioses. *Bulletin of Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences.* 2011;31(4):86-92. (In Russ.)
4. Derrick E.H. "Q" fever, a new fever entity: clinical features, diagnosis and laboratory investigation. *Rev. Infect. Dis.* 1983;5(4):790-800. DOI: 10.1093/ci-nids/5.4.790.
5. Davis G.E., Cox H.R. A filter-passing infectious agent isolated from ticks. *Public Health Reports* (1896-1970). 1938;53(52):2259-2282. DOI: 10.2307/4582746.
6. Beck M.D., Bell J.A. Q fever studies in Southern California; an epidemiological study of 300 cases. *Public Health Reports* (1896-1970). 1949;64(2):41-56. DOI: 10.2307/4586820.
7. Robbins F.C., Ragan C.A. Q fever in the Mediterranean area; report of its occurrence in Allied troops; clinical features of the disease. *Am. J. Hyg.* 1946;44:6-22. DOI: 10.1093/oxfordjournals.aje.a119084.
8. Loban K.M., Lobzin Yu.V., Lukin E.P. (2002). *Human Rickettsiosis (Guide for Physicians)*. Moscow; St. Petersburg. 480 p. (In Russ.)
9. Andrews P.S., Marmion B.P. Chronic Q fever. 2. Morbid anatomical and bacteriological findings in a patient with endocarditis. *Br. Med. J.* 1959;2(5158):983-988. DOI: 10.1136/bmj.2.5158.983.
10. Powell O.W., Stallman N.D. The incidence and significance of phase 1 complement-fixing antibody in Q fever. *J. Hyg. (Lond.)* 1962;60(3):359-364. DOI: 10.1017/S0022172400020477.
11. van Loenhout J.A., Paget W.J., Vercoulen J.H. et al. Assessing the long-term health impact of Q-fever in the Netherlands: a prospective cohort study started in 2007 on the largest documented Q-fever outbreak to date. *BMC Infect. Dis.* 2012;12:280. DOI: 10.1186/1471-2334-12-280.
12. Bondarenko E.I., Filimonova E.S., Krasnova E.I. et al. Cases of Q fever detected in residents of the Novosibirsk region hospitalized with suspicion of infections transmitted by ticks. *Russian Clinical Laboratory Diagnostics.* 2021;66(4):229-236. DOI: 10.51620/0869-2084-2021-66-4-229-236. (In Russ.)
13. Lukin E.P., Mishchenko O.A., Borisevich S.V. Q fever: XXI century (lecture material). *Infectious Diseases: News, Opinions, Training.* 2019;8(4):62-77. DOI: 10.24411/2305-3496-2019-14009. (In Russ.)
14. Ponomarenko D.G., Logvinenko O.V., Rakitina E.L. et al. Features of seroprevalence to *Coxiella burnetii* in patients with brucellosis living in an enzootic territory. *Infectious Diseases: News, Opinions, Training.* 2021;10(3):83-91. DOI: 10.33029/2305-3496-2021-10-3-83-91.
15. Lubova V.A., Leonova G.N. Q-fever – natural focal zoonosis. *Epidemiology and Vaccinal Prevention.* 2020;19(4):97-101. DOI: 10.31631/2073-3046-2020-19-4-97-101. (In Russ.)
16. Karpenko S.F., Galimzyanov Kh.M., Kantemirova B.I. (2016). Features of clinical manifestations of coxiel-

