

ISSN 2542-1174



**JOURNAL  
of SIBERIAN  
MEDICAL  
SCIENCES**

Vol. 8  
2024 **1**

**OPEN  
ACCESS**

# JOURNAL of SIBERIAN MEDICAL SCIENCES

Том 8, № 1 (2024)

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 (анnotatedное 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)

### 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](mailto:rector@ngmu.ru), Web: [www.ngmu.ru](http://www.ngmu.ru)

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 Казахстанской 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, клиники 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)

### 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](mailto:mos@ngmu.ru), Web: <http://jsms.ngmu.ru>

## РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

### 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 Земмельвейса (Венгрия, Будапешт)

Евстропов А.Н., д-р мед. наук, проф., зав. кафедрой микробиологии, вирусологии и иммунологии, Новосибирский государственный медицинский университет (Новосибирск)

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)

Кулецов 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)

Мордук 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 постдипломного образования, Астраханский государственный медицинский университет (Астрахань)

Самойлова Ю.Г., д-р мед. наук, проф., руководитель Центра клинических исследований, зав. кафедрой педиатрии с курсом эндокринологии, проф. кафедры факультетской терапии с курсом клинической фармакологии, Сибирский государственный медицинский университет (Томск)

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 постдипломного образования – филиал Российской медицинской академии непрерывного профессионального образования (Иркутск)

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

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

Хардикова 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 (Барнаул)

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

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 (Барнаул)

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)

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)

Казачков Е.Л., д-р мед. наук, проф., зав. кафедрой патологический 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 патологический анатомии, Новосибирский государственный медицинский университет (Новосибирск)

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

Савченко С.В., д-р мед. наук, проф. кафедры судебной медицины, Новосибирский государственный медицинский университет (Новосибирск)

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

Белоусов 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, доктор 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)

### 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)

Яхонтов Д.А., д-р мед. наук, проф. кафедры фармакологии, клинической фармакологии и доказательной медицины, Новосибирский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого (Красноярск)

Отпечатано в типографии Издательско-полиграфического центра НГМУ, г. Новосибирск, ул. Залесского, 4.  
Формат 60×84/8. Бумага Color Copy. Гарнитура Georgia. Усл. печ. л. 17,52. Тираж 1000 экз.  
Изд. № 48с.

Корректура Е.В. Егоров  
Компьютерная верстка Т.В. Соболева

# JOURNAL of SIBERIAN MEDICAL SCIENCES

Vol. 8, No. 1 (2024)

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 Transfusion, 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)

*Voevodova 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)

### FOUNDER

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

*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 PERSONA (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)

### 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](mailto: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)

*Evtropov A.N.*, MD, Dr. Sci. (Med.), Prof., Head of the Department of Microbiology, Virusology and Immunology, Novosibirsk State Medical University (Novosibirsk)

*Karbsheva 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)

*Samoilova J.G.*, MD, Dr. Sci. (Med.), Prof., Head of the Clinical Research Center, Head of the Department of Pediatrics with a course of Endocrinology, Prof. of the Department of Faculty Therapy with a course of Clinical Pharmacology, Siberian State Medical University (Tomsk)

*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)

*Trofimenco 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. Voyno-Yasenetsky (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. Voyno-Yasenetsky (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)

*Savchenko S.V.*, MD, Dr. Sci. (Med.), Prof. of the Department of Forensic Medicine, Novosibirsk State Medical University (Novosibirsk)

*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

<b>Лукашева О.В., Маринкин И.О., Макаров К.Ю., Борцов В.А.</b> Организация профилактики нарушений репродуктивного здоровья девочек и девушек-подростков . . . . .	7
<b>Корнеева Н.В., Гаврилов Е.С., Югай А.Л., Павлова С.П., Могила Т.В., Дубинина В.В., Ли И.В.</b> Пациент с артериальной гипертензией в поликлинике: как использовать профилактический инструментарий	18
<b>Капустин Д.В., Краснова Е.И., Хохлова Н.И., Налимова Т.М., Крикливая Н.П., Халиков М.Р., Тотменин А.В., Готфрид Л.Г., Гашникова М.П., Гашникова Н.М., Кузнецова В.Г., Позднякова Л.Л., Колпакова Т.А., Поддубная Л.В.</b> Изучение приверженности к антиретровирусной терапии и ее влияния на риск развития резистентности ВИЧ-1 у больных с вирусологической неудачей. . . . .	29
<b>Величко В.В., Круглов Д.С., Карташова М.Е.</b> Подход к стандартизации травы нонеи русской ( <i>Nonea rossica</i> Steven) . . . . .	42
<b>Мошкин А.С., Николенко В.Н., Халилов М.А.</b> Морфометрические особенности межпозвоночных дисков шейного отдела позвоночника по данным МРТ . . . . .	51
<b>Альрухае Р., Суслина С.Н.</b> Разработка и валидация методики количественного определения триметазидина дигидрохлорида для исследовательских целей . . . . .	64
<b>Цейман И.Я., Семитко А.П., Богачев Д.Е., Даулетова Я.А., Шмакова А.А.</b> Влияние CD4 <sup>+</sup> клеточной популяции и противотуберкулезной терапии на клиренс коронавируса SARS-CoV-2 у пациентов с инфекционным заболеванием COVID-19 в сочетании с туберкулезом . . . . .	75
<b>Тараканова В.О., Крахмаль Н.В., Бабышкина Н.Н., Вторушин С.В.</b> Связь экспрессии ВМ1-1 и ROR1 с клинико-морфологическими параметрами и течением люминального рака молочной железы . . . . .	88
<b>Ибрагимов Р.И.</b> Состояние обмена липидов при хронической интоксикации тяжелыми металлами на фоне экспериментального атеросклероза . . . . .	100

### ОБЗОРЫ

<b>Поспелова Т.И., Воропаева Е.Н., Максимов В.Н., Скворцова Н.В., Воевода М.И.</b> Молекулярно-генетические механизмы и значение дерегуляции p53 при диффузной В-крупноклеточной лимфоме . . . . .	113
<b>Немчинова О.Б., Позднякова О.Н., Склянова Е.Ю., Часнык А.С.</b> Пациент-ориентированный подход к назначению системной терапии псориаза генно-инженерными биологическими препаратами: клинический случай . . . . .	128

## CONTENTS

### ORIGINAL RESEARCHES

<b>Lukasheva O.V., Marinkin I.O., Makarov K.Yu., Bortsov V.A.</b> Organization of prevention of reproductive health disorders in girls and adolescent girls . . . . .	7
<b>Korneeva N.V., Gavrilov E.S., Yugai A.L., Pavlova S.P., Mogila T.V., Dubinina V.V., Li I.V.</b> A patient with arterial hypertension in an outpatient clinic: how to use preventive tools . . . . .	18
<b>Kapustin D.V., Krasnova E.I., Khokhlova N.I., Nalimova T.M., Kriklivaya N.P., Khalikov M.R., Totmenin A.V., Gotfrid L.G., Gashnikova M.P., Gashnikova N.M., Kuznetsova V.G., Pozdnyakova L.L., Kolpakova T.A., Poddubnaya L.V.</b> A study of adherence to antiretroviral therapy and its effect on the risk of HIV-1 resistance in patients with virological failure . . . . .	29
<b>Velichko V.V., Kruglov D.S., Kartashova M.E.</b> An approach to standardization of <i>Nonea rossica</i> Steven herb . . . . .	42
<b>Moshkin A.S., Nikolenko V.N., Khalilov M.A.</b> Morphometric features of intervertebral discs of the cervical spine according to MRI data . . . . .	51
<b>Alrouhaya Ranim, Sulsina S.N.</b> Development and validation of an accessible analytical method for the quantification of trimetazidine dihydrochloride for research purposes . . . . .	64
<b>Tseymakh I.Ya., Semitko A.P., Bogachev D.E., Dauletova Ya.A., Shmakova A.A.</b> The effect of the CD4 <sup>+</sup> T cell subset and anti-tubercular therapy on SARS-CoV-2 clearance in patients with COVID-19 and tuberculosis co-infection . . . . .	75
<b>Tarakanova V.O., Krakhmal' N.V., Babyshkina N.N., Vtorushin S.V.</b> Correlation of BMI-1 and ROR1 expression with clinical and morphologic parameters and course of luminal breast cancer . . . . .	88
<b>Ibragimov R.I.</b> Lipid metabolism during long-term exposure to heavy metals in experimental atherosclerosis . . . . .	100

### REVIEW

<b>Pospelova T.I., Voropaeva E.N., Maksimov V.N., Skvortsova N.V., Voevoda M.I.</b> Molecular-genetic mechanisms and significance of p53 deregulation in diffuse large B-cell lymphoma . . . . .	113
<b>Nemchaninova O.B., Pozdnyakova O.N., Sklyanova E.Yu., Chasnyk A.S.</b> Patient-oriented approach to prescribing systemic therapy for psoriasis with biologics: a case report . . . . .	128

## Организация профилактики нарушений репродуктивного здоровья девочек и девушек-подростков

О.В. Лукашева, И.О. Маринкин, К.Ю. Макаров, В.А. Борцов

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

### АННОТАЦИЯ

**Введение.** Основные демографические показатели в стране зависят от особенностей репродуктивного поведения нынешних детей и подростков. Половое воспитание, обычно осуществляющееся в семье, играет ведущую роль в формировании репродуктивного поведения и должно быть не только своевременным, но и информативным, что невозможно реализовать без поддержки системы здравоохранения.

**Цель.** Определить тенденции репродуктивного поведения девочек-подростков и степень вовлеченности медицинских работников в процесс полового воспитания девочек и девушек-подростков.

**Материалы и методы.** Проведен анонимный социологический опрос 400 девушек в возрасте от 15 до 18 лет (средний возраст – 16,3 года), которые обратились в ГБУЗ НСО «Клинический центр охраны здоровья семьи и репродукции», и 34 врачей – акушеров-гинекологов, оказывающих помощь несовершеннолетним.

**Результаты.** Согласно результатам опроса для сохранения репродуктивного и сексуального здоровья девушкам-подросткам необходимы информация и комплексное профилактическое образование по вопросам репродуктивного здоровья, которое даст им знания и навыки для определения своего поведения. По оценке врачей – акушеров-гинекологов популярен запрос на дистанционное консультирование родителей девочек и девушек подростков по вопросам репродуктивного здоровья и поведения, однако у врачей не всегда есть возможность осуществить данный вид консультирования, хотя они и считают эти меры одним из способов укрепления репродуктивного здоровья детей и подростков.

**Заключение.** Создание электронного ресурса, содержащего информацию профилактической направленности по вопросам репродуктивного поведения и здоровья, оптимизирует профилактическую работу с девочками и девушками-подростками, а также позволит сделать систему охраны здоровья подростков максимально эффективной и доступной, что позволит сформировать модели нормального репродуктивного поведения детей и подростков и, таким образом, сохранить репродуктивный потенциал населения.

**Ключевые слова:** репродуктивное здоровье, охрана репродуктивного здоровья детей и подростков, репродуктивное поведение, половое воспитание, акушер-гинеколог, дети, подростки.

**Образец цитирования:** Лукашева О.В., Маринкин И.О., Макаров К.Ю., Борцов В.А. Организация профилактики нарушений репродуктивного здоровья девочек и девушек-подростков // Journal of Siberian Medical Sciences. 2024;8(1):7-17. DOI: 10.31549/2542-1174-2024-8-1-7-17

## Organization of prevention of reproductive health disorders in girls and adolescent girls

O.V. Lukasheva, I.O. Marinkin, K.Yu. Makarov, V.A. Bortsov

Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia

### ABSTRACT

**Introduction.** The main demographic indicators in the country depend on the characteristics of the reproductive behavior of today's children and adolescents. Sex education, usually realized in the family, plays a key role in the for-

Поступила в редакцию 28.04.2023  
Прошла рецензирование 23.08.2023  
Принята к публикации 16.09.2023

Автор, ответственный за переписку  
Лукашева Ольга Владимировна: ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России. 630091, г. Новосибирск, Красный просп., 52.  
E-mail: ov.lukasheva@mail.ru

Received 28.04.2023  
Revised 23.08.2023  
Accepted 16.09.2023

*Corresponding author*  
Olga V. Lukasheva: Novosibirsk State Medical University, 52, Krasny prospekt, Novosibirsk, 630091, Russia.  
E-mail: ov.lukasheva@mail.ru

mation of reproductive behavior, and should not only be timely but also informative, which cannot be achieved without the health care system support.

**Aim.** To determine trends in the reproductive behavior of adolescent girls and the degree of involvement of medical professionals in the process of sex education for girls and adolescent girls.

**Materials and methods.** An anonymous survey was conducted among 400 girls aged 15 to 18 years (average age 16.3 years) who had applied to the Clinical Center for Family Health and Reproduction, and of 34 obstetrician-gynecologists providing care to minors.

**Results.** According to the survey results, to maintain reproductive and sexual health, adolescent girls need information and comprehensive preventive education on reproductive health issues which will give them the knowledge and skills to determine their behavior. According to estimates of obstetrician-gynecologists, there is a popular request for online consultation of parents of girls and adolescent girls on issues of reproductive health and behavior, but doctors do not always have the opportunity to render this type of consultation, although they consider these measures one of the ways for the reproductive health promotion of children and adolescents.

**Conclusion.** The development of an electronic resource containing prevention-focused information on reproductive behavior and health issues will optimize preventive work with girls and adolescent girls, and will also make the adolescent health care system as effective and available as possible, thus allowing the formation of models of normal reproductive behavior of children and adolescents and preserving the reproductive potential of the population.

**Keywords:** reproductive health, reproductive health protection of children and adolescents, reproductive behavior, sex education, obstetrician-gynecologist, children, adolescents.

**Citation example:** Lukasheva O.V., Marinkin I.O., Makarov K.Yu., Bortsov V.A. Organization of prevention of reproductive health disorders in girls and adolescent girls. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2024;8(1):7-17. DOI: 10.31549/2542-1174-2024-8-1-7-17

## ВВЕДЕНИЕ

К 2023 г. в России количество подростков в возрасте от 10 до 19 лет составляло более 13 млн, это десятая часть всего населения страны. В Новосибирской области динамика численности детей и подростков сопоставима с общероссийской тенденцией. Важно учитывать, что основные демографические показатели в стране зависят от особенностей репродуктивного поведения нынешних детей и подростков [1, 2]. Половое воспитание, обычно осуществляющееся в семье, играет ведущую роль в формировании репродуктивного поведения и должно быть не только своевременным, но и информативным, что невозможно реализовать без поддержки системы здравоохранения.

Рассматривая проблему сохранения репродуктивного здоровья несовершеннолетних, важно не только проанализировать существующие поведенческие паттерны современных детей и подростков, но и определить уровень вовлечения врачей акушеров-гинекологов в процесс полового воспитания [3–6].

## ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Определить тенденции репродуктивного поведения девушек-подростков и степень вовлеченности медицинских работников в процесс полового воспитания девочек и девушек-подростков.

## INTRODUCTION

By 2023, in Russia the number of adolescents aged 10 to 19 years made up more than 13 mln (a tenth of the country's total population). In the Novosibirsk region, the number of children and adolescents is comparable to the all-Russian trend. It is important to take into account that the main demographic indicators in the country depend on the patterns of reproductive behavior of current children and adolescents [1, 2]. Sex education, usually realized in the family, plays a key role in the formation of reproductive behavior and should not only be timely, but also informative, which cannot be achieved without the support of the health care system. When considering the problem of preserving the reproductive health of minors, it is important not only to analyze the current behavioral patterns of modern children and adolescents, but also to determine the level of involvement of obstetrician-gynecologists in the process of sex education [3–6].

## AIM OF THE RESEARCH

To determine trends in the reproductive behavior of adolescent girls, and the level of medical staff involvement in the process of sex education for girls and adolescent girls.

## MATERIALS AND METHODS

To determine the key points for the system of prevention of reproductive health disorders in

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для определения ключевых точек организации профилактики нарушений репродуктивного здоровья в детском и подростковом возрасте проведен анонимный социологический опрос 400 девушек в возрасте от 15 до 18 лет (средний возраст – 16.3 года), которые обратились в ГБУЗ НСО «Клинический центр охраны здоровья семьи и репродукции», и 34 врачей – акушеров-гинекологов (средний профессиональный стаж – 23 года; 18 опрошенных специалистов отметили своим основным местом работы государственные медицинские учреждения, 16 чел. – частные медицинские учреждения), оказывающих помощь несовершеннолетним.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Определение «репродуктивное здоровье»  $60.3 \pm 2.4$  % респондентов формулируют не только как состояние психического и соматического здоровья, но и гармоничного психосоциального и физического развития. Отмечают зависимость способности к воспроизведству потомства от репродуктивного здоровья  $17.3 \pm 1.9$  % опрошенных; здоровье как составляющую часть сексуальной жизни выделяют  $2.3 \pm 0.7$  % опрошенных;  $7.3 \pm 1.3$  % затруднились сформулировать определение репродуктивного здоровья.

В случае появления затруднений или вопросов по теме репродуктивного здоровья или поведения в первую очередь подростки ожидают поддержку родителей –  $58.5 \pm 2.5$  %; одновременно с этим треть ( $29.8 \pm 2.3$  %) респондентов обсуждают данные вопросы со сверстниками;  $6.8 \pm 1.3$  % – с членами семьи или другими родственниками (исключая родителей); к педагогическим работникам за разъяснением вопросов репродуктивного здоровья и поведения обращаются не больше  $2 \pm 0.7$  % опрошенных. Следовательно, большинство девушек-подростков прежде всего прибегнут к помощи родителей и других членов семьи при появлении проблем, касающихся репродуктивного здоровья. Также одна из пяти опрошенных девушек заявляет, что ни с кем не говорит на указанные темы.

По данным литературы интимные отношения подростков характеризуются как рискованные [7, 8]. В связи с этим важно проанализировать уровень осведомленности подростков в ключевых вопросах: об инфекциях, передаваемых половым путем (ИППП), контрацепции, об отношении к беременности и абортах. У опрошенных нами девушек отмечается высокая осведомленность относительно ВИЧ-инфекции ( $97.5 \pm 0.8$  %),

childhood and adolescence, an anonymous survey was conducted for 400 girls aged 15 to 18 years (average age: 16.3 years), who sought medical attention at the Clinical Center for Family Health Care and Reproduction, and of 34 obstetrician-gynecologists (average work experience: 23 years; 18 interviewed specialists specified state medical institutions as their main place of work, 16 people – private medical institutions) providing care to minors.

## RESULTS AND DISCUSSION

The definition of “reproductive health” is formulated by  $60.3 \pm 2.4$  % of respondents not only as a state of mental and somatic health, but also of harmonious psychosocial and physical development. The dependence of fertility on reproductive health was noted by  $17.3 \pm 1.9$  % of respondents; health is identified as an integral part of sexual life by  $2.3 \pm 0.7$  % of respondents;  $7.3 \pm 1.3$  % found it difficult to formulate a definition of reproductive health.

In case of difficulties or questions on the topic of reproductive health or behavior, adolescents first of all expect their parents' support –  $58.5 \pm 2.5$  %; at the same time, a third ( $29.8 \pm 2.3$  %) of respondents discuss these issues with peers;  $6.8 \pm 1.3$  % – with family members or other relatives (excluding parents); no more than  $2 \pm 0.7$  % of respondents turned to teaching staff for clarification on issues of reproductive health and behavior. Consequently, most adolescent girls will firstly call in the aid of parents and other family members when reproductive health problems arise. Also, one of five girls surveyed states that they do not talk to anyone about these topics.

According to the literature, sexual behavior among adolescents are characterized as risky [7, 8]. In this regard, it is important to analyze the level of awareness of adolescents on key issues: sexually transmitted infections (STIs), contraception, attitudes towards pregnancy and abortion. The girls we surveyed showed high awareness of HIV infection ( $97.5 \pm 0.8$  %), syphilis ( $85.5 \pm 1.8$  %) and hepatitis B and C ( $59.8 \pm 2.5$  %). The majority ( $53.3 \pm 2.5$  %) know about *Chlamydia* infection, comparable proportion ( $51.5 \pm 2.5$  %) know about genital herpes. Only  $33.3 \pm 2.4$  % of respondents are informed about gonorrhea, and least of all ( $17.8 \pm 1.9$  %) – about trichomoniasis. The opinion of adolescent girls about the probable ways of contracting STIs deserves special attention: first of all, unprotected sexual intercourse, infection through blood transfusion and other medical procedures are noted ( $86.8 \pm 1.7$  and  $60.8 \pm 2.4$  %, respectively). Every second adolescent girl rightly notes the vertical transmission of infec-

сифилиса ( $85.5 \pm 1.8\%$ ) и гепатитов В и С ( $59.8 \pm 2.5\%$ ). Большинство ( $53.3 \pm 2.5\%$ ) знают о хламидиозе, сопоставимо ( $51.5 \pm 2.5\%$ ) – о генитальном герпесе. Информацией о гонорее владеют только  $33.3 \pm 2.4\%$  опрошенных, и менее всего ( $17.8 \pm 1.9\%$ ) – о трихомониазе. Отдельного внимания заслуживает мнение девушек-подростков о вероятных способах заражения ИППП: в первую очередь отмечают незащищенные половые контакты, заражение при переливании крови и других медицинских манипуляциях ( $86.8 \pm 1.7$  и  $60.8 \pm 2.4\%$  соответственно). Каждая вторая девушка справедливо отмечает вертикальный путь передачи инфекций –  $47.5 \pm 2.5\%$ . В ходе исследования мы выявили заблуждения, свойственные подросткам, в вопросах передачи ИППП: некоторые респонденты считают возможным передачу при посещении бани/сауны или купания в бассейне ( $12.3 \pm 1.6$  и  $10.3 \pm 1.5\%$  соответственно); возможность заражения ИППП при поцелуе или через укус насекомых/домашних животных предполагают  $9.3 \pm 1.4$  и  $4.5 \pm 1\%$  опрошенных соответственно; на долю рукопожатия в передаче ИППП приходится  $1.5 \pm 0.6\%$ .

В контексте опасности передачи ИППП мы выяснили предположения девушек-подростков о способах предотвращения инфекций: в первую очередь респонденты выделяют барьерные средства –  $91.5 \pm 1.4\%$ , во вторую – воздержание от сексуальных контактов ( $57.5 \pm 2.5\%$ ); гормональную контрацепцию как метод предотвращения ИППП отметили  $13.0 \pm 1.7\%$  девушек-подростков; внутриматочный контрацептив (спираль) –  $7.3 \pm 1.3\%$ ; спринцевание после полового акта для защиты от ИППП готовы использовать  $2.0 \pm 0.7\%$  девушек. Об отсутствии знаний о предотвращении заражения ИППП заявили  $4.0 \pm 1\%$  опрошенных. Учитывая ошибочные суждения о способах передачи ИППП и методах защиты, ожидаемо, что опрошенные девушки-подростки в  $60.3 \pm 2.4\%$  случаев опасаются заразиться ИППП или скорее опасаются, чем нет ( $22.0 \pm 2.1\%$ ).

Своевременное выявление и лечение половых инфекций позволяет сохранить репродуктивное здоровье пациентов, поэтому важным можно считать намерение опрошенных девушек-подростков прежде всего обратиться к врачу при подозрении на заражение ИППП –  $83.0 \pm 1.9\%$ ; треть подростков поделится информацией с родителями ( $31.0 \pm 2.3\%$ );  $11.5 \pm 1.6\%$  респондентов будут искать информацию в Интернете. По данным опроса частота посещений врача – акушера-гинеколога подростками составляет

$47.5 \pm 2.5\%$ . During the study, we identified misconceptions typical of adolescents regarding STIs: some respondents believe that transmission is possible when visiting a bathhouse/sauna or at a swimming pool ( $12.3 \pm 1.6$  and  $10.3 \pm 1.5\%$ , respectively); the possibility of STIs via a kiss or an insect/pet bite was suggested by  $9.3 \pm 1.4$  and  $4.5 \pm 1\%$  of respondents, respectively; and handshakes account for  $1.5 \pm 0.6\%$  of STIs transmission.

In the context of the danger of transmission of STIs, we found out the assumptions of adolescent girls about ways to prevent infections: first of all, respondents highlight barrier methods –  $91.5 \pm 1.4\%$ , secondly – abstention ( $57.5 \pm 2.5\%$ ); hormonal contraception as a method of preventing STIs was noted by  $13.0 \pm 1.7\%$  of adolescent girls; use of intrauterine device –  $7.3 \pm 1.3\%$ ;  $2.0 \pm 0.7\%$  of girls are willing to use vaginal douching after intercourse to protect against STIs. Lack of knowledge about preventing STIs was reported by  $4.0 \pm 1\%$  of respondents. Taking into account misperceptions the ways of STIs transmission and methods of protection, it is expected that the surveyed adolescent girls in  $60.3 \pm 2.4\%$  of cases are afraid of becoming infected with STIs or are more likely to be afraid than not ( $22.0 \pm 2.1\%$ ).

The timely detection and treatment of STIs allow preserving the reproductive health of patients, so the intention of the surveyed adolescent girls to firstly seek medical attention if they suspect infection with STIs can be considered important –  $83.0 \pm 1.9\%$ ; a third of adolescent girls will share information with their parents ( $31.0 \pm 2.3\%$ );  $11.5 \pm 1.6\%$  of respondents will search for information on the Internet. According to the survey results, the frequency of visits to an obstetrician-gynecologist by adolescent girls once a year makes up  $46.5 \pm 2.5\%$ ; every six months –  $26.8 \pm 2.2\%$ ; once in 2 years and less often –  $13.8 \pm 1.7\%$ ;  $3.5 \pm 0.9\%$  of respondents have never visited a gynecologist. The main reason for visiting an obstetrician-gynecologist is the need for an examination in  $54.3 \pm 2.5\%$ ; every third adolescent girl have complaints –  $34.0 \pm 2.4\%$ ;  $27.5 \pm 2.2\%$  of respondents seek gynecologist's advice on contraception, hygiene or disease prevention;  $5.0 \pm 1.1\%$  of respondents try not to see a doctor.

The key issue in realizing reproductive potential is women's attitude towards family and marriage. During the survey, we found that the respondents were loyal of premarital, including non-monogamous, relationships (positive –  $45 \pm 2.5\%$ ; indifferent –  $38 \pm 2.4\%$ ). More than half ( $53.3 \pm 2.5\%$ ) of the survey participants are sexually active since the age of 15.9 and have 1.7 partners on average. Among

1 раз в год –  $46.5 \pm 2.5\%$ ; каждые полгода консультируются  $26.8 \pm 2.2\%$  девушек; 1 раз в 2 года и реже –  $13.8 \pm 1.7\%$ ; никогда не посещали гинеколога  $3.5 \pm 0.9\%$  опрошенных. Ведущим мотивом посещения врача – акушера-гинеколога является необходимость профилактического осмотра –  $54.3 \pm 2.5\%$ ; каждая 3-я девушка-подросток обращается с жалобами –  $34.0 \pm 2.4\%$ ; для консультации по контрацепции, гигиене или профилактике заболеваний к гинекологу обращаются  $27.5 \pm 2.2\%$  опрошенных; стараются не обращаться к врачу  $5.0 \pm 1.1\%$  респондентов.

Ключевым вопросом в реализации репродуктивного потенциала является отношение женщин к семье и браку. В ходе исследования мы выяснили, что опрошенные пациентки лояльно относятся к добрачным, в том числе не моногамным, отношениям (положительно –  $45 \pm 2.5\%$ ; безразлично –  $38 \pm 2.4\%$ ). Более половины ( $53.3 \pm 2.5\%$ ) участниц исследования живут половой жизнью с 15.9 года и имеют 1.7 партнера в среднем. Среди побудительных причин полового дебюта лидируют «чувство влюбленности» ( $46.5 \pm 2.5\%$ ) и «интерес/любопытство» ( $11.0 \pm 1.6\%$ ).

«Защищенным» участницы опроса называют тот секс, при котором использовались барьерные средства контрацепции, а также контакт с обследованным на ИППП половым партнером ( $87.0 \pm 1.7$  и  $51.3 \pm 2.5\%$  соответственно); наличие постоянного полового партнера и использование гормональных контрацептивов как вариант безопасных половых контактов отметили  $45.5 \pm 2.5$  и  $25.0 \pm 2.2\%$  девушек-подростков соответственно. Стоит отметить, что метод прерванного полового акта в качестве безопасного выделяют  $2.3 \pm 0.7\%$  подростков;  $2.8 \pm 0.8\%$  опрошенных заявляют об отсутствии знаний по данному вопросу. Самый распространенный в использовании из всех известных подросткам методов контрацепции является барьерный ( $47.0 \pm 2.5\%$ ). «Прерванный половой акт» является методом выбора для  $11.7 \pm 2.2\%$  респондентов, хотя большинство из них не считают его надежным. Не используют средства контрацепции при контактах  $7.0 \pm 1.7\%$  девушек-подростков. В итоге осведомленность по вопросам контрацепции и профилактики ИППП не является достаточным стимулом к регулярному использованию эффективных средств защиты подростками.

Мнение об опасности аборта для женщины высказывают большинство опрошенных («вреден» –  $45.0 \pm 2.5\%$ ; «скорее вреден» –  $32.8 \pm 2.3\%$ ). Вместе с тем  $37.8 \pm 2.4\%$  участниц

the motives for sexual onset, the leading ones are “feeling of falling in love” ( $46.5 \pm 2.5\%$ ) and “interest/curiosity” ( $11.0 \pm 1.6\%$ ).

The survey participants call a sexual intercourse protected when it involves the use of barrier contraceptives, as well as an intercourse with a partner negatively tested for STIs ( $87.0 \pm 1.7$  and  $51.3 \pm 2.5\%$ , respectively); the presence of a regular sexual partner and the use of hormonal contraceptives as an option for safe sexual intercourses was noted by  $45.5 \pm 2.5$  and  $25.0 \pm 2.2\%$  of adolescent girls, respectively. It is worth noting that coitus interruptus (withdrawal) is considered safe by  $2.3 \pm 0.7\%$  of adolescent girls;  $2.8 \pm 0.8\%$  of respondents declare lack of knowledge on this issue. The most commonly used contraceptive method of all known to adolescents is barrier ( $47.0 \pm 2.5\%$ ). Coitus interruptus is the method of choice for  $11.7 \pm 2.2\%$  of respondents, although most of them do not consider it reliable.  $7.0 \pm 1.7\%$  of adolescent girls do not use any method of contraception. As a result, awareness of contraception and STIs prevention is not a sufficient incentive for adolescents to regularly use effective measures of protection.

The majority of respondents express an opinion about the danger of abortion for a woman (“harmful” –  $45.0 \pm 2.5\%$ ; “rather harmful” –  $32.8 \pm 2.3\%$ ). At the same time,  $37.8 \pm 2.4\%$  of the survey participants will resort to termination of pregnancy if it occurs earlier than they planned. Basically, adolescent girls are ready to give birth to children at the age of 20–25 ( $46.0 \pm 2.5\%$ ) or 26–30 years ( $32.0 \pm 2.3\%$ ). After the age of 30,  $6.5 \pm 1.2\%$  of respondents plan their first pregnancy, and  $1.5 \pm 0.6\%$  of adolescent girls are ready for pregnancy before the age of 20. It is important to note that  $4.5 \pm 1\%$  of the survey participants stated that they had no plans for pregnancy during their lifetime.

The aim of the anonymous survey of obstetrician-gynecologists working with children and adolescents was to identify the attitude of specialists to the current system of reproductive health care and ways to improve it, as well as to determine the contribution of doctors to the implementation of sex education for children and adolescents.

According to opinion of the majority of obstetrician-gynecologists, a potential for improving the system of health care and reproduction of girls in childhood and adolescence exists and rather exists ( $58.8 \pm 11.9\%$  and  $23.5 \pm 10.3\%$ , respectively);  $11.8 \pm 7.8\%$  of respondents believe that there is currently no such need or rather not than there is. The surveyed doctors ( $64.7 \pm 11.6\%$ ) see the goal of

опроса прибегнут к прерыванию беременности, если она наступит ранее запланированного ими возрастного периода. В основном девушки готовы реализовывать репродуктивные планы в возрасте 20–25 ( $46.0 \pm 2.5$  %) или 26–30 лет ( $32.0 \pm 2.3$  %). После 30 лет планируют первую беременность  $6.5 \pm 1.2$  % респондентов, а к беременности до 20 лет готовы  $1.5 \pm 0.6$  % девушек-подростков. Важно отметить, что  $4.5 \pm 1$  % участниц анкетирования заявляют об отсутствии планов на беременность в течение жизни.

Целью анонимного опроса врачей – акушеров-гинекологов, работающих с детьми и подростками, было выявление отношения специалистов к существующей системе охраны репродуктивного здоровья и способам ее совершенствования, а также определение вклада врачей в реализацию полового воспитания детей и подростков.

По мнению большинства врачей – акушеров-гинекологов, в настоящее время существует или скорее существует ( $58.8 \pm 11.9$  % и  $23.5 \pm 10.3$  % соответственно) потенциал усовершенствования системы охраны здоровья и репродукции девочек в детском и подростковом возрасте;  $11.8 \pm 7.8$  % респондентов считают, что такой необходимости в настоящее время нет или скорее нет, чем есть. Целью совершенствования опрошенные врачи ( $64.7 \pm 11.6$  %) видят повышение уровня здоровья детей и подростков.

Для реализации своевременной профилактики нарушений репродуктивной сферы несовершеннолетних опрошенные гинекологи участвуют в таких мероприятиях, как профилактический осмотр –  $76.5 \pm 10.3$  %; проведение дистанционных лекций для родителей и подростков –  $5.9 \pm 5.7$  %; проведение очных лекций для пациентов и родителей –  $11.8 \pm 7.8$  %; проведение индивидуального консультирования родителей и подростков –  $58.8 \pm 11.9$  %. Важно заявление опрошенных о недостаточности междисциплинарных взаимодействий специалистов по вопросам репродуктивного здоровья и формирования нормального репродуктивного поведения детей и подростков в процессе проведения образовательных мероприятий (лекций, круглых столов и т.п.).

Врачи – акушеры-гинекологи отмечают, что родители (или другие законные представители) пациентов ежедневно или несколько раз в неделю (по  $11.8 \pm 7.8$  % соответственно) обращаются с запросом на консультирование по вопросам репродуктивного поведения и полового воспитания; не более 1 раза в неделю –  $23.5 \pm 10.3$  %; 1–3 раза в месяц –  $11.8 \pm 7.8$  %; обращаются

advancement as an improving the level of health of children and adolescents.

To implement timely prevention of reproductive disorders in minors, surveyed gynecologists participate in such activities as a preventive examination –  $76.5 \pm 10.3$ %; delivering lectures for parents and adolescent online –  $5.9 \pm 5.7$ %; face-to-face lectures for patients and parents –  $11.8 \pm 7.8$ %; individual counseling for parents and adolescents –  $58.8 \pm 11.9$ %. Of importance is the statement of the respondents about the insufficiency of interdisciplinary interactions between experts on the reproductive health issues and formation of normal reproductive behavior of children and adolescents in the course of educational events (lectures, roundtable discussions, etc.).

Obstetrician-gynecologists claim that parents (or other legal representatives) of patients daily or several times a week (both categories accounted for  $11.8 \pm 7.8$ %, respectively) request counseling on reproductive behavior and sex education; no more than once a week –  $23.5 \pm 10.3$ %; 1–3 times a month –  $11.8 \pm 7.8$ %; rarely request –  $5.9 \pm 5.7$ %; do not request –  $17.6 \pm 9.2$ %. Specialists encounter a more intense request from adolescent girls themselves: they seek gynecologist's attention for issues of reproductive behavior (including preventive counseling on STIs, contraception, etc.) daily –  $23.5 \pm 10.3$  or several times a week –  $29.4 \pm 11.1$ %.

Almost unanimously, obstetrician-gynecologists declare the possibility of preserving the reproductive health of women by carrying out timely preventive work with girls since birth and their parents, to form appropriate reproductive behavior (answer types: "yes" –  $82.4 \pm 9.2$ %; "more yes than no" –  $17.6 \pm 9.2$ %). The majority ( $41.2 \pm 11.9$ %) of obstetrician-gynecologists have enough time during face-to-face attendance to provide preventive measures (conversations) on topics of reproductive health and behavior for minors and their parents or other legal representatives. By  $23.5 \pm 10.3$  respondents, respectively, characterized the possibilities for carrying out preventive measures (conversations) as "enough, but not always" and "always not enough." The majority of obstetrician-gynecologists ( $58.8 \pm 11.9$ %) discuss prevention issues at every attendance; a question put by a patient or parent gives start to discussion is the cause for conducting a conversation in  $17.6 \pm 9.2$ % of cases; in  $23.5 \pm 10.3$ % of cases, specialists do not talk on prevention. Typically, obstetrician-gynecologists carve out 5 min or more ( $41.2 \pm 11.9$ %) for preventive conversations with minors and their legal representatives (parents) on issues of reproductive health and behavior; make

редко –  $5.9 \pm 5.7\%$ ; не обращаются –  $17.6 \pm 9.2\%$ . Более интенсивный запрос специалисты встречают со стороны самих девушек-подростков: они обращаются к гинекологам по вопросам репродуктивного поведения (включая профилактическое консультирование по вопросам ИППП, контрацепции и т.п.) ежедневно –  $23.5 \pm 10.3\%$  или несколько раз в неделю –  $29.4 \pm 11.1\%$ .

Практически единогласно врачи – акушеры-гинекологи заявляют о возможности сохранения репродуктивного здоровья женщин путем проведения своевременной профилактической работы с девочками с рождения и их родителями для формирования приемлемого репродуктивного поведения (варианты ответов: «да» –  $82.4 \pm 9.2\%$ ; «больше да, чем нет» –  $17.6 \pm 9.2\%$ ). У большинства ( $41.2 \pm 11.9\%$ ) врачей – акушеров-гинекологов достаточно времени на очном приеме для проведения профилактических мероприятий (бесед) на темы репродуктивного здоровья и поведения для несовершеннолетних пациенток и их родителей или других законных представителей. По  $23.5 \pm 10.3\%$  соответственно характеризовали возможности для проведения профилактических мероприятий (бесед) как «достаточно, но не всегда» и «всегда недостаточно». Большинство врачей – акушеров-гинекологов ( $58.8 \pm 11.9\%$ ) проводят профилактические беседы на каждом приеме; поступление вопроса от пациента или родителя является мотивом к проведению беседы в  $17.6 \pm 9.2\%$  случаях; в  $23.5 \pm 10.3\%$  случаях специалисты не проводят профилактические беседы. Обычно акушеры-гинекологи выделяют 5 мин и более ( $41.2 \pm 11.9\%$ ) на профилактические беседы с несовершеннолетними пациентками и их законными представителями (родителями) по вопросам репродуктивного здоровья и поведения; более 2, но менее 5 мин –  $29.4 \pm 11.1\%$ ; не выделяют, в связи с недостатком времени –  $11.8 \pm 7.8\%$ ; не выделяют, так как не считают это своей обязанностью –  $5.9 \pm 5.7\%$  опрошенных врачей.

Основными темами профилактических бесед с девочками до 3 лет и их родителями являются вопросы гигиены –  $88.2 \pm 7.8\%$  и особенности анатомии и физиологии репродуктивной сферы –  $41.2 \pm 11.9\%$ . В период с 3 до 10 лет по-прежнему актуальны вопросы личной гигиены ( $70.6 \pm 11.1\%$ ) и анатомии и физиологии репродуктивной сферы ( $47.1 \pm 12.1\%$ ), также закономерно усиливается интерес целевой аудитории к вопросам полового созревания ( $41.2 \pm 11.9\%$ ). Подростковый возраст (с 10 до 18 лет) можно считать самым насыщенным и разнообразным по количеству профилак-

more than 2, but less than 5 min –  $29.4 \pm 11.1\%$ ; do not carve out time for it due to lack of time –  $11.8 \pm 7.8\%$ ; do not carve out time for it because they do not consider it to be their responsibility –  $5.9 \pm 5.7\%$  of surveyed doctors.

The main topics of preventive conversations with girls under 3 years and their parents are issues of hygiene –  $88.2 \pm 7.8\%$ , and features of the anatomy and physiology of the reproductive system –  $41.2 \pm 11.9\%$ . In the period from 3 to 10 years, issues of personal hygiene ( $70.6 \pm 11.1\%$ ), and anatomy and physiology of the reproductive system ( $47.1 \pm 12.1\%$ ) are still relevant; the interest of the target audience in issues of puberty is also expected increasing ( $41.2 \pm 11.9\%$ ). Adolescence (from 10 to 18 years) can be considered the richest and diverse in the number of preventive topics for discussion that are offered for patients and their parents: issues of personal hygiene and prevention of STIs, including HIV infection –  $82.4 \pm 9.2\%$  each; questions of anatomy and physiology of the reproductive system remain relevant ( $76.5 \pm 10.3\%$ ); also  $76.5 \pm 10.3\%$  of conversations are dedicated to the topic of family planning and contraception; features of puberty are discussed in  $70.6 \pm 11.1\%$  of cases.

Parents of girls and adolescent girls and the latter themselves rarely request online consultation on prevention issues ( $29.4 \pm 11.1\%$ ) or do not request at all ( $41.2 \pm 11.9\%$  – parents;  $52.9 \pm 12.1\%$  – adolescent girls); parents seek medical advice several times a week –  $11.8 \pm 7.8\%$ ; adolescent girls –  $5.9 \pm 5.7\%$ ; no more than once a week or several times a month –  $11.8 \pm 7.8\%$ . The surveyed specialists noted that in  $5.9 \pm 5.7\%$  of cases they consult their acquaintances. It is expected that consultations are carried out rarely –  $23.5 \pm 10.3\%$ , no more than once a week –  $11.8 \pm 7.8\%$ ; several times a week –  $5.9 \pm 5.7\%$ ; in  $58.8 \pm 11.9\%$  of cases, online consultation is given, i.e. the demand for consultations exceeds the existing supply. At the same time, the surveyed obstetrician-gynecologists believe that to improve the health of children and adolescents, it is advisable to use the possibilities of online consultation of parents –  $76.5 \pm 10.3\%$ .

Providing the population with access to high-quality and reliable information on issues of reproductive health and behavior via internet resources, according to the majority of surveyed obstetrician-gynecologists, is not only advisable as a method of carrying out preventive work (“yes” –  $70.5 \pm 11.1\%$ ; “rather advisable, than no” –  $11.8 \pm 7.8\%$ ), but also in general optimizes the reproductive health care system for children and adolescents –  $41.2 \pm 11.9\%$  (“more yes than no” –  $35.3 \pm 11.6\%$ ).  $11.8 \pm 7.8\%$  of

тических тем для обсуждения, которые предлагаются пациенткам и их родителям: вопросы личной гигиены и профилактики ИППП, включая ВИЧ-инфекцию – по  $82.4 \pm 9.2$  %; сохраняют актуальность вопросы анатомии и физиологии репродуктивной системы ( $76.5 \pm 10.3$  %); также  $76.5 \pm 10.3$  % бесед проводится на тему планирования семьи и контрацепции; особенности полового созревания обсуждают в  $70.6 \pm 11.1$  % случаев.