- сиеллеза в Астраханской области // Материалы VIII Ежегодного Всероссийского Конгресса по инфекционным болезням с международным участием. М., 2016. 129 с.
17. Wielders C.C., Wuister A.M., de Visser V.L. et al. Characteristics of hospitalized acute Q fever patients during a large epidemic, The Netherlands // *PLoS One*. 2014;9(3):e91764. DOI: 10.1371/journal.pone.0091764.
18. Epelboin L., Chesnais C., Boullé C. et al. Q fever pneumonia in French Guiana: prevalence, risk factors, and prognostic score // *Clin. Infect. Dis.* 2012;55:67-74. DOI: 10.1093/cid/cis288.
19. Kampschreur L.M., Wegdam-Blans M.C., Thijsen S.F. et al. Acute Q fever related in-hospital mortality in the Netherlands // *Neth. J. Med.* 2010;68(12):408-413.
20. Espejo E., Gil-Díaz A., Oteo J.A. et al. Clinical presentation of acute Q fever in Spain: seasonal and geographical differences // *Int. J. Infect. Dis.* 2014;26:162-164. DOI: 10.1016/j.ijid.2014.06.016.
21. Chang K., Yan J.J., Lee H.C. et al. Acute hepatitis with or without jaundice: a predominant presentation of acute Q fever in southern Taiwan // *J. Microbiol. Immunol. Infect.* 2004;37(2):103-108.
22. Lee M., Jang J.J., Kim Y.S. et al. Clinicopathologic features of Q fever patients with acute hepatitis // *Korean J. Pathol.* 2012;46(1):10-14. DOI: 10.4132/KoreanJ-Pathol.2012.46.1.10.
23. Bautista-Hernández V., Gutierrez F., Ray V.G. Constrictive pericarditis due to *Coxiella burnetii* // *Ann. Thorac. Surg.* 2004;78(1):326-328. DOI: 10.1016/S0003-4975(03)01361-4.
24. Fournier P.E., Etienne J., Harle J.R., Habib G., Raoult D. Myocarditis, a rare but severe manifestation of Q fever: report of 8 cases and review of the literature // *Clin. Infect. Dis.* 2001;32(10):1440-1447. DOI: 10.1086/320159.
25. Carrascosa M.F., Pascual-Velasco F., Izquierdo G.R. et al. Acute Q fever myocarditis: thinking about a life-threatening but potentially curable condition // *Int. J. Cardiol.* 2012;158(1):e17-19. DOI: 10.1016/j.ijcard.2011.10.042.
26. Eldin C., Mailhe M., Lions C. et al. Treatment and prophylactic strategy for *Coxiella burnetii* infection of aneurysms and vascular grafts: a retrospective cohort study // *Medicine (Baltimore)*. 2016;95(12):e2810. DOI: 10.1097/MD.0000000000002810.
27. Million M., Thuny F., Bardin N. et al. Antiphospholipid antibody syndrome with valvular vegetations in acute Q fever // *Clin. Infect. Dis.* 2016;62(5):537-544. DOI: 10.1093/cid/civ956.
28. Figueiredo C., Candeias F., Brito M.J. Aseptic meningitis caused by *Coxiella burnetii* // *Pediatr. Infect. Dis.* 2016;35(1):115. DOI: 10.1097/INF.0000000000000935.
29. Bernit E., Pouget J., Janbon F. et al. Neurological involvement in acute Q fever: a report of 29 cases and review of the literature // *Arch. Intern. Med.* 2002;162(6):693-700. DOI: 10.1001/archinte.162.6.693.
30. Argov O., Weintraub M., Charach G. "Doughnut" granulomas from erythema nodosum in acute Q fever // *Isr. Med. Assoc. J.* 2008;10(3):241-242.
31. Herndon G., Rogers H.J. Multiple "doughnut" granulomas in *Coxiella burnetii* infection (Q fever) // *Blood*. 2013;122(18):3099. DOI: 10.1182/blood-2013-06-511063.
- losis in the Astrakhan region. In *Proceedings of the VIII Annual All-Russian Congress on Infectious Diseases with International Participation*. Moscow. 129 p. (In Russ.)
17. Wielders C.C., Wuister A.M., de Visser V.L. et al. Characteristics of hospitalized acute Q fever patients during a large epidemic, The Netherlands. *PLoS One*. 2014;9(3):e91764. DOI: 10.1371/journal.pone.0091764.
18. Epelboin L., Chesnais C., Boullé C. et al. Q fever pneumonia in French Guiana: prevalence, risk factors, and prognostic score. *Clin. Infect. Dis.* 2012;55:67-74. DOI: 10.1093/cid/cis288.
19. Kampschreur L.M., Wegdam-Blans M.C., Thijsen S.F. et al. Acute Q fever related in-hospital mortality in the Netherlands. *Neth. J. Med.* 2010;68(12):408-413.
20. Espejo E., Gil-Díaz A., Oteo J.A. et al. Clinical presentation of acute Q fever in Spain: seasonal and geographical differences. *Int. J. Infect. Dis.* 2014;26:162-164. DOI: 10.1016/j.ijid.2014.06.016.
21. Chang K., Yan J.J., Lee H.C. et al. Acute hepatitis with or without jaundice: a predominant presentation of acute Q fever in southern Taiwan. *J. Microbiol. Immunol. Infect.* 2004;37(2):103-108.
22. Lee M., Jang J.J., Kim Y.S. et al. Clinicopathologic features of Q fever patients with acute hepatitis. *Korean J. Pathol.* 2012;46(1):10-14. DOI: 10.4132/KoreanJ-Pathol.2012.46.1.10.
23. Bautista-Hernández V., Gutierrez F., Ray V.G. Constrictive pericarditis due to *Coxiella burnetii*. *Ann. Thorac. Surg.* 2004;78(1):326-328. DOI: 10.1016/S0003-4975(03)01361-4.
24. Fournier P.E., Etienne J., Harle J.R., Habib G., Raoult D. Myocarditis, a rare but severe manifestation of Q fever: report of 8 cases and review of the literature. *Clin. Infect. Dis.* 2001;32(10):1440-1447. DOI: 10.1086/320159.
25. Carrascosa M.F., Pascual-Velasco F., Izquierdo G.R. et al. Acute Q fever myocarditis: thinking about a life-threatening but potentially curable condition. *Int. J. Cardiol.* 2012;158(1):e17-19. DOI: 10.1016/j.ijcard.2011.10.042.
26. Eldin C., Mailhe M., Lions C. et al. Treatment and prophylactic strategy for *Coxiella burnetii* infection of aneurysms and vascular grafts: a retrospective cohort study. *Medicine (Baltimore)*. 2016;95(12):e2810. DOI: 10.1097/MD.0000000000002810.
27. Million M., Thuny F., Bardin N. et al. Antiphospholipid antibody syndrome with valvular vegetations in acute Q fever. *Clin. Infect. Dis.* 2016;62(5):537-544. DOI: 10.1093/cid/civ956.
28. Figueiredo C., Candeias F., Brito M.J. Aseptic meningitis caused by *Coxiella burnetii*. *Pediatr. Infect. Dis.* 2016;35(1):115. DOI: 10.1097/INF.0000000000000935.
29. Bernit E., Pouget J., Janbon F. et al. Neurological involvement in acute Q fever: a report of 29 cases and review of the literature. *Arch. Intern. Med.* 2002;162(6):693-700. DOI: 10.1001/archinte.162.6.693.
30. Argov O., Weintraub M., Charach G. "Doughnut" granulomas from erythema nodosum in acute Q fever. *Isr. Med. Assoc. J.* 2008;10(3):241-242.