Родители девочек и девушек-подростков и сами девушки-подростки с запросами на дистанционное консультирование по вопросам профилактики обращаются редко ( $29.4 \pm 11.1$  %) или не обращаются совсем ( $41.2 \pm 11.9$  % – родители;  $52.9 \pm 12.1$  % – девушки-подростки); несколько раз в неделю обращаются родители –  $11.8 \pm 7.8$  %, девушки-подростки –  $5.9 \pm 5.7$  %; не более 1 раза в неделю или несколько раз в месяц –  $11.8 \pm 7.8$  %. Опрошенные специалисты отметили, что в  $5.9 \pm 5.7$  % случаев консультируют своих знакомых. Ожидаемо, что консультации проводятся редко –  $23.5 \pm 10.3$  %, не более 1 раза в неделю –  $11.8 \pm 7.8$  %; несколько раз в неделю –  $5.9 \pm 5.7$  %; в  $58.8 \pm 11.9$  % случаев дистанционное консультирование не проводится, т.е. спрос на консультации превышает существующее предложение. Вместе с тем опрошенные врачи – акушеры-гинекологи считают, что для укрепления здоровья детей и подростков целесообразно использовать возможности дистанционного консультирования родителей –  $76.5 \pm 10.3$  %.

Предоставление доступа населению к качественной и достоверной информации по вопросам репродуктивного здоровья и поведения через интернет-ресурсы, по мнению большинства опрошенных акушеров-гинекологов, не просто целесообразно в качестве метода проведения профилактической работы («да» –  $70.5 \pm 11.1$  %; «скорее целесообразно, чем нет» –  $11.8 \pm 7.8$  %), но и оптимизирует систему охраны репродуктивного здоровья детей и подростков в целом –  $41.2 \pm 11.9$  % («больше да, чем нет» –  $35.3 \pm 11.6$  %). Свою готовность участвовать в разработке электронных материалов по вопросам репродуктивного поведения девочек и девушек-подростков для размещения на электронном ресурсе отметили  $11.8 \pm 7.8$  % участников опроса. В основном ( $58.8 \pm 11.9$  %) опрошенные врачи не готовы к такой работе, что объясняют недостаточностью времени для нее.

В результате анализа полученных данных отмечаются тенденции в поведении девушек-подростков: вопросы, касающиеся репродук-

surveyed specialists noted their readiness to participate in the development of electronic materials on issues of reproductive behavior of girls and adolescent girls for posting on an electronic resource. Mostly ( $58.8 \pm 11.9$  %) the surveyed doctors are not ready for such work, which they explain by lack of time for it.

As a result of the analysis of the data obtained, trends in the behavior of adolescent girls are noted: adolescent girls predominantly prefer to resolve reproductive health issues in the family circle, but every fifth girl does not discuss issues of reproductive health and behavior with anyone. Given the poor awareness of STIs, ways of infection and methods of their prevention, adolescent girls are mostly afraid of contracting STIs. The intention of adolescent girls to see a doctor first if they suspect a reproductive disease can be considered a positive trend. Most often, adolescent girls visit an obstetrician-gynecologist once a year, which meets modern requirements, and the leading cause for visiting is prevention. Adolescent girls are predominantly loyal of premarital and polygamous relationships. The main motives for early sexual onset are feeling of falling in love and interest or curiosity. Safe satisfying such interest by providing timely and reliable information can be considered as a way to modify the reproductive behavior of adolescents. Every second adolescent girl ignores reliable methods of contraception and protection against STIs. The intention to terminate a pregnancy was revealed if it occurs earlier than planned. There is a tendency to implement reproductive life plans at a later age, and some respondents also state that they do not want to have a pregnancy during their life.

Obstetrician-gynecologists working with girls and adolescent girls note the high interest of both parents of girls and adolescent girls and the patients themselves, in preventive counseling on the formation of an appropriate reproductive behavior. Obstetricians and gynecologists confidently state that maintaining reproductive health is possible with timely and high-quality preventive work with minors and their parents (or other legal representatives) on the topic of reproductive behavior. Specialists note that they have the opportunity to deal with prevention issues during an attendance from 2 to 5 min or more. However, some obstetrician-gynecologists do not carve out time for preventive consultation, as they do not consider it their responsibility. The surveyed doctors are involved in conducting preventive routine checkups of the population and front-line work with patients and their legal representatives (including parents) and rarely allocate time for orga-

тивного здоровья, девушки-подростки преимущественно предпочитают решать в кругу семьи, но каждая пятая девушка ни с кем не обсуждает вопросы репродуктивного здоровья и поведения. Учитывая недостаточную осведомленность об ИППП, путях заражения и способах его профилактики, девушки-подростки в основном опасаются заразиться ИППП. Позитивной тенденцией можно считать намерение девушек-подростков обратиться в первую очередь к врачу при подозрении на наличие заболевания репродуктивной сферы. Чаще всего девушки-подростки посещают врача акушера-гинеколога 1 раз в год, что соответствует современным требованиям, причем ведущий мотив посещения – профилактический. Девушки-подростки преимущественно лояльны к добрачным и полигамным отношениям. Основные мотивы раннего полового дебюта – чувство влюбленности и интерес или любопытство. Безопасное удовлетворение такой заинтересованности путем предоставления своевременной и достоверной информации можно рассматривать как способ модификации репродуктивного поведения подростков. Каждая вторая девушка игнорирует надежные способы контрацепции и защиты от ИППП. Выявлено намерение прервать беременность при ее наступлении ранее запланированного времени. Наблюдается тенденция к реализации репродуктивных планов в более позднем возрасте, также часть респондентов заявляют о нежелании иметь беременность в течение жизни.

Врачи – акушеры-гинекологи, работающие с девочками и девушками, отмечают высокий интерес как родителей девочек и девушек-подростков, так и самих пациенток к профилактическому консультированию по вопросам формирования правильного репродуктивного поведения. Акушеры-гинекологи уверенно заявляют, что сохранение репродуктивного здоровья возможно при своевременной и качественной профилактической работе с несовершеннолетними и их родителями (или другими законными представителями) на тему репродуктивного поведения. Специалисты отмечают, что имеют возможность на приеме заниматься вопросами профилактики от 2 до 5 мин и более. Однако некоторые акушеры-гинекологи не выделяют время для профилактического консультирования, так как не считают это своей обязанностью. Опрошенные врачи участвуют в проведении профилактических осмотров населения и непосредственной работе с пациентами и их законными представи-

nizing and conducting informational conversations and lectures offline or online for patients and parents, as well as training events for colleagues in allied health professions on the issue of reproductive health and behavior.

## CONCLUSION

According to the survey results, to maintain reproductive and sexual health, adolescent girls need information and comprehensive preventive education on reproductive health issues which will give them the knowledge and skills to determine their behavior. Currently, according to assessment of the obstetrician-gynecologists, the request for online counseling of parents of girls and adolescent girls on issues of reproductive health and behavior is popular, however, doctors do not always have the opportunity to carry out this type of counseling, although they assume that these measures can be one of the ways to reproductive health promotion of children and adolescents. According to the majority of experts surveyed, providing information to the population on reproductive health and reproductive behavior via the Internet can be considered as an effective and convenient way for the target audience to carry out preventive work in the system of reproductive health care of girls and adolescents. This approach makes it possible to effectively and timely ensure the preservation of the reproductive health of children and adolescents, thereby increasing the demographic potential of the country.

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

телями (в том числе родителями) и редко выделяют время для организации и проведения информационных бесед и лекций очно или онлайн для пациентов и родителей, а также обучающих мероприятий для коллег смежных специальностей по вопросам репродуктивного здоровья и поведения.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Согласно результатам опроса для сохранения репродуктивного и сексуального здоровья девушкам-подросткам необходимы информация и комплексное профилактическое образование по вопросам репродуктивного здоровья, которое даст им знания и навыки для определения своего поведения. В настоящее время, по оценке вра-

чей – акушеров-гинекологов, популярен запрос на дистанционное консультирование родителей девочек и девушек-подростков по вопросам репродуктивного здоровья и поведения, однако у врачей не всегда есть возможность осуществить данный вид консультирования, хотя они и предполагают, что эти меры могут быть одним из способов укрепления репродуктивного здоровья детей и подростков. По мнению большинства опрошенных специалистов, предоставление информации населению по вопросам репродуктивного здоровья и репродуктивного поведения

через сеть Интернет можно рассматривать в качестве эффективного и удобного для целевой аудитории способа проведения профилактической работы в системе охраны репродуктивного здоровья девочек и девушек-подростков. Такой подход позволяет эффективно и своевременно обеспечить сохранение репродуктивного здоровья детей и подростков, тем самым повысить демографический потенциал страны.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Ерофеева Л.В. Особенности репродуктивного поведения и репродуктивного выбора современной популяции подростков // Фундаментальные исследования. 2011;10-2: 298-301.
- Куликов А.М., Медведев В.П., Кротин П.Н. Современные медико-социальные технологии охраны здоровья подростков и молодежи // Вестник Санкт-Петербургской медицинской академии последипломного образования. 2010;2:106-114.
- Лукашева О.В., Борцов В.А., Хмельницкая Я.В. Мнение врачей-педиатров и родителей девочек и девушек-подростков о целесообразности совершенствования системы охраны репродуктивного здоровья девочек и девушек-подростков // Пульс. 2021;3(8):138-143.
- Макаров К.Ю., Соколова Т.М., Мухамедшина В.Р. и др. Репродуктивное и контрацептивное поведение девушек-студенток высших учебных заведений // Медицина и образование в Сибири. 2015;3:26.
- AAP publication reaffirmed, May, 2004 / American Academy of Pediatrics; American Academy of Family Physicians; American College of Obstetricians and Gynecologists; NAACOG-The Organization for Obstetric, Gynecologic and Neonatal Nurses; National Medical Association // Pediatrics. 2005;116(1):287. DOI: 10.1542/peds.2005-0926.
- Bailey J.V., Murray E., Rait G. et al. Interactive computer-based interventions for sexual health promotion // Cochrane Database Syst. Rev. 2010;9:CD006483. DOI: 10.1002/14651858.CD006483.pub2.
- Chernick L.S., Chun T.H., Richards R. Sex without contraceptives in a multicenter study of adolescent emergency department patients // Acad. Emerg. Medicine. 2020;27(4):283-290.
- Marcell A.V., Burstein G.R. Committee on Adolescence. Sexual and reproductive health care services in the pediatric setting // Pediatrics. 2017;140(5):e20172858. DOI: 10.1542/peds.2017-2858.

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

**Лукашева Ольга Владимировна** – аспирант кафедры общественного здоровья и здравоохранения ФГБОУ «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Новосибирск, Россия. ORCID: оооо-ооо2-9667-7301.

## REFERENCES

- Erofeeva L.V. Features of reproductive behaviour and reproductive choice of the up-to-day adolescent population of teenagers. *Fundamental Research*. 2011;10-2:298-301. (In Russ.)
- Kulikov A.M., Medvedev V.P., Krotin P.N. The modern medico-social technology in adolescents and youth health care. *Herald of St. Petersburg Medical Academy of Postgraduate Education*. 2010;2:106-114. (In Russ.)
- Lukasheva O.V., Bortsov V.A., Khmelnitskaya Y.V. Opinion of pediatricians and parents of girls and teenage girls on the performance of improving the reproductive health system of girls and adolescent girls. *Pulse*. 2021;3(8):138-143. (In Russ.)
- Makarov K.Yu., Sokolova T.M., Mukhamedshina V.R. et al. Reproductive and contraceptive behavior of female students of higher educational institutions. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2015;3:26. (In Russ.)
- AAP publication reaffirmed, May, 2004 / American Academy of Pediatrics; American Academy of Family Physicians; American College of Obstetricians and Gynecologists; NAACOG-The Organization for Obstetric, Gynecologic and Neonatal Nurses; National Medical Association. *Pediatrics*. 2005;116(1):287. DOI: 10.1542/peds.2005-0926.
- Bailey J.V., Murray E., Rait G. et al. Interactive computer-based interventions for sexual health promotion. *Cochrane Database Syst. Rev.* 2010;9:CD006483. DOI: 10.1002/14651858.CD006483.pub2.
- Chernick L.S., Chun T.H., Richards R. Sex without contraceptives in a multicenter study of adolescent emergency department patients. *Acad. Emerg. Medicine*. 2020;27(4):283-290.
- Marcell A.V., Burstein G.R. Committee on Adolescence. Sexual and reproductive health care services in the pediatric setting. *Pediatrics*. 2017;140(5):e20172858. DOI: 10.1542/peds.2017-2858.

## ABOUT THE AUTHORS

**Olga V. Lukasheva** – Post-graduate Student, Department of Public Health and Health Care, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0002-9667-7301.

**Igor O. Marinkin** – Dr. Sci. (Med.), Professor, Head, Department of Obstetrics and Gynecology, Rector,

**Маринкин Игорь Олегович** – д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой акушерства и гинекологии, ректор ФГБОУ «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Новосибирск, Россия. ORCID: oooo-ooo2-9409-4823.

**Макаров Константин Юрьевич** – д-р мед. наук, профессор кафедры акушерства и гинекологии, декан факультета повышения квалификации и профессиональной переподготовки врачей ФГБОУ «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Новосибирск, Россия. ORCID: oooo-ooo3-3574-6382.

**Борцов Виктор Анатольевич** – д-р мед. наук, доцент, профессор кафедры общественного здоровья и здравоохранения ФГБОУ «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Новосибирск, Россия. ORCID: oooo-ooo1-6183-2749.

Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia. ORCID: oooo-ooo2-9409-4823.

**Konstantin Yu. Makarov** – Dr. Sci. (Med.), Professor, Department of Obstetrics and Gynecology, Faculty of Advanced Training and Professional Retraining of Doctors, Dean, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia. ORCID: oooo-ooo3-3574-6382.

**Viktor A. Bortsov** – Dr. Sci. (Med.), Associate Professor, Professor, Department of Public Health and Health Care, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia. ORCID: oooo-ooo1-6183-2749.



## Пациент с артериальной гипертензией в поликлинике: как использовать профилактический инструментарий

Н.В. Корнеева, Е.С. Гаврилов, А.Л. Югай, С.П. Павлова, Т.В. Могила, В.В. Дубинина, И.В. Ли

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

### Аннотация

**Введение.** Врачам первичного звена здравоохранения сложно пользоваться в условиях ограниченного времени приема многосторонними приказами по профилактике и диспансерному наблюдению, клиническими рекомендациями по артериальной гипертензии (АГ) у взрослых. В то же время соблюдение основных временных характеристик приказов и клинических рекомендаций является важным для эффективной работы с пациентами с АГ.

**Цель исследования.** Изучить некоторые аспекты работы врачей-терапевтов участковых в реальной поликлинической практике по скринингу и наблюдению пациентов с АГ и представить простые алгоритмы маршрутизации таких пациентов, являющиеся синтезом клинических рекомендаций по АГ и основных приказов.

**Материалы и методы.** Одномоментно, однократно в трех поликлиниках г. Хабаровска проведено анкетирование пациентов, ожидающих приема к терапевту. В анкетирование были включены все пациенты, находящиеся на момент исследования в очереди, вне зависимости от пола, возраста и цели визита. Анкета содержала 5 вопросов: о наличии артериального давления (АД) 140/90 мм рт. ст. и выше; установленном диагнозе АГ; принимаемых лекарственных препаратах (без конкретизации какие и сколько) для коррекции высокого АД; у какого врача наблюдается с диагнозом АГ и цель настоящего визита в поликлинику. Из амбулаторных карт опрошенных пациентов уточнили информацию об измерении АД в этот день на приеме; наличии ранее установленного диагноза АГ; внесении АГ в структуру диагноза в этот день; назначении ранее лечения АГ; достижении контроля АД; соблюдении стандарта обследования по АГ; дате последнего посещения по причине АГ.

**Результаты.** Проанализированы ответы 149 пациентов. Соотношение мужчины/женщины – 1:4 (31:118 чел.), средний возраст  $64.4 \pm 1.3$  года. У 77.2 % (115 чел.) АД когда-либо повышалось до 140/90 мм рт. ст. и выше, из них диагноз АГ установлен у 103 (69 %) опрошенных. Наблюдаются у врача 87 (84.5 %) пациентов с установленным диагнозом АГ. АД на терапевтическом приеме было измерено у 95 чел. из 149 (63.8 %) и у 74 чел. (71.8 %) из 103, имеющих диагноз АГ. В день обращения АГ в структуру диагноза была внесена лишь у 42.7 % с диагнозом АГ. В 39 % случаев выявили несоблюдение минимальной необходимой кратности посещения, которая составила менее 1 раза в год.

**Заключение.** Важным в достижении целевых показателей контроля АГ является соблюдение временных интервалов работы с пациентами с АГ: установление диагноза, исключение вторичной АГ, взятие под диспансерное наблюдение, достижение контроля АД, своевременное направление на консультацию кардиолога. Предложенные алгоритмы действий врача-терапевта участкового помогут обеспечить правильную маршрутизацию пациентов с АГ, соблюдение стандарта ведения таких больных, достижение контроля АД и снижение рисков развития и прогрессирования сердечно-сосудистых заболеваний.

**Образец цитирования:** Корнеева Н.В., Гаврилов Е.С., Югай А.Л., Павлова С.П., Могила Т.В., Дубинина В.В., Ли И.В. Пациент с артериальной гипертензией в поликлинике: как использовать профилактический инструментарий // Journal of Siberian Medical Sciences. 2024;8(1):18-28. DOI: 10.31549/2542-1174-2024-8-1-18-28

Поступила в редакцию 24.04.2023  
Прошла рецензирование 15.05.2023  
Принята к публикации 15.06.2023

Автор, ответственный за переписку  
Корнеева Наталья Вячеславовна: ФГБУ ВО «Дальневосточный государственный медицинский университет» Минздрава России. 680000, г. Хабаровск, ул. Муравьева-Амурского, 35.  
E-mail: gladkova1982@mail.ru

Received 24.04.2023  
Revised 15.05.2023  
Accepted 15.06.2023

Corresponding author  
Natalia V. Korneeva: Far Eastern State Medical University, 35, Muravyev-Amurskii str., Khabarovsk, 680000, Russia.  
E-mail: gladkova1982@mail.ru

## A patient with arterial hypertension in an outpatient clinic: how to use preventive tools

N.V. Korneeva, E.S. Gavrilov, A.L. Yugai, S.P. Pavlova, T.V. Mogila, V.V. Dubinina, I.V. Li

Far Eastern State Medical University, Khabarovsk, Russia

### ABSTRACT

**I n t r o d u c t i o n .** It is difficult for primary care physicians to use, under conditions of limited consultation time, multi-page orders for prevention and outpatient follow-up, clinical guidelines on arterial hypertension (AH) in adults. At the same time, compliance with the basic time characteristics of orders and clinical guidelines is important for effective management of hypertension patients.

**A i m .** To study some aspects of the work of a general practitioner in real life outpatient practice in screening and following-up of patients with hypertension and to present simple algorithms for routing such patients, which are a synthesis of clinical guidelines for hypertension and basic orders.

**M a t e r i a l s a n d m e t h o d s .** A survey of patients waiting for an attendance of a general practitioner was performed simultaneously, once in three outpatient clinics of Khabarovsk. The survey included all patients waiting for an appointment at the time of the study, regardless of gender, age and purpose of the visit. A questionnaire contained 5 questions: about the presence of blood pressure (BP) up to 140/90 mm Hg and higher; established diagnosis of AH; administered medications (without specifying which ones and their dosage) to correct high BP; by which specialist he is followed-up with the diagnosis of AH, and what the purpose of this visit to the outpatient clinic is. From the outpatient records of the interviewed patients, information about BP measurement that day at the attendance was obtained; presence of a previously established diagnosis of AH; adding AH to the diagnosis structure that day; previously prescribed treatment for AH; achieving BP targets; compliance with the standard of examination for AH; date of last visit due to hypertension.

**R e s u l t s .** The responses of 149 patients were analyzed. A male/female ratio was 1:4 (31:118 people), average age was  $64.4 \pm 1.3$  years. In 77.2% (115 people), BP had ever increased to 140/90 mm Hg and higher, of which the diagnosis of hypertension was established in 103 (69%) respondents. 87 (84.5%) patients diagnosed AH are followed-up by a doctor. At the doctor's appointment, BP was measured in 95 people out of 149 (63.8%), and in 74 people (71.8%) out of 103 diagnosed with AH. On the appointment day, AH was included in the diagnosis structure only in 42.7% patients with an already established diagnosis of AH. In 39% of cases, non-compliance with the minimum required frequency of visiting a doctor for AH was revealed, which was less than once a year.

**C o n c l u s i o n .** To achieve the target BP level in AH management is important to comply with the time intervals while working with AH patients: establishing a diagnosis, excluding secondary AH, initiating the outpatient follow-up, achieving the BP targets and timely referral to a cardiologist. The algorithms proposed for a general practitioner will help ensure the correct routing of patients with AH, compliance with the standard of management of such patients, achieving BP control and reducing the risks of development and progression of cardiovascular diseases.

**Keywords:** arterial hypertension, outpatient clinic, preventive medical examinations (check-ups), outpatient screening, outpatient follow-up, algorithms.