32. Conget I., Mallolas J., Mensa J., Rovira M. Erythema nodosum and Q fever // *Arch. Dermatol.* 1987;123(7):867.
33. Melenotte C., Million M., Audoly G. et al. B-cell non-Hodgkin lymphoma linked to *Coxiella burnetii* // *Blood.* 2016;127(1):113-121. DOI: 10.1182/blood-2015-04-639617.
34. Wong R.C., Wilson R., Silcock R., Kratzing L.M., Looke D. Unusual combination of positive IgG autoantibodies in acute Q-fever infection // *Intern. Med. J.* 2001;31(7):432-435. DOI: 10.1046/j.1445-5994.2001.00099.x.
35. Lefebvre M., Grossi O., Agard C. et al. Systemic immune presentations of *Coxiella burnetii* infection (Q fever) // *Semin. Arthritis Rheum.* 2010;39(5):405-409. DOI: 10.1016/j.semarthrit.2008.10.004.
36. Hernández Beriain J.A., Garsia S.M., Medina F.J.N. Q-fever can simulate a lupus flare // *Reumatol. Clin.* 2012;8(3):143-144. DOI: 10.1016/j.reuma.2011.07.007.
37. Профилактика коксиеллеза (лихорадка Ку): Санитарно-эпидемиологические правила СП 3.17.2811-10. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2011. 27 с.
38. Фрейлихман О.А., Токарев Н.К., Кондрашова В.Д. Лабораторные методы диагностики Ку-лихорадки и генотипирование *Coxiella burnetii* // *Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение.* 2017;2(19):49-60.
31. Herndon G., Rogers H.J. Multiple "doughnut" granulomas in *Coxiella burnetii* infection (Q fever). *Blood.* 2013;122(18):3099. DOI: 10.1182/blood-2013-06-511063.
32. Conget I., Mallolas J., Mensa J., Rovira M. Erythema nodosum and Q fever. *Arch. Dermatol.* 1987;123(7):867.
33. Melenotte C., Million M., Audoly G. et al. B-cell non-Hodgkin lymphoma linked to *Coxiella burnetii*. *Blood.* 2016;127(1):113-121. DOI: 10.1182/blood-2015-04-639617.
34. Wong R.C., Wilson R., Silcock R., Kratzing L.M., Looke D. Unusual combination of positive IgG autoantibodies in acute Q-fever infection. *Intern. Med. J.* 2001;31(7):432-435. DOI: 10.1046/j.1445-5994.2001.00099.x.
35. Lefebvre M., Grossi O., Agard C. et al. Systemic immune presentations of *Coxiella burnetii* infection (Q fever). *Semin. Arthritis Rheum.* 2010;39(5):405-409. DOI: 10.1016/j.semarthrit.2008.10.004.
36. Hernández Beriain J.A., Garsia S.M., Medina F.J.N. Q-fever can simulate a lupus flare. *Reumatol. Clin.* 2012;8(3):143-144. DOI: 10.1016/j.reuma.2011.07.007.
37. *Prevention of Coxiellosis (Q fever): Sanitary and Epidemiological Rules SP 3.17.2811-10.* (2011). Moscow. 27 p. (In Russ.)
38. Freylikhman O.A., Tokarevich N.K., Kondrashova V.D. Methods of laboratory diagnosis of Q fever and genotyping of *Coxiella burnetii*. *Infectious Diseases: News, Opinions, Training.* 2017;2(19):49-60. (In Russ.)

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Вязевич Анна Николаевна – ассистент кафедры инфекционных болезней ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России; врач-инфекционист ГБУЗ НСО «Городская инфекционная клиническая больница № 1», Новосибирск, Россия.

Краснова Елена Игоревна – д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой инфекционных болезней ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия.

Хохлова Наталья Игоревна – канд. мед. наук, доцент кафедры инфекционных болезней ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия.

Проворова Вероника Валерьевна – канд. мед. наук, доцент кафедры инфекционных болезней ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия.

Кузнецова Вера Гаврииловна – д-р мед. наук, профессор кафедры инфекционных болезней ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия.

Позднякова Лариса Леонидовна – канд. мед. наук, врач-инфекционист, главный врач ГБУЗ НСО «Городская инфекционная клиническая больница № 1», Новосибирск, Россия.

Бондаренко Евгений Иванович – канд. мед. наук, научный сотрудник лаборатории ПЦР ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и био-

ABOUT THE AUTHORS

Anna N. Vyazhevich – Assistant, Department of Infectious Diseases, Novosibirsk State Medical University; Infectious Disease Physician, City Infectious Diseases Clinical Hospital No. 1, Novosibirsk, Russia.

Elena I. Krasnova – Dr. Sci. (Med.), Professor, Head, Department of Infectious Diseases, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia.

Natalya I. Khokhlova – Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Department of Infectious Diseases, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia.

Veronika V. Provorova – Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Department of Infectious Diseases, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia.

Vera G. Kuznetsova – Dr. Sci. (Med.), Professor, Department of Infectious Diseases, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia.

Larisa L. Pozdnyakova – Cand. Sci. (Med.), Infectious Disease Physician, Chief Physician, City Infectious Diseases Clinical Hospital No. 1, Novosibirsk, Russia.

Evgeniy I. Bondarenko – Cand. Sci. (Med.), Researcher, Polymerase Chain Reaction Laboratory, State Research Center of Virology and Biotechnology VECTOR, Koltsovo village, Novosibirsk region, Russia.

Yana S. Ulyanova – Infectious Disease Physician, Deputy Chief Physician, City Infectious Diseases Clinical Hospital No. 1; Assistant, Department of Infectious Diseases, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia.

технологии «Вектор» Роспотребнадзора, р.п. Кольцово, Новосибирская область, Россия.

Ульянова Яна Савельевна – врач-инфекционист, заместитель главного врача ГБУЗ НСО «Городская инфекционная клиническая больница № 1»; ассистент кафедры инфекционных болезней ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия.