**Citation example:** Korneeva N.V., Gavrilov E.S., Yugai A.L., Pavlova S.P., Mogila T.V., Dubinina V.V., Li I.V. A patient with arterial hypertension in an outpatient clinic: how to use preventive tools. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2024;8(1):18-28. DOI: 10.31549/2542-1174-2024-8-1-18-28

### ВВЕДЕНИЕ

Артериальная гипертензия (АГ) является наиболее значительным фактором риска (ФР) развития и прогрессирования сердечно-сосудистых заболеваний и их осложнений (инфаркта и инсульта). В отличие от прекращения курения и нормализации показателей липидного профиля, являющимися следующими по значимости глобальными ФР, достижение целей при коррекции АГ возможно максимально быстро и эффективно при высоком комплаенсе и отсутствии клинической инертности врача [1]. Поэтому так важно

### INTRODUCTION

Arterial hypertension (AH) is the most significant risk factor (RF) for the development and progression of cardiovascular diseases and their complications (myocardial infarction and stroke). In contrast to smoking cessation and lipid profile normalization, which are the next most important global risk factors, achieving BP targets is as quickly and effectively as possible in high compliance and the absence of clinical inertia of a doctor [1]. Therefore, it is so important to pay special attention to early diagnosis and effective control of AH. For this purpose, doctors

уделять особое внимание ранней диагностике и эффективному контролю именно АГ. Для этого в распоряжении врачей имеются алгоритмы диагностики, клинические рекомендации и стандарты медицинской помощи взрослым при АГ. Существует большое количество доступных и эффективных лекарственных средств с различными механизмами действия для эффективного снижения артериального давления (АД). Масштабы заболеваемости и простота диагностики обосновывают ключевую роль в вопросах выявления и лечения АГ врачей первичного звена здравоохранения. Для этого в поликлиниках имеется целый спектр профилактических мероприятий: от профилактических осмотров и диспансеризации определенных групп взрослого населения в рамках Приказа Минздрава России от 27.04.2021 № 404н до диспансерного наблюдения за взрослыми в рамках Приказа Минздрава России от 15.03.2022 № 168н, которые врач первичного звена должен активно использовать для достижения глобальной цели здравоохранения – снижения на 1/3 показателя преждевременной смертности от основных неинфекционных заболеваний [2].

Врачам первичного звена, помимо грамотного использования профилактического инструментария, необходимо применять простые алгоритмы диагностики и наблюдения за пациентами с АГ, акцентируя внимание на ключевых временных показателях эффективности работы с такими больными. Современным врачам, пережившим пандемию COVID-19, когда из-за значительных перегрузок в первичном звене здравоохранения в 2020, 2021, феврале 2022 г. были приостановлены профилактические и скрининговые программы, сложно вновь начать использовать их в своей повседневной работе, тем более что за это время в отрасль пришли молодые специалисты – выпускники вузов, которые были ориентированы в основном на острую инфекционную патологию и не имели навыков грамотного использования этих программ в своей практике [3–5]. Молодым специалистам сложно понять, как эти программы соотносятся с клиническими рекомендациями.

## ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучение некоторых аспектов работы участковых терапевтов в реальной поликлинической практике по скринингу и наблюдению пациентов с АГ и представление простых алгоритмов маршрутизации таких пациентов, являющихся синтезом клинических рекомендаций и основных приказов.

have at their disposal diagnostic algorithms, clinical guidelines and standards of medical care for adults with AH. There are a number of available and efficacious drugs with different mechanisms of action to effectively lower blood pressure (BP). The high incidence and ease of diagnosis justify the key role of primary care physicians in diagnosis and treatment of AH. For this purpose, outpatient clinics have a wide range of preventive measures: from preventive examinations and screening for certain groups of the adult population in the frame of Order of the Ministry of Health of Russia dated April 27, 2021 No. 404n to the outpatient follow-up of adults in the frame of Order of the Ministry of Health of Russia dated March 15, 2022 No. 168n, which the primary care physician should actively use to achieve the global health goal of reducing premature mortality due to main non-communicable diseases by 1/3 [2].

Primary care physicians, in addition to the competent use of preventive tools, need to use simple algorithms for diagnosis and follow-up of patients with AH, focusing on key time indicators of the effectiveness of working with such patients. For modern doctors who have survived the COVID-19 pandemic, when preventive and screening programs were suspended due to significant overloads in primary health care in 2020, 2021, and February 2022, it is difficult to start using them again in their daily work, moreover, during that time young specialists came into office – the university graduates who were mainly focused on acute infectious pathology and did not have skills to competently use these programs in their practice [3–5]. It is difficult for young specialists to understand how these programs relate to clinical guidelines.

## AIM OF THE RESEARCH

The study of some aspects of the local general practitioners' work in real life outpatient practice for screening and following-up patients with AH, and the presentation of simple algorithms for routing such patients, which are a synthesis of clinical guidelines and basic orders.

## MATERIALS AND METHODS

Simultaneously, once in three outpatient clinics of Khabarovsk which are the clinical bases of the Department of Faculty and Outpatient Therapy with a Course of Endocrinology at the Far Eastern State Medical University a survey was performed for patients waiting for an appointment to the general practitioner. The survey included all patients waiting for an appointment at the time of the study, regardless of gender, age and purpose of the visit. The ques-

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Одномоментно, однократно в трех поликлиниках г. Хабаровска, являющихся клиническими базами кафедры факультетской и поликлинической терапии с курсом эндокринологии Дальневосточного государственного медицинского университета, было проведено анкетирование пациентов, ожидающих приема к терапевту. В анкетирование были включены все пациенты, находящиеся на момент исследования в очереди, вне зависимости от пола, возраста и цели визита. Анкета содержала 5 вопросов: три с вариантами ответов да/нет (Повышается ли у вас АД до 140/90 мм рт. ст. и выше? Был ли ранее вам постановлен диагноз АГ? Принимает ли лекарственные препараты (без конкретизации какие и сколько) для коррекции высокого АД?) и два открытых (У какого врача вы наблюдаетесь с диагнозом АГ? Цель настоящего визита в поликлинику?).

Далее из амбулаторных карт опрошенных пациентов уточнили информацию о том, было ли измерено АД на приеме в этот день; был ли ранее постановлен диагноз АГ данному пациенту; если имела место АГ, то была ли она внесена в структуру диагноза в этот день; назначено ли лечение АГ ранее; был ли достигнут контроль АД; выполнен ли стандарт обследования при АГ; дата последнего посещения по причине АГ.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Проанализированы ответы 149 пациентов, которые обратились на прием к врачам-терапевтам. Соотношение мужчин и женщин составило 1:4 (31:118 чел.), средний возраст  $64.4 \pm 1.3$  года. У 77.2 % (115 чел.) АД когда-либо повышалось до 140/90 мм рт. ст. и выше, из них диагноз АГ установлен у 103 (69 %) опрошенных. Антигипертензивная терапия была назначена 102 пациентам из 103 (99 %), при этом регулярно принимают препараты 89 чел. из 102 (87.3 %). Из лиц с диагнозом АГ (103 чел.) наблюдаются у врачей по данному поводу 87 (84.5 %), из них большинство у терапевта – 67 (77 %) чел., у кардиолога – 18 (20.7 %) и 2 (2.3 %) чел. – одновременно у терапевта и кардиолога.

Большая часть пациентов – 140 чел. из 149 – в день анкетирования обратились в поликлинику по поводу различных терапевтических ситуаций, не связанных с АГ. Артериальное давление на терапевтическом приеме было измерено у 95 чел. (63.8 %) из 149 и у 74 чел. (71.8 %) из 103, имеющих диагноз АГ. В день обращения АГ в структуру диагноза была внесена лишь у 44 пациентов из 103, имеющих установленный диагноз

tionnaire contained 5 questions: three with yes/no answer options (Does your BP rise to 140/90 mm Hg or higher? Have you previously been diagnosed with AH? Are you taking medications (without specifying which ones and their dosage) for BP control?) and two open ones (Which a specialist are you being followed-up with diagnosis of hypertension? What is the purpose of that visit to the outpatient clinic?).

Next, from the outpatient records of the interviewed patients, we obtained information about whether BP was measured at the appointment that day; whether this patient was previously diagnosed with AH; if AH occurred, was it included in the diagnosis structure on that day; whether treatment for AH has been prescribed previously; whether BP targets were achieved; whether the standard of examination for AH has been met; what was the date of the last visit the general practitioner due to AH.

## RESULTS

The answers of 149 patients who sought general practitioners attention were analyzed. A male/female ratio was 1:4 (31:118 people), average age was  $64.4 \pm 1.3$  years. In 77.2% (115 people), BP had ever increased to 140/90 mm Hg and higher, of which hypertension diagnosis was established in 103 (69%) respondents. Antihypertensive therapy was prescribed to 102 out of 103 patients (99%); at this time, 89 patients out of 102 (87.3%) are taking medications regularly. Of those diagnosed with AH (103 people), 87 (84.5%) are followed up by doctors for this reason, the majority of them are followed up by a general practitioner – 67 (77%) people, by a cardiologist – 18 (20.7%), and 2 (2.3%) people – by a general practitioner and a cardiologist simultaneously.

Most of the patients – 140 out of 149 – on the day of the survey came to the outpatient clinic for various reasons not related to AH. BP during the visit was measured in 95 people (63.8%) out of 149, and in 74 people (71.8%) of 103 with already diagnosed AH. On the visit day, AH was included in the diagnosis structure only in 44 patients out of 103 with already established diagnosis (42.7%), while 97 people out of 103 patients (94.2%) with previously diagnosed AH were already on the outpatient medical record. Of those who had a diagnosis of AH in their outpatient records (97 people), treatment was prescribed to 91 patients (93%), BP control was achieved in 60 patients (65.9%), while the standard examination was maintained in only 61%.

In the outpatient records, the last visit due to AH was revealed 2 weeks ago in 2 people; 2 months ago in 34; 6 months ago in 27; 1 year ago in 19; 2 years

(42.7 %), при этом ранее установленный диагноз АГ в амбулаторной карте имелся у 97 чел. из 103 пациентов (94.2 %). Из тех, у кого в амбулаторной карте имелся диагноз АГ (97 чел.), лечение было назначено 91 пациенту (93 %), контроль достигнут у 60 чел. (65.9 %), при этом стандарт обследования выполнен только у 61 %.

Последний визит по причине АГ в амбулаторной карте был зафиксирован 2 нед назад у 2 чел., 2 мес назад – у 34, 6 мес назад – у 27, 1 год назад – у 19, 2 года назад – у 10, 3 года назад – у 2, 4 года назад – у 6 и 7, 9 и 10 лет назад – по одному человеку соответственно.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Для раннего выявления повышенного АД в первичном звене здравоохранения проводятся профилактические медицинские осмотры и диспансеризация отдельных групп взрослого населения. По данным Хабаровского краевого фонда обязательного медицинского страхования в 2022 г. диспансеризацией были охвачены 57 % (1-й этап) и 63 % (2-й этап) населения, профилактическими медосмотрами – 60 %. Масштабы профилактических мероприятий и простота диагностики АГ позволяют выявлять ее на ранних стадиях.

Однако основные приказы, регламентирующие профилактические мероприятия в первичном звене здравоохранения, представляют собой многостраничные документы: Приказ № 404н «Об утверждении Порядка проведения профилактического медицинского осмотра и диспансеризации отдельных групп взрослого населения» изложен на 34 страницах. Приказ № 168н «Об утверждении порядка проведения диспансерного наблюдения за взрослыми» – на 56 страницах; кроме того, его текст постоянно отсылает врача к клиническим рекомендациям «Артериальная гипертензия у взрослых» и рассчитан на их тщательную проработку. Текст самих рекомендаций «Артериальная гипертензия у взрослых» в редакции 2020 г. изложен на 136 страницах. Масштабность приведенных документов затрудняет работу с ними, делает невозможным быстрый поиск необходимой информации в условиях ограниченного времени амбулаторного приема и, безусловно, требует синтеза и упрощения для эффективного применения в практике врачами первичного звена здравоохранения.

ago in 10; 3 years ago in 2; 4 years ago in 6; while 7, 9 and 10 years ago by one person, respectively.

## DISCUSSION

For early detection of elevated BP, preventive medical examinations and outpatient screening of certain groups of the adult population are carried out in the primary health care setting. According to the Khabarovsk Regional Compulsory Medical Insurance Fund, in 2022, 57% (1st stage) and 63% (2nd stage) of the population underwent outpatient screening, and 60% – preventive medical check-ups<sup>1</sup>. The coverage of preventive measures and the ease of AH diagnosis make it possible to detect it at the early stages.

However, the main orders regulating preventive measures in primary health care are multi-page documents: Order No. 404n “On approval of the Procedure for preventive medical examination and outpatient screening of certain groups of the adult population” is set out on 34 pages. Order No. 168n “On approval of the procedure for outpatient follow-up of adults” – on 56 pages; in addition, its text constantly refers a doctor to the clinical guidelines “Arterial hypertension in adults”, which are designed for their careful study. The text of the latter amended in 2020 is set out on 136 pages. The scale of these documents makes it difficult to work with them, renders it impossible to quickly search for the necessary information, given the limited time of an outpatient follow-up visit, so, their synthesis and simplification are certainly required for the effective use by primary care practitioners.

Each patient's visit to an outpatient clinic for any health-related reason should be aimed at detecting elevated BP as the most significant modifiable RF. In our study, out of 115 people who indicated an increase in BP to 140/90 mm Hg and higher, only 103 patients were diagnosed with AH. This discrepancy may be due to the fact that BP is not measured in everyone at the consultation: according to our study data, only in 63.8% of the total number of those who sought medical attention. So, there is a need to increase efforts to screen for AH in outpatient settings. Moreover, BP was not measured in all hypertensive patients (71.8%), i.e. the implementation of outpatient screening programs also requires constant monitoring by the management of outpatient facilities.

<sup>1</sup> Письмо Хабаровского краевого фонда обязательного медицинского страхования от 19.01.2023 № 10-142/3 «О мониторинге профилактических осмотров и диспансеризации взрослого населения».

<sup>1</sup> The letter of the Khabarovsk Regional Compulsory Medical Insurance Fund dated 19/10/2023 No. 10-142/3 “About monitoring of preventive examination and outpatient screening of adults.”

Каждый визит пациента в поликлинику по любому терапевтическому поводу должен преследовать цель выявления повышенного АД, как наиболее значимого модифицируемого ФР. В нашем исследовании из 115 чел., которые указали на повышение АД до 140/90 мм рт. ст. и выше, диагноз АГ был поставлен только 103 пациентам. Такое несоответствие может быть обусловлено тем, что АД на терапевтическом приеме измеряется не у всех: по данным нашего исследования – только у 63.8 % от общего числа обратившихся за медицинской помощью, т.е. существует необходимость наращивания усилий по скринингу АГ в амбулаторных условиях. Более того, АД было измерено не у всех пациентов, у которых имелся диагноз АГ (71.8 %), т.е. реализация программ диспансерного наблюдения также нуждается в постоянном контроле со стороны руководства поликлиник.

Результаты нашего исследования показали и другие аспекты, требующие усиления мер диспансерного наблюдения за пациентами с АГ. Не все пациенты с установленным диагнозом АГ наблюдаются у врача (84.5 %): под наблюдением находится меньшее количество пациентов, чем установлено в нормативах (согласно Приказу № 168н должен быть обеспечен «хват диспансерным наблюдением лиц старше трудоспособного возраста, из числа подлежащих ему, не менее 90 %»). В 39 % случаев выявили несоблюдение минимальной необходимой кратности посещения врача по поводу АГ, которая составила менее 1 раза в год. Напомним, что минимальное количество визитов в год при диспансерном наблюдении при АГ 1–3-й степени должно быть не менее 2 [6]. При отсутствии контроля АД количество визитов увеличивается. Диспансерное наблюдение при АГ, по данным Национального исследовательского центра терапии и профилактической медицины Минздрава России, его длительность и кратность визитов положительно коррелирует с достижением целевых показателей АД [7].

Невнесение в фоновый диагноз АГ при обращении пациентов по любому сопутствующему поводу приводит к «потере» такого пациента и невключению его в программы профилактики и диспансерного наблюдения. По данным нашего исследования в день обращения АГ была внесена в диагноз лишь у 42.7 % обратившихся. Отражение АГ в структуре рубрифицированного клинического диагноза позволяет комплексно оценивать риски пациента, подбирать лечение острого или обострения хронического заболевания исходя из знания межлекарственного взаимо-

The results of our study showed other aspects that require strengthening measures for outpatient follow-up of AH patients. Not all patients with diagnosis of AH are followed-up by a doctor (84.5%): a smaller number of patients are follow-up by a doctor than established by the standards (according to Order No. 168, the coverage of outpatient monitoring of hypertensive patients over working age ought to be at least 90%). In 39% of cases, non-compliance with the minimum interval between check-up visits to a doctor for AH was revealed, which was more than 1 year. We have to remind that the minimum number of visits per year under outpatient follow-up for patients with AH of I–III degree should be at least 2 times [6]. In the absence of BP control, the number of visits increases. Outpatient follow-up for AH, according to the National Research Center for Therapy and Preventive Medicine of the Russian Ministry of Health, the duration and frequency of visits positively correlates with the achievement of BP target [7].

If AH is not included in the background diagnosis, when patients seek medical attention for any health-related reason it leads to the “loss” of such patient and his/her non-inclusion in prevention and screening programs. According to our study, on the day of the appointment, AH was included in the diagnosis in only 42.7% of visitors. Including AH in the structure of a clinical diagnosis allows for a comprehensive assessment of the patient's risks, prescribe treatment for acute or exacerbation of chronic disease based on the knowledge of drug interactions with antihypertensive drugs, and monitoring of BP and laboratory parameters based on the existing comorbidity.

According to the Ministry of Health of the Russian Federation, men are 2 times less likely to seek medical attention [8], and our results confirmed these trends: among the respondents, there were 4 times more women, although the prevalence of AH among males in the Russian Federation is higher: 48.1% compared to 40.7% in women, according to the ESSE-RF study [9]. At the same time, adherence to antihypertensive therapy, treatment effectiveness and achievement of BP targets among men, according to ESSE-RF, were lower compared to women. Thus, the active involvement of males in prevention and screening programs is a priority, and will allow us to identify new hypertension cases among the population.

According to our study, 86.4% of respondents received treatment regularly. It is possible to increase adherence to treatment and its effectiveness with regular monitoring, which becomes possible with the correct formulation of AH diagnosis and allows not to

действия с антигипертензивными лекарственными средствами и контролировать параметры АД и лабораторные показатели исходя из имеющейся коморбидности.

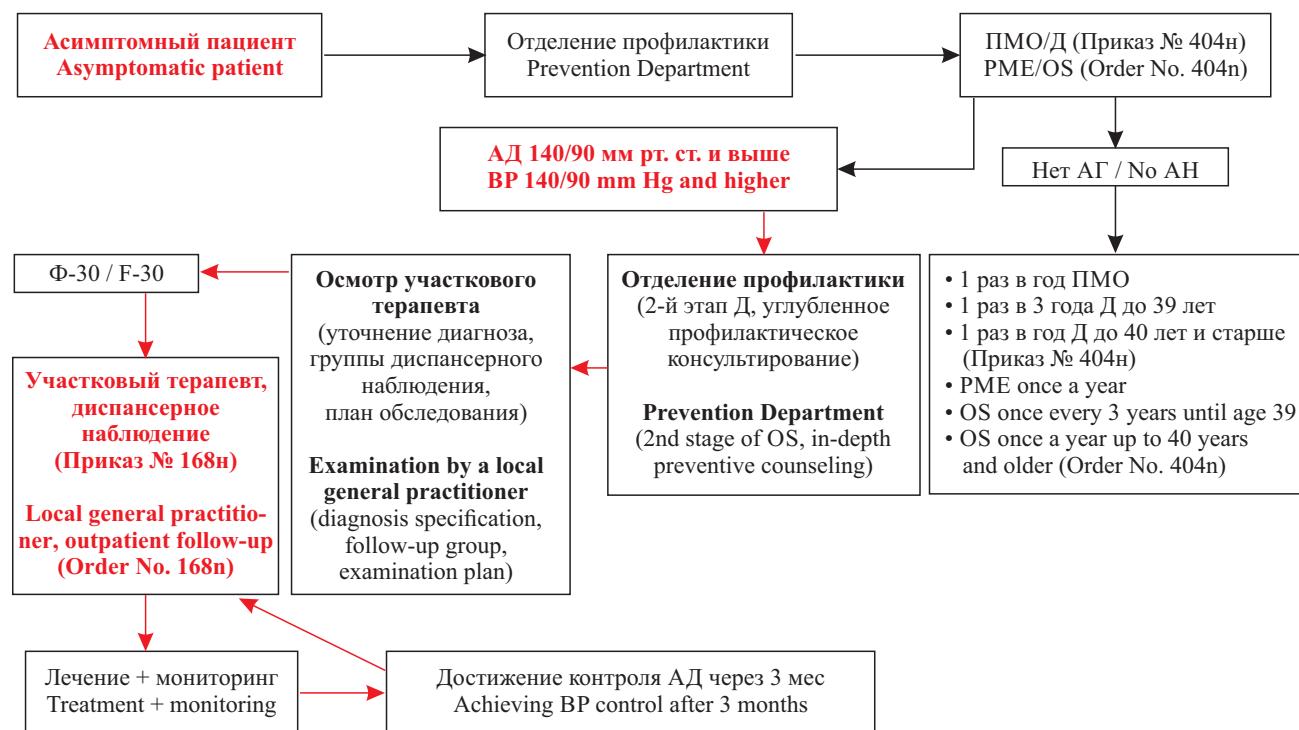
По данным Минздрава России мужчины в 2 раза реже обращаются за медицинской помощью [8], и наши результаты подтвердили эти закономерности: среди опрошенных женщин было в 4 раза больше, хотя распространенность АГ именно среди лиц мужского пола в РФ выше: 48.1 % по сравнению с 40.7 % у женщин, по результатам исследования ЭССЕ-РФ [9]. При этом приверженность антигипертензивной терапии, эффективность лечения и достижение контрольных показателей среди мужчин, по данным ЭССЕ-РФ, были более низкими в сравнении с женщинами. Таким образом, активное привлечение к программам профилактики и скрининга именно лиц мужского пола является приоритетной задачей и позволит выявить новые случаи АГ среди населения.

По данным нашего исследования регулярно получали лечение 86.4 % опрошенных. Повысить приверженность и эффективность назначенной терапии можно при регулярном контроле, который

lose sight of patients with AH. According to V.N. Larina et al. [10], 68.8% of patients took medications regularly; the higher values in our study may be due to patients' interpretation of the term "regularly."

Compliance with the examination standard for only 61% of patients suffering from AH also indicates the need for being more attentive towards patients under outpatient follow-up.

In summary, the results of our study showed non-compliance with the main time intervals for following-up patients with AH. According to clinical guidelines, the simplest algorithm when working with a patient whose BP is 140/90 mm Hg and higher, looks like this: 1st visit → within 1 week, 2nd visit → exclusion of secondary AH, within 2 weeks → achieving BP control within 3 months → lifelong outpatient follow-up. We would like to once again draw the attention of general practitioners to the timely referral to a cardiologist for consultation in the absence of AH control for 3 months [6]. We present the result of synthesis of prevention and follow-up programs carried out by a general practitioner into this simple scheme for four most common clinical situations in the outpatient practice (Fig. 1-4).



**Рис. 1.** Алгоритм действий врача первичного звена по выявлению артериальной гипертензии при работе с асимптомным пациентом с использованием профилактического инструментария (ПМО – профилактический медицинский осмотр; Д – диспансеризация; АД – артериальное давление; АГ – артериальная гипертензия; Ф-30 – Форма № 030/у – «Контрольная карта диспансерного наблюдения»)

**Fig. 1.** The algorithm of actions of a primary care physician to detect arterial hypertension in an asymptomatic patient with the use of preventive tools (PMO – preventive medical examination; OS – outpatient screening; BP – blood pressure; AH – arterial hypertension; F-30 – Form No. 030/u, Outpatient Screening Checklist

становится возможным при правильной формулировке диагноза, позволяющей не терять из виду пациентов с АГ. По данным В.Н. Лариной и соавторов [10], лекарственные средства постоянно принимали 68.8 % пациентов, более высокие значения в нашем случае могут быть обусловлены интерпретацией пациентами термина «регулярно».

Выполнение стандарта обследования только для 61 % пациентов, страдающих АГ, также свидетельствует о необходимости более внимательного отношения к взятым на курацию пациентам.

Таким образом, результаты нашего исследования показали несоблюдение основных временных интервалов наблюдения за пациентами с АГ. Согласно клиническим рекомендациям самый простой алгоритм при работе с пациентом, у которого зафиксировано АД 140/90 мм рт. ст. и выше, выглядит следующим образом: 1-й визит → в течение 1 нед, 2-й визит → исключение вторичной АГ в течение 2 нед → достижение контроля в течение 3 мес → диспансерное наблюдение пожизненно. Хочется еще раз обратить вни-

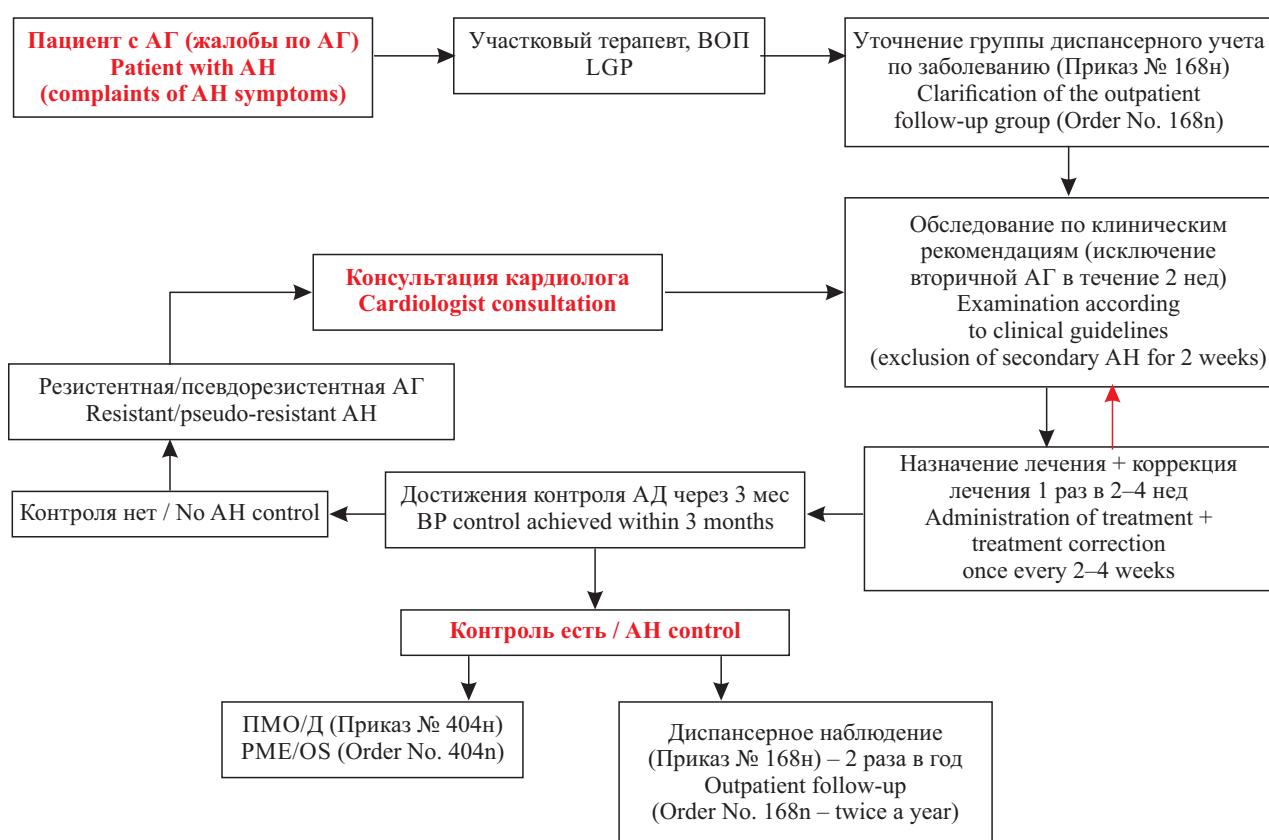
## CONCLUSION

General practitioners are key figures in the early detection, treatment and control of AH, managing, with the appropriate use of prevention and screening programs, this major risk factor for premature cardiovascular and overall mortality.

To achieve the BP targets in the management of AH, it is important to comply with the time intervals for working with an AH patient: establishing a diagnosis of AH, excluding secondary AH, initiation of outpatient follow-up, achieving BP control, and timely referral to a cardiologist.

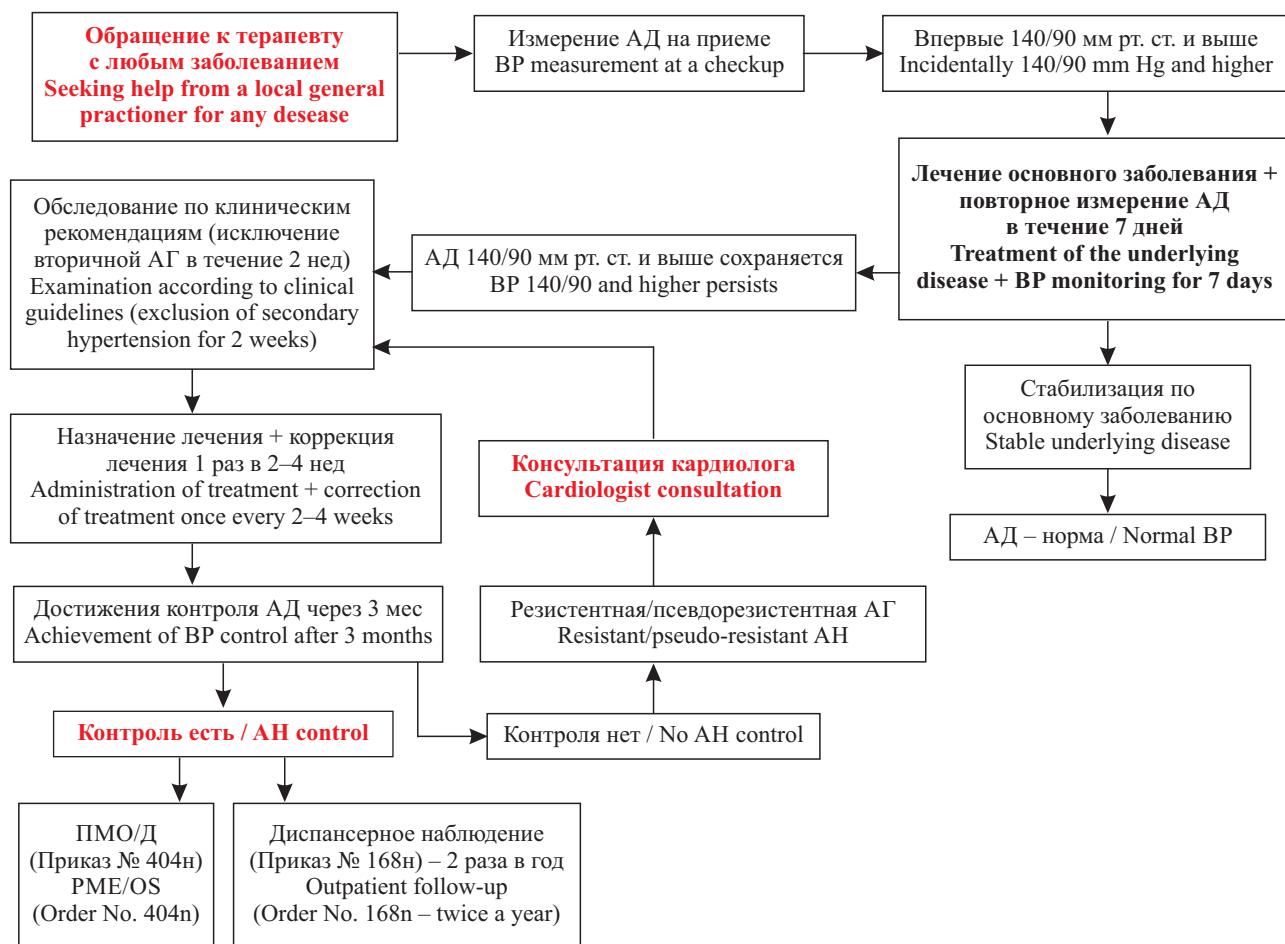
The proposed four algorithms for the actions of a local general practitioner will help ensure the appropriate routing of patients with AH, compliance with the standard of management of such patients, achieving BP control and reducing the risks of development and progression of cardiovascular diseases.

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



**Рис. 2.** Алгоритм действий врача первичного звена при работе с пациентом с артериальной гипертензией с использованием профилактического инструментария (АГ – артериальная гипертензия; ВОП – врач общей практики; Д – диспансеризация; АД – артериальное давление; ПМО – профилактический медицинский осмотр)

**Fig. 2.** The algorithm of actions for a primary care physician for a patient with arterial hypertension with the use of preventive tools (AH – arterial hypertension; LGP – local general practitioner; OS – outpatient screening; BP – blood pressure; PMO – preventive medical examination)



**Рис. 3.** Алгоритм действий врача первичного звена при работе с пациентом с различными терапевтическими ситуациями по выявлению артериальной гипертензии с использованием профилактического инструментария (АД – артериальное давление; АГ – артериальная гипертензия; ПМО – профилактический медицинский осмотр; Д – диспансеризация)

**Fig. 3.** The algorithm of actions for a primary care physician when working with patient with various therapeutic situations to detect arterial hypertension using preventive tools (BP – blood pressure; AH – arterial hypertension; PME – preventive medical examination; OS – outpatient screening)

мание участковых терапевтов на своевременное назначение консультации кардиолога при отсутствии контроля гипертензии в течение 3 мес [6]. Интеграция программ профилактики и диспансерного наблюдения, осуществляемых участковым терапевтом в эту простую схему, представлена нами для четырех часто встречающихся в амбулаторной практике клинических ситуаций (рис. 1–4).

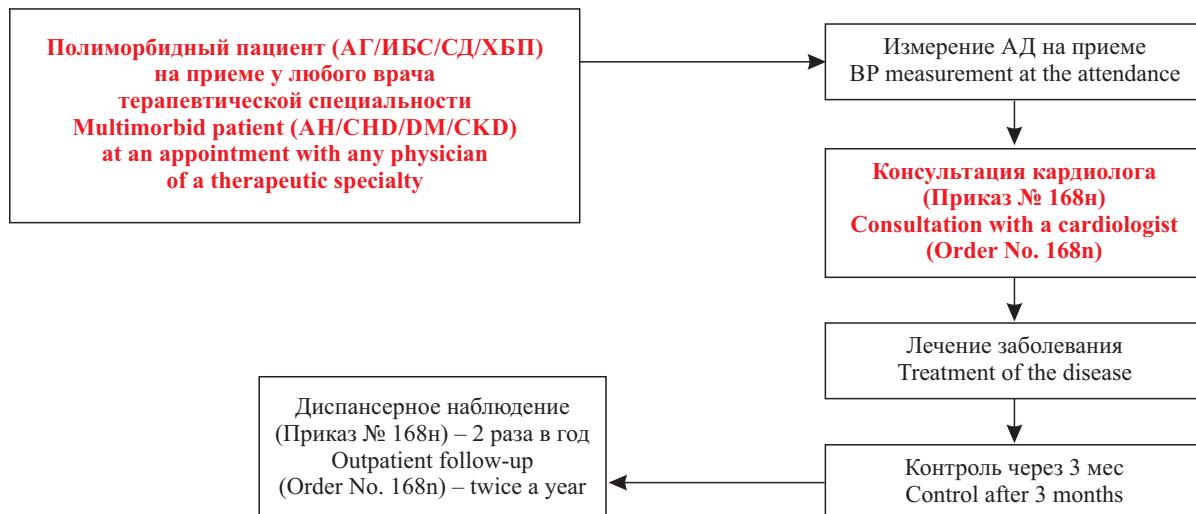
## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Врачи первичного звена являются ключевыми фигурами в раннем выявлении, лечении и контроле АГ, управляя при грамотном использовании программ профилактики и скрининга этим основным ФР преждевременной сердечно-сосудистой и общей смертности.

Важным в достижении целевых показателей контроля АГ является соблюдение временных интервалов работы с пациентом с АГ: установление диагноза, исключение вторичной АГ, взятие под диспансерное наблюдение, достижение контроля АД, своевременное направление на консультацию кардиолога.

Предложенные четыре алгоритма действий врача-терапевта участкового помогут обеспечить правильную маршрутизацию пациентов с АГ, соблюдение стандарта ведения таких больных, достижение контроля АД и снижение рисков развития и прогрессирования сердечно-сосудистых заболеваний.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.



**Рис. 4.** Алгоритм действий врача первичного звена при работе с полиморбидным пациентом с использованием профилактического инструментария (АГ – артериальная гипертензия; ИБС – ишемическая болезнь сердца; СД – сахарный диабет; ХБП – хроническая болезнь почек; АД – артериальное давление)

**Fig. 4.** The algorithm of actions of a primary care physician for a multimorbid patient with the use of preventive tools (AH – arterial hypertension; CHD – coronary heart disease; DM – diabetes mellitus; CKD – chronic kidney disease; BP – blood pressure)

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Напалков Д.А. от имени участников наблюдательной программы АЛГОРИТМ. Российская наблюдательная программа АЛГОРИТМ: реализация идеи комбинированной антигипертензивной и гиполипидемической терапии для достижения клинического результата в рутинной клинической практике // Рациональная фармакотерапия в кардиологии. 2019;15(6):779-788. DOI: 10.20996/1819-6446-2019-15-6-779-788.
2. Драпкина О.М., Масленникова Г.Я., Шепель Р.Н. и др. Приоритетные направления профилактики неинфекционных заболеваний в повестке 75-й Всемирной ассамблеи здравоохранения: планы на будущее // Профилактическая медицина. 2022;25(6):7-11. DOI: 10.17116/profmed2022250617.
3. Оказание амбулаторно-поликлинической медицинской помощи пациентам с хроническими заболеваниями, подлежащим диспансерному наблюдению, в условиях пандемии COVID-19. Временные методические рекомендации. Версия 2. URL: <https://gnicpm.ru/wp-content/uploads/2020/08/okazanie-ambulatorno-poliklinicheskoy-mediczinskoy-pomoshchi-pacientam-s-hronicheskimi-zabolevaniyami-podlezhashhim-dispansernomu-nablyudeniyu-v-usloviyah-pandemii-covid-19.pdf> (дата обращения: 10.04.2023).
4. Harrison D. What is driving all cause excess mortality? // BMJ. 2022;376:0100. DOI: 10.1136/bmj.0100.
5. Lau D.T., Sosa P., Dasgupta N., He H. Impact of the COVID-19 Pandemic on Public Health Surveillance and Survey Data Collections in the United States // Am. J. Public Health. 2021;111(12):2118-2121. DOI: 10.2105/AJPH.2021.306551.
6. Артериальная гипертензия у взрослых. Клинические рекомендации. 2020. 136 с. URL: [https://scardio.ru/content/Guidelines/Clinic\\_rek\\_AG\\_2020.pdf](https://scardio.ru/content/Guidelines/Clinic_rek_AG_2020.pdf) (дата обращения: 10.04.2023).

## REFERENCES

1. Napalkov D.A. Russian Trial ALGORITHM: Implementation of combined antihypertensive and hypolipidemic treatment for clinical efficacy achievement in routine clinical practice. *Rational Pharmacotherapy in Cardiology*. 2019;15(6):779-788. DOI: 10.20996/1819-6446-2019-15-6-779-788. (In Russ.)
2. Drapkina O.M., Maslennikova G.Ya., Shepel R.N. et al. Priority areas for the prevention of non-communicable diseases on the agenda of the 75th World Health Assembly: plans for the future. *The Russian Journal of Preventive Medicine*. 2022;25(6):7-11. DOI: 10.17116/profmed2022250617. (In Russ.)
3. Providing outpatient medical care to patients with chronic diseases subject to outpatient follow-up during the COVID-19 pandemic. Temporary guidelines. Version 2. URL: <https://gnicpm.ru/wp-content/uploads/2020/08/okazanie-ambulatorno-poliklinicheskoy-mediczinskoy-pomoshchi-pacientam-s-hronicheskimi-zabolevaniyami-podlezhashhim-dispansernomu-nablyudeniyu-v-usloviyah-pandemii-covid-19.pdf> (accessed 10.04.2023).
4. Harrison D. What is driving all cause excess mortality? *BMJ*. 2022;376:0100. DOI: 10.1136/bmj.0100.
5. Lau D.T., Sosa P., Dasgupta N., He H. Impact of the COVID-19 Pandemic on Public Health Surveillance and Survey Data Collections in the United States // *Am. J. Public Health*. 2021;111(12):2118-2121. DOI: 10.2105/AJPH.2021.306551.
6. Arterial hypertension in adults. Clinical guidelines. 2020. 136 p. URL: [https://scardio.ru/content/Guidelines/Clinic\\_rek\\_AG\\_2020.pdf](https://scardio.ru/content/Guidelines/Clinic_rek_AG_2020.pdf) (accessed 10.04.2023).
7. Drapkina O.M., Shepel R.N., Drozdova L.Yu. et al. Quality of follow-up monitoring of the adult population with grade 1-3 hypertension, with the exception of resistant hypertension, by primary care physicians in different Russian regions. *Russian Journal of Car-*

7. Драпкина О.М., Шепель Р.Н., Дроздова Л.Ю. и др. Качество диспансерного наблюдения взрослого населения с артериальной гипертонией 1–3-й степени, за исключением резистентной артериальной гипертонии, врачами-терапевтами участковыми медицинских организаций субъектов Российской Федерации // Российский кардиологический журнал. 2021;26(4):61-73. DOI: 10.15829/1560-4071-2021-4332.
8. Российские мужчины в два раза реже ходят в поликлиники, чем женщины // Аргументы и факты. 04.03.2020. URL: [https://aif.ru/society/healthcare/v\\_rf\\_muzhchiny\\_v\\_dva\\_raza\\_rezhe\\_hodyat\\_v\\_polikliniki\\_chem\\_zhenshchiny](https://aif.ru/society/healthcare/v_rf_muzhchiny_v_dva_raza_rezhe_hodyat_v_polikliniki_chem_zhenshchiny) (дата обращения: 10.04.2023).
9. Бойцов С.А., Драпкина О.М., Шляхто Е.В. и др. Исследование ЭССЕ-РФ (Эпидемиология сердечно-сосудистых заболеваний и их факторов риска в регионах Российской Федерации). Десять лет спустя // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2021;20(5):3007. DOI: 10.15829/1728-8800-2021-3007.
10. Ларина В.Н., Федорова Е.В., Михайлусова М.П., Головко М.Г. Проблемы недостаточного контроля целевого уровня артериального давления в амбулаторной практике // Терапевтический архив. 2021;93(1):7-14. DOI: 10.26442/00403660.2021.01.200586.

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

**Корнеева Наталья Вячеславовна** – д-р мед. наук, доцент, зав. кафедрой факультетской и поликлинической терапии с курсом эндокринологии ФГБУ ВО «Дальневосточный государственный медицинский университет» Минздрава России, Хабаровск, Россия. ORCID: 0000-0001-9878-180X.

**Гаврилов Егор Сергеевич** – ассистент кафедры факультетской и поликлинической терапии с курсом эндокринологии ФГБУ ВО «Дальневосточный государственный медицинский университет» Минздрава России, Хабаровск, Россия. ORCID: 0000-0002-0025-0603.

**Югай Альбина Лаврентьевна** – канд. мед. наук, доцент кафедры факультетской и поликлинической терапии с курсом эндокринологии ФГБУ ВО «Дальневосточный государственный медицинский университет» Минздрава России, Хабаровск, Россия. ORCID: 0000-0002-0950-3670.