Колпакова Татьяна Анатольевна – д-р мед. наук, профессор кафедры фтизиопульмонологии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия.

Поддубная Людмила Владимировна – д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой фтизиопульмонологии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия.

Tatiana A. Kolpakova – Dr. Sci. (Med.), Professor, Department of Phthisiopulmonology, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia.

Ludmila V. Poddubnaya – Dr. Sci. (Med.), Professor, Head, Department of Phthisiopulmonology, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia.



ТРЕБОВАНИЯ К ПРЕДОСТАВЛЕНИЮ МАТЕРИАЛОВ ДЛЯ ПУБЛИКАЦИИ В JOURNAL OF SIBERIAN MEDICAL SCIENCES

В Journal of Siberian Medical Sciences (далее — JSMS) публикуются научные обзоры и статьи по медицинским наукам, подготовленные по материалам оригинальных научных исследований. JSMS выходит 4 раза в год.

Требования, предъявляемые к публикациям в JSMS, сформулированы с учетом требований, предъявляемых к рецензируемым научным изданиям, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата и доктора наук.

Статьи, отправленные авторами в другие издания и/или напечатанные ранее в них, к опубликованию не принимаются.

При описании научно-исследовательских клинических работ с привлечением человека в качестве объекта исследования авторы должны указать, соответствовали ли они международным и российским законодательным актам о юридических и этических принципах медико-биологических исследований такого рода. Не допускается использование фамилий, инициалов больных и номеров историй болезни. При описании экспериментов на животных необходимо указать, соответствовало ли содержание и использование лабораторных животных правилам, принятым в учреждении, рекомендациям национального совета по исследованиям, национальным законам.

Авторские права соблюдаются в соответствии с Гражданским кодексом Российской Федерации (ч. 4) и другими действующими нормативными документами. Авторы несут полную ответственность за содержание статей.

В редакцию JSMS авторы должны предоставить:

- 1) *электронную версию статьи*, подготовленную в соответствии с требованиями к оформлению статей, изложенными ниже;
- 2) *оригинал статьи* в печатном виде с указанием города, даты, фамилии с подписью каждого автора (на последней странице), визой «В печать» и подписью (на первой странице) заведующего кафедрой или иного должностного лица организации, на базе которой выполнено исследование.

Авторы предоставляют статьи в редакцию лично или по почте;

3) *согласие* на публикацию статьи в JSMS и обработку персональных данных авторов (заполняется каждым автором) (см. на сайте НГМУ: https://jsms.ngmu.ru/zayavlenie_jsms.doc);

4) для сотрудников ФГБОУ ВО НГМУ Минздрава России (далее — НГМУ) — *экспертное заключение* отдела координации федеральных программ, конкурсных проектов и инновационного развития управления по науке, инновациям и информатизации НГМУ (см. www.ngmu.ru); для сторонних авторов — *направление на опубликование* на фирменном бланке организации, на базе которой выполнено оригинальное научное исследование, за подписью ответственного должностного лица.

ПРАВИЛА ОФОРМЛЕНИЯ РУКОПИСЕЙ

1. Текст статьи набирается в текстовом редакторе Microsoft Word, Open Office и др., все поля 2 см, шрифт Times New Roman, кегль 12, межстрочный интервал 1,5. Текст статьи необходимо направить в редакцию JSMS в виде отдельного файла с указанием ФИО первого автора — Иванов И.И. текст.doc. Допускается отправка файлов в форматах doc, docx.

2. ФИО авторов набирается строчными буквами курсивом на русском языке. Инициалы помещаются перед фамилией автора. Порядок, в котором будут указаны авторы, определяется их совместным решением.

3. Город и название мест работы авторов оформляются строчными буквами курсивом на русском языке.