**Павлова Светлана Павловна** – канд. мед. наук, доцент кафедры факультетской и поликлинической терапии с курсом эндокринологии ФГБУ ВО «Дальневосточный государственный медицинский университет» Минздрава России, Хабаровск, Россия. ORCID: 0000-0003-2720-3126.

**Могила Татьяна Васильевна** – канд. мед. наук, доцент кафедры факультетской и поликлинической терапии с курсом эндокринологии ФГБУ ВО «Дальневосточный государственный медицинский университет» Минздрава России, Хабаровск, Россия. ORCID: 0000-0003-2751-5736.

**Дубинина Виктория Васильевна** – канд. мед. наук, доцент кафедры факультетской и поликлинической терапии с курсом эндокринологии ФГБУ ВО «Дальневосточный государственный медицинский университет» Минздрава России, Хабаровск, Россия. ORCID: 0000-0002-1236-5926.

**Ли Ирина Витальевна** – ассистент кафедры факультетской и поликлинической терапии с курсом эндокринологии ФГБУ ВО «Дальневосточный государственный медицинский университет» Минздрава России, Хабаровск, Россия. ORCID: 0000-0001-8419-5252.

diology. 2021;26(4):61-73. DOI: 10.15829/1560-4071-2021-4332. (In Russ.)

8. Russian men are half as likely to go to clinics than women. *Arguments and Facts*. 04.03.2020. URL: [https://aif.ru/society/healthcare/v\\_rf\\_muzhchiny\\_v\\_dva\\_raza\\_rezhe\\_hodyat\\_v\\_polikliniki\\_chem\\_zhenshchiny](https://aif.ru/society/healthcare/v_rf_muzhchiny_v_dva_raza_rezhe_hodyat_v_polikliniki_chem_zhenshchiny) (accessed 10.04.2023).
9. Boytsov S.A., Drapkina O.M., Shlyakhto E.V. et al. Epidemiology of Cardiovascular Diseases and their Risk Factors in Regions of Russian Federation (ESSE-RF) study. Ten years later. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2021;20(5):3007. DOI: 10.15829/1728-8800-2021-3007.
10. Larina V.N., Fedorova E.V., Mikhajkusova M.P., Golovko M.G. Problems of insufficient control of target blood pressure levels in the outpatient practice. *Therapeutic Archive*. 2021;93(1):7-14. DOI: 10.26442/00403660.2021.01.200586.

## ABOUT THE AUTHORS

**Natalia V. Korneeva** – Dr. Sci. (Med.), Associate Professor, Head, Department of Faculty and Outpatient Therapy with a Course in Endocrinology, Far Eastern State Medical University, Khabarovsk, Russia. ORCID: 0000-0001-9878-180X.

**Egor S. Gavrilov** – Assistant, Department of Faculty and Outpatient Therapy with a Course in Endocrinology, Far Eastern State Medical University, Khabarovsk, Russia. ORCID: 0000-0002-0025-0603.

**Albina L. Yugai** – Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Department of Faculty and Outpatient Therapy with a Course in Endocrinology, Far Eastern State Medical University, Khabarovsk, Russia. ORCID: 0000-0002-0950-3670.

**Svetlana P. Pavlova** – Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Department of Faculty and Outpatient Therapy with a Course in Endocrinology, Far Eastern State Medical University, Khabarovsk, Russia. ORCID: 0000-0003-2720-3126.

**Tatyana V. Mogila** – Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Department of Faculty and Outpatient Therapy with a Course in Endocrinology, Far Eastern State Medical University, Khabarovsk, Russia. ORCID: 0000-0003-2751-5736.

**Viktoria V. Dubinina** – Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Department of Faculty and Outpatient Therapy with a Course in Endocrinology, Far Eastern State Medical University, Khabarovsk, Russia. ORCID: 0000-0002-1236-5926.

**Irina V. Li** – Assistant, Department of Faculty and Outpatient Therapy with a Course in Endocrinology, Far Eastern State Medical University, Khabarovsk, Russia. ORCID: 0000-0001-8419-5252.

## Изучение приверженности к антиретровирусной терапии и ее влияния на риск развития резистентности ВИЧ-1 у больных с вирусологической неудачей

Д.В. Капустин<sup>1, 2</sup>, Е.И. Краснова<sup>1, 2</sup>, Н.И. Хохлова<sup>1, 2</sup>, Т.М. Налимова<sup>3</sup>, Н.П. Крикливая<sup>3</sup>, М.Р. Халиков<sup>3</sup>, А.В. Тотменин<sup>3</sup>, Л.Г. Готфрид<sup>3</sup>, М.П. Гашникова<sup>3</sup>, Н.М. Гашникова<sup>3</sup>, В.Г. Кузнецова<sup>1</sup>, Л.Л. Позднякова<sup>2</sup>, Т.А. Колпакова<sup>1</sup>, Л.В. Поддубная<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия

<sup>2</sup>ГБУЗ НСО «Городская инфекционная клиническая больница № 1», Новосибирск, Россия

<sup>3</sup>ФБУН Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, р.п. Кольцово, Новосибирская область, Россия

### АННОТАЦИЯ

Введение. За последние 10 лет в мире отмечается рост устойчивости ВИЧ-1 к антиретровирусным препаратам. Больные ВИЧ-инфекцией с низким уровнем приверженности к антиретровирусной терапии (АРТ) наиболее часто подвержены риску развития приобретенной резистентности ВИЧ-1. Установление ключевых факторов, влияющих на степень приверженности, позволит своевременно выявлять больных с высоким риском «отрыва» от лечения и разработать индивидуальную тактику ведения таких пациентов для снижения риска формирования резистентности.

Цель. Изучить факторы, влияющие на приверженность к АРТ у больных с вирусологической неудачей, и влияние приверженности на риск развития приобретенной устойчивости ВИЧ-1 к антиретровирусным препаратам первой линии.

Материалы и методы. Проведено обследование 271 больного с установленным диагнозом «ВИЧ-инфекция», с разными стадиями заболевания, в возрасте от 21 до 59 лет, наблюдавшихся в период с марта 2018 г. по август 2022 г. в Центре по профилактике и борьбе со СПИД ГБУЗ НСО «Городская инфекционная клиническая больница № 1» г. Новосибирска и получавших АРТ. Критерий включения пациентов в исследование: вирусологический прорыв на фоне ранее проводимой эффективной АРТ препаратами первой линии (когда в течение 3–6 мес регистрировался неопределенный уровень вирусной нагрузки РНК ВИЧ). Проводился ретроспективный анализ степени приверженности к АРТ обследованных пациентов с ВИЧ-инфекцией и вирусологическим прорывом с учетом различных факторов. Исследование на лекарственную устойчивость ВИЧ-1 выполнялось на базе ФБУН Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор».

Результаты. Среди обследованных пациентов преобладали мужчины – 56.4 % (n = 153). Средний возраст составил  $35.4 \pm 2.85$  года. Доминировал половой гетеросексуальный путь передачи ВИЧ-инфекции – 64.8 %. На долю парентерального пути инфицирования (внутривенное введение наркотиков) пришлось 31.5 % случаев. По результатам ретроспективного анализа степени приверженности к АРТ установлено, что у 48.3 % (131 из 271) больных имелись пропуски приема препаратов, в том числе низкая приверженность отмечена у 31.7 % (86 из 271) больных; средняя – у 16.6 % пациентов (45 из 271). Наиболее часто нарушения приверженности регистрировались у лиц с парентеральным путем передачи ВИЧ – 75.3 % по сравнению с половым – 36 % ( $p < 0.001$ ) и у жителей сельской местности – 62.5 % по сравнению с городскими жителями – 34.1 % ( $p < 0.001$ ). Среди мужчин нарушения приверженности выявлялись чаще, чем у женщин – 57.5 и 36.4 % соответственно ( $p < 0.001$ ). Также значимым фактором явилось отсутствие постоянного труда/устройства – нарушение приверженности отмечалось у 69.5 % больных этой группы по сравнению с пациентами, имеющими постоянное место работы – 26.3 % ( $p < 0.05$ ). Напротив, высокая приверженность чаще отмечалась у больных женского пола – 63.6 % по сравнению с мужчинами – 42.5 %; при наличии постоянного труда/устройства – 73.7 % по сравнению с 30.5 % при его отсутствии; при половом пути передачи – 64.0 % по сравнению с парентеральным путем передачи – 24.7 %; у городских жителей – 65.9 % против 37.5 % у сельских ( $p < 0.05$ ).

Поступила в редакцию 24.04.2023  
Прошла рецензирование 08.09.2023  
Принята к публикации 28.09.2023

Автор, ответственный за переписку  
Капустин Дмитрий Вячеславович: ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России. 630091, г. Новосибирск, Красный просп., 52.  
E-mail: dmitrij\_kapustin\_1991@inbox.ru

Received 24.04.2023  
Revised 08.09.2023  
Accepted 28.09.2023

Corresponding author  
Dmitry V. Kapustin: Novosibirsk State Medical University, 52, Krasny prospekt, Novosibirsk, 630091, Russia.  
E-mail: dmitrij\_kapustin\_1991@inbox.ru

По совокупности всех зарегистрированных мутаций резистентные варианты ВИЧ выявлены у 54.6 % обследованных больных с вирусологической неудачей АРТ (148 из 271). Из числа 148 резистентных вариантов ВИЧ-1 чаще других выявлялось сочетание мутаций устойчивости к препаратам из группы нуклеозидных ингибиторов обратной транскриптазы (НИОТ) и ненуклеозидных ингибиторов обратной транскриптазы (ННИОТ) – в 60.1 % (89) случаев. Изолированные мутации к НИОТ встречались в 15.5 % (23) случаев; к ННИОТ – в 12.2 % (18). Сочетание мутаций резистентности к НИОТ + ингибиторам интегразы (ИИ) установлено у 4.1 % (6) больных. Доля пациентов с устойчивостью к НИОТ и ИИ (ингибиторам протеазы) составила 2 % (3); к ННИОТ + ИИ – 1.4 % (2). Комбинация мутаций сразу к трем классам препаратов выявлена у 6 больных: НИОТ + ННИОТ + ИИ – 2.7 % (4) и НИОТ + ННИОТ + ИП – у 1.4 % (2). У одного пациента (0.6 %) зарегистрирована изолированная мутация к ИИ.

Заключение. Проведенный анализ показал, что нарушение приверженности отмечалось у значительной доли больных – 48.3 % (низкая – 31.7 %, средняя – 16.6 %). Факторами, способствующими нарушению приверженности к АРТ, являлись: парентеральный путь передачи ВИЧ (у 75.3 % лиц с нарушением приверженности); проживание в сельской местности (у 62.5 %); отсутствие постоянного труда/устройства (у 69.5 %); мужской пол (у 57.5 %). Среди больных с выявленной лекарственной устойчивостью ВИЧ ( $n = 148$ ) преобладали лица с нарушением приверженности (70.9 %) по сравнению с пациентами, у которых не выявлена резистентность ВИЧ (23.6 %) ( $p < 0.001$ ). Учитывая полученные данные, при выборе стартовой схемы АРТ необходимо проводить анализ степени риска нарушения приверженности в зависимости от социальных и других факторов. Установленная на территории Новосибирской области высокая частота регистрации мутаций резистентности ВИЧ диктует необходимость своевременного обследования на резистентность ВИЧ у пациентов с вирусологической неудачей на фоне АРТ и внедрения скрининга первичной лекарственной устойчивости у больных из группы риска по нарушению приверженности.

**Ключевые слова:** ВИЧ-инфекция, ВИЧ-1, приверженность к терапии, резистентность, антиретровирусная терапия, мутации.

**Образец цитирования:** Капустин Д.В., Краснова Е.И., Хохлова Н.И., Налимова Т.М., Крикливая Н.П., Халиков М.Р., Тотменин А.В., Готфрид Л.Г., Гашникова М.П., Гашникова Н.М., Кузнецова В.Г., Позднякова Л.Л., Колпакова Т.А., Поддубная Л.В. Изучение приверженности к антиретровирусной терапии и ее влияния на риск развития резистентности ВИЧ-1 у больных с вирусологической неудачей // Journal of Siberian Medical Sciences. 2024;8(1):29-41. DOI: 10.31549/2542-1174-2024-8-1-29-41

## A study of adherence to antiretroviral therapy and its effect on the risk of HIV-1 resistance in patients with virological failure

D.V. Kapustin<sup>1,2</sup>, E.I. Krasnova<sup>1,2</sup>, N.I. Khokhlova<sup>1,2</sup>, T.M. Nalimova<sup>3</sup>, N.P. Kriklivaya<sup>3</sup>, M.R. Khalikov<sup>3</sup>, A.V. Totmenin<sup>3</sup>, L.G. Gotfrid<sup>3</sup>, M.P. Gashnikova<sup>3</sup>, N.M. Gashnikova<sup>3</sup>, V.G. Kuznetsova<sup>1</sup>, L.L. Pozdnyakova<sup>2</sup>, T.A. Kolpakova<sup>1</sup>, L.V. Poddubnaya<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia

<sup>2</sup>City Infectious Diseases Clinical Hospital No. 1, Novosibirsk, Russia

<sup>3</sup>State Research Center of Virology and Biotechnology VECTOR, Koltsovo, Novosibirsk region, Russia

### ABSTRACT

**Introduction.** Over the past 10 years, there has been an increase in HIV-1 resistance to antiretroviral drugs worldwide. HIV infection patients with low adherence to antiretroviral therapy (ART) are most often at risk of developing acquired HIV-1 resistance. The identification of key factors affecting the degree of adherence will allow timely detection of patients with a high risk of poor adherence to ART and treatment defaulting, and develop individual management tactics for such patients to reduce the risk of resistance development.

**Aim.** To study the factors influencing adherence to ART in patients with virological failure and the effect of adherence on the risk of developing acquired HIV-1 resistance to first-line antiretroviral drugs.

**Materials and methods.** Two hundred and seventy one patients with a confirmed diagnosis of HIV infection, with different stages of the disease, aged 21 to 59 years, who were followed-up from March 2018 to August 2022 at the Center for the Prevention and Control of AIDS (City Infectious Clinical Hospital No. 1, Novosibirsk) and received ART, were enrolled in a study. The criterion to include patients in the study was a virological breakthrough during previously effective ART with first-line drugs (when an undetectable level of HIV RNA load was recorded for 3–6 months). A retrospective analysis of the degree of adherence to ART of the studied patients with HIV infection and virological breakthrough was performed, considering various factors. The HIV-1 drug resistance testing was carried out based on the State Research Center of Virology and Biotechnology VECTOR.

Results. Men predominated among the patients – 56.4% ( $n = 153$ ). The average age was  $35.4 \pm 2.85$  years. Heterosexual transmission of HIV was dominant – 64.8%. Parenteral transmission of HIV (intravenous drug abuse) accounted for 31.5% of cases. According to the results of the retrospective analysis of the degree of adherence to ART, it was found that 48.3% (131 out of 271) of patients had missed medications, including low adherence in 31.7% (86 out of 271) patients; average – in 16.6% of patients (45 out of 271). Most often, poor adherence was reported in people with parenteral HIV transmission – 75.3% compared with sexual transmission – 36% ( $p < 0.001$ ), and in rural residents – 62.5% compared with urban residents – 34.1% ( $p < 0.001$ ). Among men, missed medication was detected more often than in women – 57.5 and 36.4%, respectively ( $p < 0.001$ ). Also, a significant factor was the lack of permanent employment – poor adherence was in 69.5% of patients in this group compared with patients having permanent employment – 26.3% ( $p < 0.05$ ). On the contrary, high adherence was more often observed in female patients – 63.6% compared with male ones – 42.5%; in the presence of permanent employment – 73.7% compared with 30.5% in its absence; in the case of sexual transmission – 64.0% compared with parenteral transmission – 24.7%; in urban residents – 65.9% versus 37.5% in rural residents ( $p < 0.05$ ).

According to the totality of all mutations revealed, HIV drug-resistant variants were found in 54.6% of the patients with virological ART failure (148 out of 271). Of the 148 HIV-1 drug-resistant variants, a combination of drug resistance mutations from the group of nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NRTIs) was most often detected and non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NNRTIs) – in 60.1% (89 cases). Isolated mutations to NRTIs were found in 15.5% (23) cases, for NNRTIs – in 12.2% (18). A combination of mutations of resistance to NRTIs + integrase inhibitors (IIs) was found in 4.1% (6) patients. The proportion of patients with resistance to NRTIs and PIs (protease inhibitors) was 2% (3); to NRTIs + IIs – 1.4% (2). A combination of mutations to three classes of drugs at once was detected in 6 patients: NRTIs + NNRTIs + IIs – 2.7% (4) and NRTIs + NNRTIs + PIs – 1.4% (2). An isolated mutation to IIs was in one patient (0.6%). Conclusion. The analysis showed that non-adherence was reported in a significant part of patients – 48.3% (low – 31.7%, moderate – 16.6%). Factors contributing to poor adherence to ART were: parenteral transmission of HIV (in 75.3% of people with poor adherence); living in rural areas (in 62.5%); lack of permanent employment (in 69.5%); male sex (in 57.5%). Among patients with detected HIV drug resistance ( $n = 148$ ), individuals with poor adherence prevailed (70.9%) compared with patients who did not have HIV drug resistance (23.6%) ( $p < 0.001$ ). Taking into account the data obtained, when choosing the initial ART regimen, it is necessary to analyze the degree of risk of non-adherence depending on social and other factors. The high frequency of registration of HIV drug-resistant mutations found in the Novosibirsk Region necessitates timely testing for drug-resistant HIV patients with virological ART failure and the introduction of screening for primary drug resistance in patients at risk of poor adherence.

**Keywords:** HIV infection, HIV-1, adherence to therapy, resistance, antiretroviral therapy, mutations.

**Citation example:** Kapustin D.V., Krasnova E.I., Khokhlova N.I., Nalimova T.M., Kriklivaya N.P., Khalikov M.R., Totmenin A.V., Gotfrid L.G., Gashnikova M.P., Gashnikova N.M., Kuznetsova V.G., Pozdnyakova L.L., Kolpakova T.A., Poddubnaya L.V. A study of adherence to antiretroviral therapy and its effect on the risk of HIV-1 resistance in patients with virological failure. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2024;8(1):29-41. DOI: 10.31549/2542-1174-2024-8-1-29-41

## ВВЕДЕНИЕ

Расширение охвата пациентов с ВИЧ-инфекцией антиретровирусной терапией (АРТ) и эффективными средствами профилактики является основной стратегией по противодействию распространению данного заболевания во многих странах мира [1]. В частности, с помощью высокоэффективных антиретровирусных препаратов (АРП), направленных на ингибицию различных ферментов вируса, удается быстро подавить репликацию ВИЧ и улучшить качество жизни пациентов, однако быстрая способность вируса адаптироваться к действию АРП и его сложная структурная организация приводят к формированию резистентности. За последние 10 лет отмечается рост устойчивости ВИЧ-1 к химиопрепаратам [2, 3]. Помимо лекарственной устойчивости существует ряд других потенциаль-

## INTRODUCTION

Extending the coverage of HIV-infected patients with antiretroviral therapy (ART) and effective measures of prevention is the dominant strategy in counteracting the spread of this disease in many countries of the world [1]. In particular, owing to highly effective antiretroviral drugs (ARD) inhibiting various viral enzymes, it is possible to suppress HIV replication rapidly and improve the quality of life of patients, however, the rapid ability of the virus to adapt to ARD action and its complex structural organization lead to the development of resistance. Over the past 10 years, there has been an increase in HIV-1 resistance to chemotherapeutics [2, 3]. In addition to drug resistance, there are several other potential causes of virological failure of the ART regimen – undesirable drug interactions and impaired absorption of the drug [4]. One of the key points in effective ART is the degree of

ных причин вирусологической неэффективности проводимого режима АРТ – нежелательные межлекарственные взаимодействия и нарушения всасывания препарата [4]. Одним из ключевых моментов в эффективно проводимой АРТ является степень приверженности пациентов к АРТ, которая может зависеть от множества факторов, среди которых ведущими являются: путь передачи ВИЧ, пол, социальный статус, место проживания, а также переносимость и наличие нежелательных явлений АРТ [5]. Больные ВИЧ-инфекцией с низким уровнем приверженности наиболее часто подвержены риску развития приобретенной резистентности ВИЧ-1 к АРП [6].

Установление ключевых факторов, влияющих на степень приверженности, позволит своевременно выявлять больных с высоким риском отрыва от лечения и разработать индивидуальную тактику ведения таких пациентов для снижения риска формирования резистентности.

## ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучение приверженности к антиретровирусной терапии у больных с вирусологической неуспехом терапии и влияние приверженности на риск развития приобретенной устойчивости ВИЧ-1 к антиретровирусным препаратам первой линии.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведено обследование 271 больного с установленным диагнозом «ВИЧ-инфекция», с разными стадиями заболевания, в возрасте от 21 до 59 лет, наблюдавшихся в период с марта 2018 г. по август 2022 г. в Центре по профилактике и борьбе со СПИД ГБУЗ НСО «Городская инфекционная клиническая больница № 1» г. Новосибирска и получавших АРТ. Критерием включения пациентов в исследование был выявленный вирусологический прорыв на фоне ранее проводимой эффективной АРТ препаратами первой линии (когда в течение 3–6 месяцев регистрировался неопределяемый уровень вирусной нагрузки РНК ВИЧ). От каждого больного было получено письменное информированное согласие на участие в исследовании, с соблюдением добровольности обследования в соответствии с Федеральным законом РФ «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации».

Проводился анализ степени приверженности к АРТ обследованных пациентов с ВИЧ-инфекцией и вирусологическим прорывом с учетом следующих факторов: социальный статус (рабочий, безработный); пол; место жительства

patients' adherence to ART, which may depend on many factors, among which the leading ones are: the route of HIV transmission, gender, social status, place of residence, as well as the tolerance and presence of adverse events of ART [5]. HIV-infected patients with a low level of adherence are most often at risk of developing acquired HIV-1 drug resistance [6].