4. Статья должна содержать аннотацию на русском языке. В аннотации должны быть изложены цели исследования, основные процедуры, результаты оригинальных исследований и выводы. Под аннотацией помещается подзаголовок «Ключевые слова», после него до 10 ключевых слов или коротких фраз, которые будут способствовать правильному индексированию статьи в поисковых системах и системах цитирования. Аннотацию необходимо направить в редакцию JSMS вместе с текстом статьи в виде отдельного файла с указанием ФИО первого автора — Иванов И.И. аннотация.doc. Также предоставляются сведения о каждом из авторов: фами-

лия, имя, отчество (полностью на русском языке и в транслитерации), ученые звания и ученая степень, должность, место работы, рабочий телефон и адрес электронной почты (e-mail). Сведения необходимы для обработки публикаций в базе данных Российского индекса научного цитирования и других системах цитирования. Аннотация, ключевые слова, информация об авторах и название учреждений должны быть также предоставлены на английском языке.

5. Таблицы помещаются в текст статьи. Таблицы должны быть пронумерованы последовательно в соответствии с порядком, в котором они упоминаются в тексте (например, табл. 1, табл. 2 и т. д.).

6. Рисунки вставляются в текст статьи, а также предоставляются в виде отдельных пронумерованных файлов формата .jpg или .gif с разрешением не менее 300 dpi. Рисунки должны быть контрастными и четкими, буквы, цифры и символы на них должны быть различимы. Рисунками считаются графики, рентгенограммы, фотографии или любые другие графические объекты. Фотографии людей не должны быть узнаваемыми, либо к ним должно быть приложено письменное разрешение на их публикацию. Рисунки должны быть пронумерованы последовательно в соответствии с порядком, в котором они впервые упоминаются в тексте — рис. 1, рис. 2 и т. д. Подписи размещаются в тексте под рисунками. В подписях к микрофотографиям указывается степень увеличения и способ окраски.

7. В тексте статьи используются следующие заголовки: введение, цель исследования, материалы и методы, результаты и обсуждение, заключение, список литературы.

8. Используются только стандартные общепринятые сокращения (аббревиатуры). Не применяются сокращения в названии статьи. Полный термин, вместо которого вводится сокращение, должен предшествовать первому использованию этого сокращения в тексте.

9. Обязательно наличие списка литературы. Библиографические ссылки в тексте статьи даются арабскими цифрами в квадратных скобках, в полном соответствии с нумерацией списка литературы. Ссылки в тексте статьи должны даваться последовательно по возрастанию: [1]...[2]...[3]... и т.д. Развернутое описание источника в списке литературы предоставляются по ГОСТ 7.0-5-2008. Список литературы должен содержать публикации за последние 5 лет. В списке литературы все информационные источники перечисляются в порядке их цитирования.

10. Редакция JSMS берет на себя присвоение каждой публикуемой статье номера УДК и осуществление полного перевода статьи на английский язык.

11. Статьи, не соответствующие указанным редакцией требованиям, к опубликованию не принимаются.

ПОРЯДОК РЕЦЕНЗИРОВАНИЯ РУКОПИСЕЙ, ПРИНИМАЕМЫХ ДЛЯ ПУБЛИКАЦИИ

1. Рукописи статей, поступивших в редакцию, направляются для рецензирования членам редакционного совета с целью их экспертной оценки на предмет соответствия требованиям JSMS и Высшей аттестационной комиссии при Министерстве образования и науки РФ.

Рецензенты уведомляются о том, что в целях обеспечения авторских и других неимущественных прав присланные рукописи не подлежат разглашению, копированию, распространению. Рецензирование проводится анонимно.

При отказе в направлении на рецензирование представленной автором рукописи редакция направляет автору мотивированный ответ в электронном виде.

Редакция журнала по письменному запросу направляет авторам рецензии на поступившие материалы в электронном виде. Авторы обязаны учесть замечания рецензентов и внести в статью соответствующие исправления или предоставить мотивированный ответ о несогласии с замечаниями рецензента.

Редакционная коллегия принимает решение о возможности публикации статьи или отклоняет ее по результатам рецензирования.

Рецензии хранятся в редакции журнала в течение 5 лет с момента публикации.

2. Редакцией не допускаются к публикации:

— статьи, тематика которых не соответствует научному направлению журнала;

— статьи, авторы которых отказываются от технической доработки статей;

— статьи, авторы которых не внесли конструктивные замечания рецензента в текст статьи и не предоставили мотивированный ответ о несогласии с замечаниями рецензента.

В случае отклонения статьи редакция направляет автору мотивированный отказ. Редакция JSMS не хранит рукописи, не принятые к печати. Рукописи, принятые к публикации, не возвращаются.