Identifying key factors affecting the degree of adherence will allow timely identification of patients with a high risk of poor adherence, and develop individual management tactics for such patients to reduce the risk of resistance development.

## AIM OF THE RESEARCH

To study adherence to antiretroviral therapy in patients with virological failure and the effect of adherence on the risk of developing acquired HIV-1 resistance to first-line antiretroviral drugs.

## MATERIALS AND METHODS

Two hundred and seventy one patients with an established diagnosis of HIV infection, with different stages of the disease, aged 21 to 59 years, who were followed-up from March 2018 to August 2022 at the Center for the Prevention and Control of AIDS (City Infectious Clinical Hospital No. 1, Novosibirsk) and received ART, were enrolled in a study. The criterion for inclusion of patients in the study was virological breakthrough during previously effective first-line ART (when an undetectable level of HIV RNA load was recorded for 3–6 months). Written informed consent was received from each patient to participate in the study, in compliance with the voluntary nature of the study under the Federal Law of the Russian Federation “On the Basics of protecting the Health of Citizens in the Russian Federation.”

The analysis of the degree of adherence to ART in patients with HIV infection and virological breakthrough was carried out, considering the following factors: social status (employed, unemployed); gender; place of residence (urban or rural); route of infection (sexual or parenteral). The following criteria for the degree of adherence to ART were determined: no medication missed – high adherence; single missed medication – moderate one; interruption of the treatment regimen for over than 7 days – low one.

At the State Research Center of Virology and Biotechnology VECTOR, HIV-1 RNA was isolated from 250  $\mu$ l of blood plasma using a RealBest Deltamag HBV/HCV/HIV kit (JSC Vector-Best, Russia) in accordance with the manufacturer's instructions. To obtain a virus-specific fragment encoding the viral protease-revertase region (PR-RT, with a length of 1300 base pairs), a nested polymerase chain reaction

(городской или сельский житель); путь инфицирования (половой или парентеральный). Были определены следующие критерии степени приверженности к АРТ: отсутствие пропусков в приеме препарата – высокая степень приверженности; однократные пропуски – средняя; прерывание схемы лечения более чем на 7 дней – низкая.

На базе ФБУН Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» у пациентов осуществлялось выделение РНК ВИЧ-1 из 250 мкл плазмы крови с использованием набора «РеалБест ДельтаMag ВГВ/ВГС/ ВИЧ» (АО «Вектор-Бест», Россия) в соответствии с инструкцией производителя. Для получения вирус-специфического фрагмента, кодирующего область протеазы-ревертазы вируса (PR-RT, протяженностью 1300 пар нуклеотидов), применяли схему гнездовой полимеразной цепной реакции (ПЦР) с использованием лабораторного набора праймеров. Первый раунд амплификации проводили с применением лиофилизированного набора «РеалБест Мастер микс ОТ» (АО «Вектор-Бест», Россия), а второй – с набором «БиоМастер HS-Taq ПЦР-Color» (ООО «БиоЛабМикс», Россия). Последовательность нуклеотидов полученных фрагментов ВИЧ определяли методом прямого секвенирования по обеим цепям с помощью автоматического генетического анализатора ABI PRISM 3130xl (Applied Biosystems, США). Расшифрованные нуклеотидные последовательности ВИЧ собирали и редактировали в программе Sequencher 4.1 Software (Gene Codes Corporation, Ann Arbor, MI, USA) и сравнивали с соответствующими референс-последовательностями различных субтипов и рекомбинантных форм ВИЧ-1 из международной базы данных (Los Alamos HIV-1 database) с применением программ ClustalW и BioEdit 7.2.5. Филогенетический анализ выполняли с помощью MEGA 6.0.6, используя метод объединения ближайших соседей (neighbor joining method, NJ) на основе двухпараметрической модели Кимуры.

Статистическую значимость топологии филогенетического дерева оценивали через анализ бутстрепов. С использованием интернет-ресурса jpHMM ([http://jphmm.gobics.de/submission\\_hiv.html](http://jphmm.gobics.de/submission_hiv.html)) исследованы возможные мозаичные последовательности и выявлены уникальные рекомбинантные (URF) вирусы. Анализ наличия мутаций, связанных с лекарственной устойчивостью ВИЧ, проводили с помощью специализированного интернет-ресурса HIV Drug Resistance Database (<https://hivdb.stanford.edu>). Анализ мутаций, связанных с резистентностью ВИЧ к

(PCR) схеме с использованием лабораторного набора праймеров был следующим. Первый раунд амплификации проводили с использованием набора RealBest Master Mix OT (JSC Vector-Best, Russia), а второй – с использованием набора BioMaster HS-Taq PCR-Colorkit (LLC BioLabMix, Russia). Нуклеотидная последовательность полученных фрагментов ВИЧ определялась методом прямого секвенирования с помощью ABI PRISM 3130xl (Applied Biosystems, USA). Декодированные нуклеотидные последовательности собирались и редактировались с помощью программы Sequencher 4.1 (Gene Codes Corporation, Ann Arbor, MI, USA), а затем сравнивались с соответствующими референс-последовательностями различных субтипов и рекомбинантными формами ВИЧ-1 из международной базы данных (Los Alamos HIV Sequence Database) с помощью программ ClustalW и BioEdit 7.2. softwares. Филогенетический анализ проводился с помощью MEGA 6.0.6 и метода объединения ближайших соседей (NJ) на основе двухпараметрической модели Кимуры.

Статистическая значимость топологии филогенетического дерева оценивалась с помощью метода бутстрепов. Использование интернет-ресурса jpHMM ([http://jphmm.gobics.de/submission\\_hiv.html](http://jphmm.gobics.de/submission_hiv.html)) позволило выявить возможные мозаичные последовательности и уникальные рекомбинантные (URF) вирусы. Анализ наличия мутаций, связанных с лекарственной устойчивостью ВИЧ, проводился с помощью специализированного интернет-ресурса HIV Drug Resistance Database (<https://hivdb.stanford.edu>). Анализ мутаций, связанных с резистентностью ВИЧ к

Филогенетический анализ проводился с помощью MEGA 6.0.6 и метода объединения ближайших соседей (NJ) на основе двухпараметрической модели Кимуры.

## RESULTS AND DISCUSSION

Men predominated among the 271 patients – 56.4% ( $n = 153$ ). The age of the patients ranged from 18 to 59 years and averaged  $35.4 \pm 2.85$  years. According to the results of the contact tracing, it was revealed that in the cohort of patients ( $n = 271$ ), heterosexual transmission of HIV was dominant – 64.8%. Parenteral transmission (intravenous drug abuse) accounted for 31.5% of cases, sexual transmission – 0.4%, the unspecified transmission route – 3.3% (Fig. 1). Parenteral HIV transmission was more often registered in men – in 50.9% of cases (78 out of 153) versus 25.4% (30 out of 118) in women ( $p < 0.05$ ).

лекарственным препаратам, осуществляли на основе рекомендаций ВОЗ по эпиднадзору за перечнем мутаций лекарственной устойчивости.

Статистический анализ данных проводился с помощью программы STATISTICA 10. Различия частотных характеристик качественных переменных оценивали с использованием критерия  $\chi^2$  Пирсона. Различия средних значений количественных показателей определяли с помощью критерия Манна – Уитни. Значимыми считали различия при  $p < 0.05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Среди 271 обследованного пациента преобладали мужчины – 56.4 % ( $n = 153$ ). Возраст больных варьировал от 18 до 59 лет и в среднем составил  $35.4 \pm 2.85$  года. По результатам эпидемиологического расследования выявлено, что в общей группе больных ( $n = 271$ ) доминировал половой гетеросексуальный путь передачи ВИЧ-инфекции – 64.8 %. На долю парентерального пути инфицирования (внутривенное введение наркотиков) пришлось 31.5 % случаев, полового гомосексуального пути – 0.4 %, неуточненного пути – 3.3 % (рис. 1). У мужчин чаще регистрировался парентеральный путь передачи ВИЧ-инфекции – в 50.9 % (78 из 153) случаев против 25.4 % (30 из 118) у женщин ( $p < 0.05$ ).

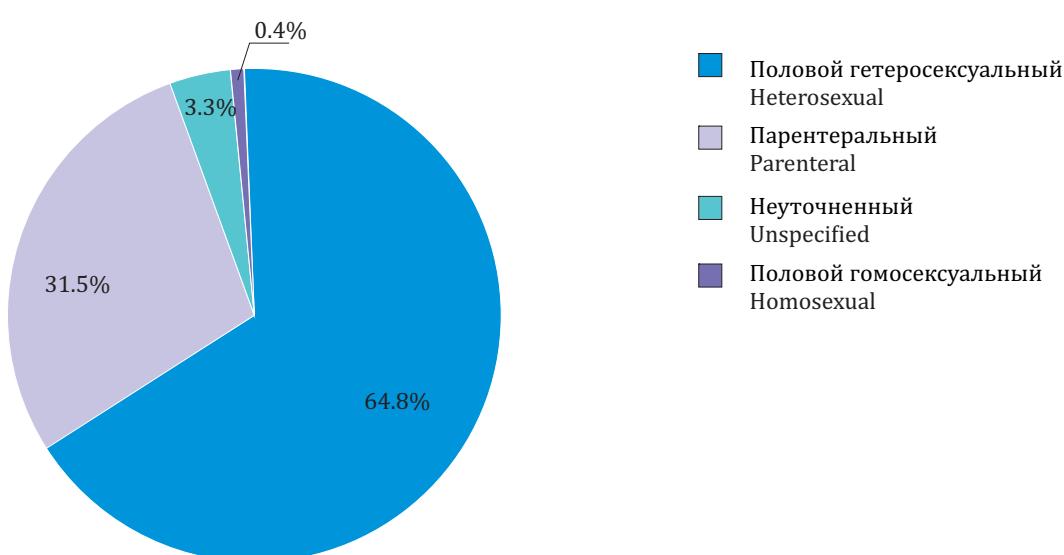
По результатам ретроспективного анализа степени приверженности к АРТ установлено, что у 48.3 % (131 из 271) больных имелись пропуски в приеме препаратов, в том числе низкая приверженность отмечена у 31.7 % (86 из 271) больных; средняя – у 16.6 % (45 из 271) пациентов.

According to the results of a retrospective analysis of the degree of adherence to ART, it was found that 48.3% (131 out of 271) patients had missed medications, with low adherence in 31.7% (86 out of 271) of patients; moderate – in 16.6% (45 out of 271) of patients. An analysis of the relationship between the degree of adherence to ART in HIV-infected patients and various social, gender and epidemiological factors was carried out (Fig. 2).

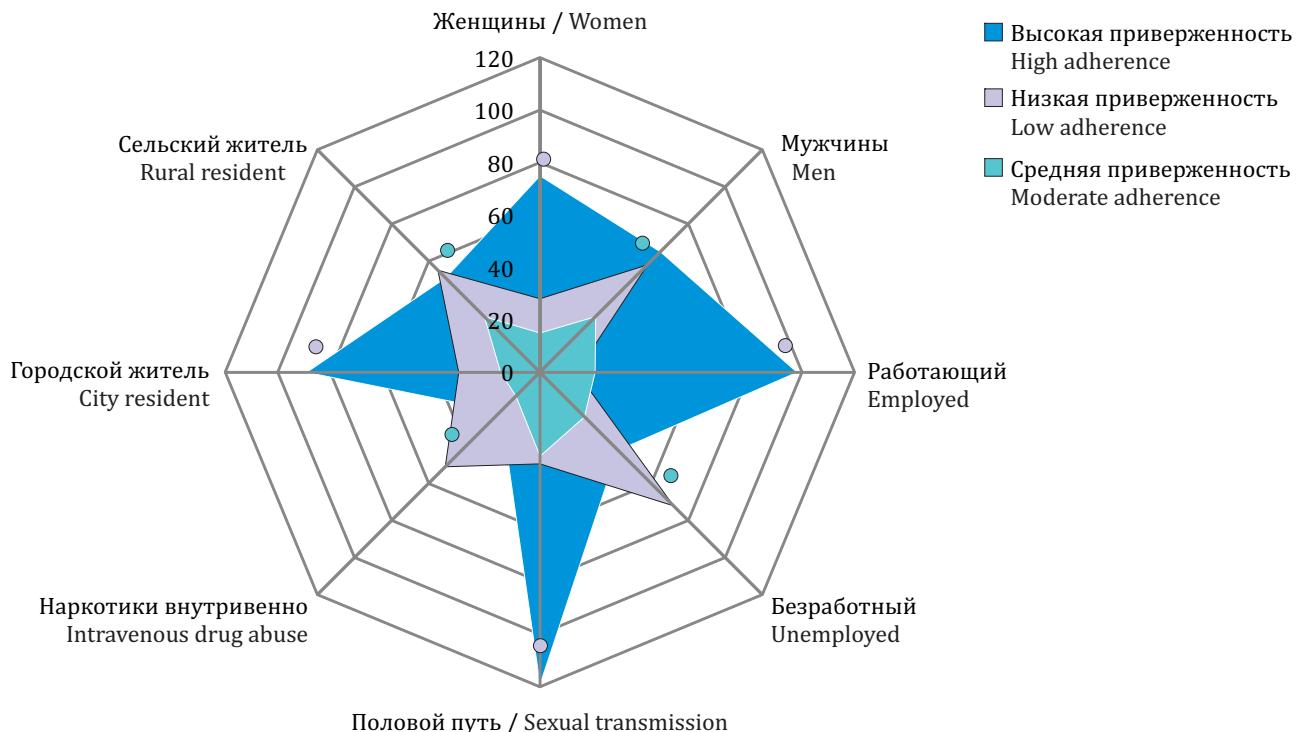
It was established that most often poor adherence was registered in people with parenteral HIV transmission – 75.3%, compared with sexual one – 36% ( $p < 0.001$ ), and in rural residents – 62.5%, compared with urban ones – 34.1% ( $p < 0.001$ ). Among men, poor adherence was found more often than in women – 57.5 and 36.4%, respectively ( $p < 0.001$ ). Also, a significant factor was the lack of permanent employment – poor adherence was registered in 69.5% of patients in this group compared with patients having permanent employment – 26.3% ( $p < 0.05$ ). On the contrary, high adherence was more often observed in female patients – 63.6%, compared with male ones – 42.5%; in the presence of permanent employment – 73.7%, compared with 30.5% in its absence; in the case of sexual transmission – 64.0%, compared with parenteral transmission – 24.7%; in urban residents – 65.9% versus 37.5% in rural residents ( $p < 0.05$ ).

The patients received different ART regimens. An analysis of the degree of adherence in different treatment regimens was carried out (Fig. 3).

A significant part of patients (102 out of 271) received the following regimen as first-line therapy: tenofovir 300 mg once a day + lamivudine 300 mg



**Рис. 1.** Распределение больных по путям передачи ВИЧ-инфекции ( $n = 271$ )  
**Fig. 1.** Distribution of patients by HIV transmission routes ( $n = 271$ )



**Рис. 2.** Распределение больных по степени приверженности к антиретровирусной терапии в зависимости от изучаемых факторов, % (n = 271)

**Fig. 2.** Distribution of patients by the degree of adherence to antiretroviral therapy, depending on the factors studied, % (n = 271)

тов. Проведен анализ взаимосвязи степени приверженности к АРТ у обследованных больных ВИЧ-инфекцией с различными социальными, гендерными и эпидемиологическими факторами (рис. 2).

Установлено, что наиболее часто нарушения приверженности регистрировались у лиц с парентеральным путем передачи ВИЧ – 75.3 %, по сравнению с половым – 36 % ( $p < 0.001$ ) и у жителей сельской местности – 62.5 %, по сравнению с городскими жителями – 34.1 % ( $p < 0.001$ ). Среди мужчин нарушения приверженности выявлялись чаще, чем у женщин – 57.5 и 36.4 % соответственно ( $p < 0.001$ ). Также значимым фактором явилось отсутствие постоянного труда – нарушение приверженности отмечалось у 69.5 % больных этой группы по сравнению с пациентами, имеющими постоянное место работы – 26.3 % ( $p < 0.05$ ). Напротив, высокая приверженность чаще отмечалась у больных женского пола – 63.6 %, по сравнению с мужчинами – 42.5 %; при наличии постоянного труда – 73.7 %, по сравнению с 30.5 % при его отсутствии; при половом пути передачи – 64.0 %, по сравнению с парентеральным путем передачи – 24.7 %; у городских жителей – 65.9 % против 37.5 % у сельских ( $p < 0.05$ ).

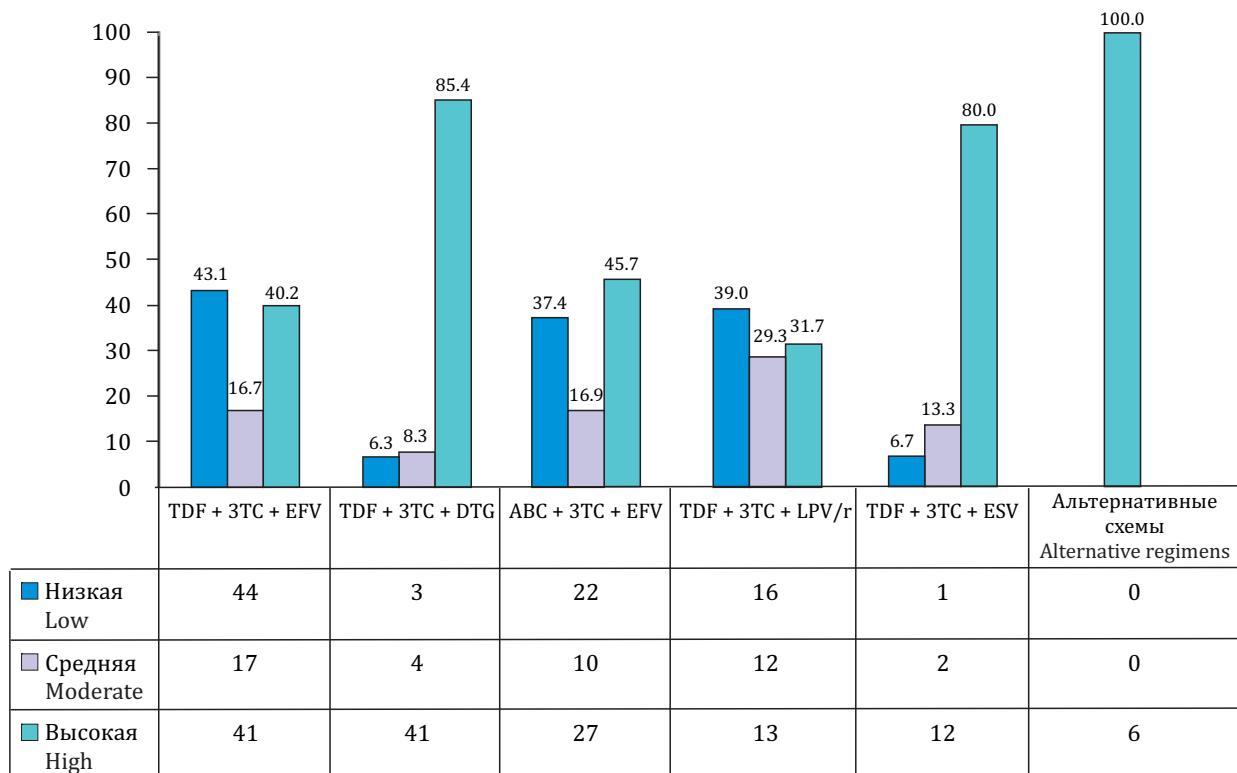
once a day + efavirenz 600 mg once a day (TDF + 3TC + EFV) – 37.6%. The proportion of patients with a high degree of adherence to this ART regimen was 40.2%; with moderate one – 16.7% and with low one – 43.1%.

Another regimen: abacavir 600 mg once a day + lamivudine 300 mg once a day + efavirenz 600 mg once a day (ABC + 3TC + EFV) received 21.7% of patients (59 out of 271), of which 45.7% turned out to have high adherence; moderate one – 16.9% and low one – 37.4% of patients.

The next regimen: tenofovir 300 mg once a day + lamivudine 300 mg once a day + dolutegravir 50 mg once a day (TDF + 3TC + DTG) was received by 17.7% of patients (48 out of 271). The proportion of patients with high adherence was 85.4%; moderate one – 8.3% and low one – 6.3%.

The regimen with the inclusion of protease inhibitors, lopinavir/ritonavir: tenofovir 300 mg once a day + lamivudine 300 mg once a day + lopinavir/ritonavir 200 + 50 mg 2 tab. twice a day (TDF + 3TC + LPV/r) received 15.1% of patients (41 out of 271), among whom 31.7% were with high adherence; with moderate one – 29.3% and low one – 39%.

The proportion of patients receiving the ART regimen: tenofovir 300 mg once a day + lamivudine 300 mg once a day + elvitegravir 20 mg once a day



**Рис. 3.** Распределение больных ВИЧ-инфекцией с разной приверженностью с учетом режима АРТ ( $n = 271$ )

**Fig. 3.** Distribution of HIV-infected patients with different adherence to antiretroviral therapy, taking into account the ART regimen ( $n = 271$ )

Обследованные пациенты получали разные схемы АРТ. Проведен анализ степени приверженности при различных режимах терапии (рис. 3).

Значительная часть пациентов (102 из 271) в качестве терапии первой линии получали схему: тенофовир 300 мг 1 раз в сутки + ламивудин 300 мг 1 раз в сутки + эфавиренз 600 мг 1 раз в сутки (TDF + 3TC + EFV) – 37.6 %. Доля пациентов с высокой степенью приверженности на этой схеме АРТ составила 40.2 %; средней – 16.7 % и низкой – 43.1 %.

Лечение по схеме: абакавир 600 мг 1 раз в сутки + ламивудин 300 мг 1 раз в сутки + эфавиренз 600 мг 1 раз в сутки (ABC + 3TC + EFV) – получали 21.7 % пациентов (59 из 271), из которых с высоким уровнем приверженности оказалось 45.7 %, средним – 16.9 % и низким – 37.4 % больных.

Лечение по схеме: тенофовир 300 мг 1 раз в сутки + ламивудин 300 мг 1 раз в сутки + долутегравир 50 мг 1 раз в сутки (TDF + 3TC + DTG) получали 17.7 % больных (48 из 271). Доля больных с высокой степенью приверженности составила 85.4 %; средней – 8.3 % и низкой – 6.3 %.

Лечение по схеме с включением ингибитора протеазы лопинавир/ритонавир: тенофовир

(TDF + 3TC + ESV) was 5.5% (15 out of 271 patients). High adherence for patients treated with the TDF + 3TC + ESV regimen was revealed in 80%; moderate one – in 13.3% and low one – in 6.7% of patients.

Some patients received the first-line alternative regimen (2.4%): TDF + 3TC + RAL (raltegravir) (2 people); TDF + 3TC + DRV/r (darunavir/ritonavir) (3 people) and Ph-AZT (phosphazide) + 3TC + RAL (1 person) with high adherence (Fig. 3).

It has been established that patients receiving the TDF + 3TC + DTG regimen were more likely to have a high degree of adherence (85.4%), compared with patients treated with the TDF + 3TC + EFV and TDF + 3TC + LPV/r regimens (40.2% and 31.7%, respectively) ( $p < 0.001$ ). On the contrary, low adherence was most often recorded in treatment with the following regimens: TDF + 3TC + EFV (43.1%), ABC + 3TC + EFV (37.4%), and TDF + 3TC + LPV/r (39%), compared to patients treated with the TDF + 3TC + DTG (6.3%) and TDF + 3TC + ESV (6.7%) regimens ( $p < 0.001$ ). According to the totality of all mutations detected, HIV drug-resistant variants were found in 54.6% of examined patients with virological failure (148 out of 271). Of the 148 HIV-1 drug-resistant variants, a combination of drug resistance mutations to nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NRTIs)

300 мг 1 раз в сутки + ламивудин 300 мг 1 раз в сутки + лопинавир / ритонавир 200 + 50 мг по 2 таб. 2 раза в сутки (TDF + 3TC + LPV/r) получали 15.1 % пациентов (41 из 271), среди которых с высокой приверженностью оказалось 31.7 %; средней – 29.3 % и низкой – 39 %.

Доля пациентов, получавших терапию по схеме: тенофовир 300 мг 1 раз в сутки + ламивудин 300 мг 1 раз в сутки + элсульфавирин 20 мг 1 раз в сутки (TDF + 3TC + ESV) составила 5.5 % (15 из 271 абс). Высокая степень приверженности на схеме TDF + 3TC + ESV выявлена у 80 %; средняя – у 13.3 % и низкая – у 6.7 % больных.

Часть пациентов получали препараты первой линии альтернативного ряда (2.4 %) – TDF + 3TC + RAL (ралтеглавир) (2 чел.); TDF + 3TC + DRV/r (дарунавир/ритонавир) (3 чел.) и Ph-AZT (фосфазид) + 3TC + RAL (1 чел.) с высокой степенью приверженности (см. рис. 3).

Установлено, что пациенты, получавшие схему TDF + 3TC + DTG, чаще имели высокую степень приверженности (85.4 %), по сравнению с больными, получавшими лечение по схемам TDF + 3TC + EFV и TDF + 3TC + LPV/r (40.2 % и 31.7 % соответственно) ( $p < 0.001$ ). Напротив, низкая приверженность наиболее часто регистрировалась при лечении по схемам TDF + 3TC + EFV – 43.1 %, ABC + 3TC + EFV – 37.4 % и TDF + 3TC + LPV/r – 39 %, по сравнению с больными, получающими терапию по схемам TDF + 3TC + DTG – 6.3 % и TDF + 3TC + ESV – 6.7 % ( $p < 0.001$ ).

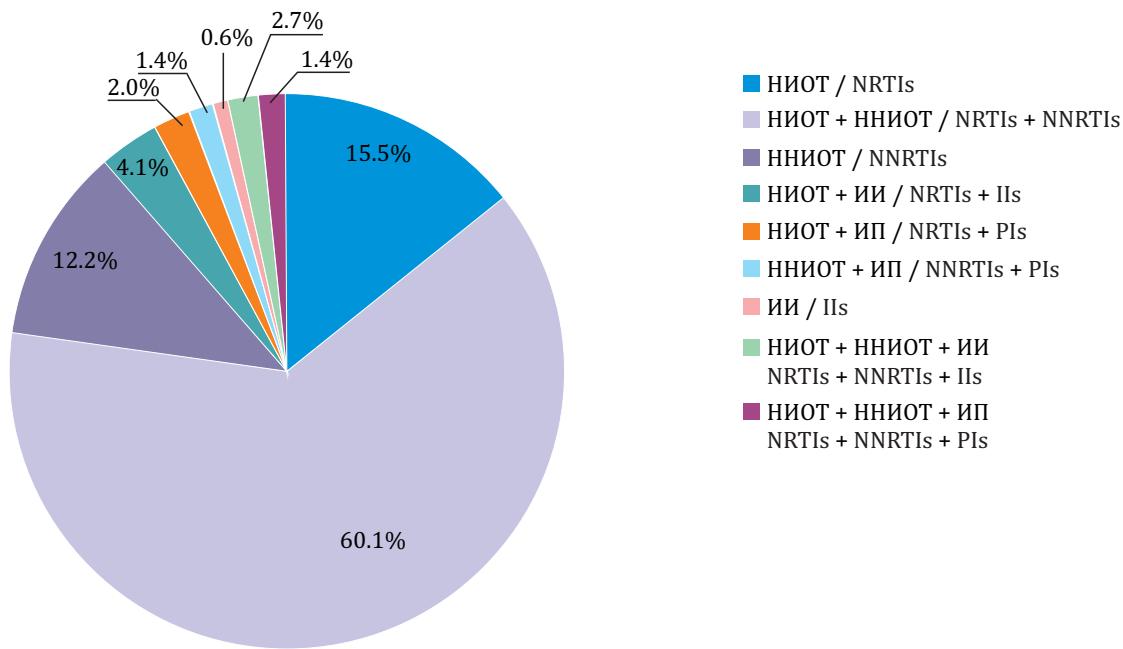
По совокупности всех зарегистрированных мутаций резистентные варианты ВИЧ выявлены у 54.6 % обследованных больных с вирусологической неудачей АРТ (148 из 271). Из 148 резистентных вариантов ВИЧ-1 чаще других выявлялось сочетание мутаций устойчивости к препаратам из группы нуклеозидных ингибиторов обратной транскриптазы (НИОТ) и ненуклеозидных ингибиторов обратной транскриптазы (ННИОТ) – в 60.1 % (89). Изолированные мутации к НИОТ встречались в 15.5 % (23) случаев; к ННИОТ – в 12.2 % (18). Сочетание мутаций резистентности к НИОТ + ингибиторам интегразы (ИИ) выявлено у 4.1 % (6) больных. Доля пациентов с устойчивостью к НИОТ и ИП (ингибиторы протеазы) составила 2 % (3); к ННИОТ + ИИ – у 1.4 % (2). Комбинация мутаций сразу к трем классам препаратов выявлена у 6 больных: НИОТ + ННИОТ + ИИ – 2.7 % (4) и НИОТ + ННИОТ + ИП – 1.4 % (2). У одного пациента (0.6 %) зарегистрирована изолированная мутация к ИИ (рис. 4).

was most often detected and non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NNRTIs) – in 60.1% (89) patients. Isolated mutations to NRTIs were found in 15.5% of cases (23); to NNRTIs – in 12.2% (18) patients. A combination of drug-resistant mutations to NRTIs + integrase inhibitors (IIs) was in 4.1% (6) patients. The proportion of patients with resistance to NRTIs and PIs (protease inhibitors) was 2% (3) patients; to NNRTIs + IIs – in 1.4% (2) patients. A combination of mutations to three classes of drugs simultaneously was detected in 6 patients: NRTIs + NNRTIs + IIs – 2.7% (4) and NRTIs + NNRTIs + PI – 1.4% (2). An isolated mutation to IIs was in one patient (0.6%) (Fig. 4).

It is interesting to note that among patients with detected drug resistance ( $n = 148$ ), the proportion of patients who missed medications was the highest and amounted to 70.9% (low – 52% (77); moderate – 18.9% (28)), which is significantly higher than among those who did not have HIV-1 drug resistance ( $n = 123$ ) – 23.6% (moderate – 4.1% (5 out of 123); low – 19.5% (24 out of 123);  $p < 0.001$ ).

## CONCLUSION

The analysis we carried out in the group of HIV-infected patients with virological failure during previously effective ART ( $n = 271$ ) showed that non-adherence to ART was registered in a significant proportion of patients – 48.3% (low – 31.7%, moderate – 16.6%). It was found that the factors contributing to poor adherence to ART were: parenteral HIV transmission (in 75.3%); living in rural areas (in 62.5%); lack of permanent employment (in 69.5%); male gender (in 57.5%). Patients treated with the TDF + 3TC + DTG regimen were more likely to have a high degree of adherence (85.4%), compared with patients treated with the TDF + 3TC + EFV and TDF + 3TC + LPV/r regimens (40.2 and 31.7%, respectively) ( $p < 0.001$ ). In contrast, low adherence was most often recorded in the TDF + 3TC + EFV (43.1%), ABC + 3TC + EFV (37.4%) and TDF + 3TC + LPV/r (39.0%) regimens compared with patients treated with the TDF + 3TC + DTG (6.3%) and TDF + 3TC + ESV (6.7%) regimens ( $p < 0.001$ ). Low adherence to treatment regimens, including efavirenz and lopinavir/ritonavir, is most likely due to the high frequency of adverse events when taking these drugs (in accordance with the package leaflets). Among patients with detected HIV drug resistance ( $n = 148$ ), individuals with poor adherence prevailed (70.9%) compared with patients who did not have HIV drug resistance, where the proportion of people with impaired adherence was only 23.6% ( $p < 0.001$ ). This indicates the relationship between poor adherence to ART and the development of HIV drug resistance.



**Рис. 4.** Распределение резистентных вариантов ВИЧ-1 по классам препаратов ( $n = 148$ )  
(НИОТ – нуклеозидные ингибиторы обратной транскриптазы; ННИОТ – ненуклеозидные ингибиторы обратной транскриптазы; ИИ – ингибиторы интегразы; ИП – ингибиторы протеазы)

**Fig. 4.** Distribution of HIV-1 drug-resistant variants by drug classes ( $n = 148$ )  
(NRTIs – nucleoside reverse transcriptase inhibitors; NNRTIs – non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors;  
IIs – integrase inhibitors; PIs – protease inhibitors)

Интересно отметить, что среди пациентов с выявленной лекарственной устойчивостью ( $n = 148$ ) доля больных с нарушением приверженности оказалась наиболее высокой и составила 70.9 % (низкая – 52 % (77); средняя – 18.9 % (28)), что достоверно выше, чем среди лиц, у которых не выявлена резистентность ВИЧ-1 ( $n = 123$ ) – 23.6 % (средняя – 4.1 % (5 из 123); низкая – 19.5 % (24 из 123);  $p < 0.001$ ).

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенный анализ в группе больных ВИЧ-инфекцией с развившейся вирусологической неудачей на фоне ранее эффективной АРТ ( $n = 271$ ) показал, что нарушение приверженности к АРТ отмечалось у значительной доли больных – 48.3 % (низкая – 31.7 %, средняя – 16.6 %). Установлено, что факторами, способствующими нарушению приверженности к АРТ, являлись: парентеральный путь передачи ВИЧ (у 75.3 %); проживание в сельской местности (у 62.5 %); отсутствие постоянного трудоустройства (у 69.5 %); мужской пол (у 57.5 %). Пациенты, получавшие лечение по схеме TDF + 3TC + DTG, чаще имели высокую степень приверженности (85.4 %), по сравнению с больными, лечившимися по схемам TDF + 3TC + EFV и TDF + 3TC +

Considering the data obtained, when choosing the starting ART regimen, it is necessary to analyze the degree of risk of poor adherence depending on social and other factors. Patients with a predicted low level of adherence should be prescribed ART regimens comprising drugs with a high genetic barrier of resistance and minimal risk of adverse events, such as the integrase inhibitor, dolutegravir; protease inhibitor, darunavir; NNRTIs, etravirine and doravirine.

The revealed high frequency of registration of HIV-1 drug resistance mutations both in the Novosibirsk region (54.6%) and in other regions and districts of the Russian Federation (Ural Federal District – 62.8%, Volga Federal District – 64% [7, 8]) necessitates timely testing for HIV drug resistance in patients with virological failure during ART and introduction of screening for primary drug resistance in patients at risk of poor adherence to treatment.

The study was carried out within the framework of the state assignment of the State Research Center of Virology and Biotechnology VECTOR, Koltsovo, Novosibirsk region.

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

LPV/r (40.2 и 31.7 % соответственно) ( $p < 0.001$ ). Наоборот, низкая приверженность наиболее часто регистрировалась при режимах TDF + 3TC + EFV (43.1 %), ABC + 3TC + EFV (37.4 %) и TDF + 3TC + LPV/r (39.0 %) по сравнению с большими, получавшими лечение по схемам TDF + 3TC + DTG (6.3 %) и TDF + 3TC + ESV (6.7 %) ( $p < 0.001$ ). Низкая приверженность при схемах лечения, включавших эфавиренз и лопинавир/ритонавир, вероятнее всего, обусловлена высокой частотой нежелательных явлений при приеме данных лекарственных препаратов (в соответствии с инструкцией к применению). Среди больных с выявленной лекарственной устойчивостью ВИЧ ( $n = 148$ ) преобладали лица с нарушением приверженности (70.9 %) по сравнению с пациентами, у которых не выявлена резистентность ВИЧ, где доля лиц с нарушением приверженности составила лишь 23.6 % ( $p < 0.001$ ). Это свидетельствует в пользу взаимосвязи нарушения приверженности к АРТ и формирования лекарственной устойчивости ВИЧ.

Учитывая полученные данные, при выборе стартовой схемы АРТ необходимо проводить анализ степени риска нарушения приверженности в зависимости от социальных и других факторов. Пациентам с прогнозируемым низким уровнем

приверженности необходимо назначать схемы АРТ с включением в них препаратов с высоким генетическим барьером устойчивости и минимальным риском нежелательных явлений – такие как ингибитор интегразы – долутегравир; ингибитор протеазы – дарунавир; ННИОТ – этравирин и доравирин.

Выявленная высокая частота регистрации мутаций резистентности ВИЧ-1 как на территории Новосибирской области (54.6 %), так и на территории других регионов и округов РФ (Уральский федеральный округ – 62.8 %, Приволжский федеральный округ – 64 % [7, 8]) диктует необходимость своевременного обследования на резистентность ВИЧ у пациентов с вирусологической неудачей на фоне АРТ и внедрения скрининга первичной лекарственной устойчивости у больных из группы риска по нарушению приверженности.

Исследование было выполнено в рамках государственного задания ФБУН Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. World Health Organization. HIV/AIDS. URL: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hiv-aids> (дата обращения: 14.09.2023).
2. Parikh U.M., McCormick K., van Zyl G., Mellors J.W. Future technologies for monitoring HIV drug resistance and cure // Curr. Opin. HIV AIDS. 2017;12(2):182-189. DOI: 10.1097/COH.oooooooooooo000344.
3. Alteri C., Svicher V., Gori C. et al. Characterization of the patterns of drug-resistance mutations in newly diagnosed HIV-1 infected patients naïve to the anti-retroviral drugs // BMC Infect. Dis. 2009;9:111. DOI: 10.1186/1471-2334-9-111.
4. Клинические рекомендации. ВИЧ-инфекция у взрослых. Минздрав РФ. 2020. URL: <https://aids43.ru/doc/%D0%9A%D0%A079%20%D0%92%D0%98%D0%A7%20%D0%B2%D0%BB%D1%80%D0%BE%D1%81%D0%BB%D1%88B%D0%B5%202020.pdf> (дата обращения: 14.09.2023).
5. Юшук Н.Д., Федяева О.Н., Сирота Н.А. Стратегии оценки приверженности к антиретровирусной терапии пациентов с ВИЧ-инфекцией // Клиническая медицина. 2016;94(1):42-47. DOI: 10.18821/0023-2149-2016-94-1-42-47.
6. Mulato A., Acosta R., Chang S. et al. Simulating HIV breakthrough and resistance development during variable adherence to antiretroviral treatment // J. Acquir. Immune Defic. Syndr. 2021;86(3):369-377. DOI: 10.1097/QAI.oooooooooooo0002562.

## REFERENCES

1. World Health Organization. HIV/AIDS. URL: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hiv-aids> (accessed 14.09.2023).
2. Parikh U.M., McCormick K., van Zyl G., Mellors J.W. Future technologies for monitoring HIV drug resistance and cure. *Curr. Opin. HIV AIDS*. 2017;12(2):182-189. DOI: 10.1097/COH.oooooooooooo000344.
3. Alteri C., Svicher V., Gori C. et al. Characterization of the patterns of drug-resistance mutations in newly diagnosed HIV-1 infected patients naïve to the anti-retroviral drugs. *BMC Infect. Dis.* 2009;9:111. DOI: 10.1186/1471-2334-9-111.
4. Clinical guidelines. HIV infection in adults. Ministry of Health of the Russian Federation. 2020. URL: <https://aids43.ru/doc/%D0%9A%D0%A079%20%D0%92%D0%98%D0%A7%20%D0%B2%D0%BB%D1%80%D0%BE%D1%81%D0%BB%D1%88B%D0%B5%202020.pdf> (accessed 14.09.2023).
5. Yushchuk N.D., Fedyaeva O.N., Sirota N.A. Strategy for the assessment of compliance with antiretroviral therapy in patients with HIV infection. *Clinical Medicine*. 2016;94(1):42-47. DOI: 10.18821/0023-2149-2016-94-1-42-47. (In Russ.)
6. Mulato A., Acosta R., Chang S. et al. Simulating HIV breakthrough and resistance development during variable adherence to antiretroviral treatment. *J. Acquir. Immune Defic. Syndr.* 2021;86(3):369-377. DOI: 10.1097/QAI.oooooooooooo0002562.

7. Питерский М.В., Гусев А.Г., Ходаков О.А. и др. Разнообразие субтипов, филогенетический анализ и изучение лекарственной устойчивости штаммов ВИЧ-1, циркулирующих в Уральском федеральном округе // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2022;99(1):38-53. DOI: 10.36233/0372-9311-178.
8. Парфенова О.В., Пекшева О.Ю., Зайцева Н.Н. Распространение мутаций резистентности и субтипов ВИЧ-1 как показатель динамики эпидемии ВИЧ-инфекции в Приволжском федеральном округе в 2016–2018 гг. // Здоровье населения и среда обитания. 2019;8(317):50-55. DOI: 10.35627/2219-5238/2019-317-8-50-55.
7. Piterskiy M.V., Gusev A.G., Khodakov O.A. et al. HIV-1 subtype diversity, phylogenetic analysis and study of drug resistance in strains circulating in the Ural Federal District. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2022;99(1):38-53. DOI: 10.36233/0372-9311-178. (In Russ.)
8. Parfenova O.V., Peksheva O.Yu., Zaitseva N.N. Spread of mutations of resistance and HIV-1 subtypes as an indicator of dynamics of HIV epidemic in the Volga federal district in 2016–2018. *Zdorov'e Naseleniya i Sreda Obitaniya*. 2019;8(317):50-55. DOI: 10.35627/2219-5238/2019-317-8-50-55. (In Russ.)

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

**Капустин Дмитрий Вячеславович** – канд. мед. наук, ассистент кафедры инфекционных болезней ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России; руководитель подразделения «Центр по профилактике и борьбе со СПИД» ГБУЗ НСО «Городская инфекционная клиническая больница № 1», Новосибирск, Россия. ORCID: оooo-ooo2-7060-4710.

**Краснова Елена Игоревна** – д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой инфекционных болезней ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России; врач-инфекционист ГБУЗ НСО «Городская инфекционная клиническая больница № 1», Новосибирск, Россия. ORCID: оooo-ooo3-3168-9309.

**Хохлова Наталья Игоревна** – канд. мед. наук, доцент кафедры инфекционных болезней ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России; врач-инфекционист ГБУЗ НСО «Городская инфекционная клиническая больница № 1», Новосибирск, Россия.

**Налимова Татьяна Михайловна** – младший научный сотрудник отдела ретровирусов ФБУН Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, р.п. Кольцово, Новосибирская область, Россия. ORCID: оooo-ooo1-8408-0930.

**Крикливая Надежда Павловна** – стажер-исследователь отдела ретровирусов ФБУН Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, р.п. Кольцово, Новосибирская область, Россия. ORCID: оooo-ooo3-1534-3391.

**Халиков Максим Равильевич** – стажер-исследователь отдела ретровирусов ФБУН Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, р.п. Кольцово, Новосибирская область, Россия.

**Тотменин Алексей Владимирович** – канд. биол. наук, ведущий научный сотрудник отдела ретровирусов ФБУН Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, р.п. Кольцово, Новосибирская область, Россия. ORCID: оooo-ooo2-7418-4872.

## ABOUT THE AUTHORS

**Dmitry V. Kapustin** – Cand. Sci. (Med.), Assistant, Department of Infectious Diseases, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia; Department Head, Center for the Prevention and Control of AIDS in the Novosibirsk region, City Infectious Diseases Clinical Hospital No. 1, Novosibirsk, Russia. ORCID: оooo-ooo2-7060-4710.

**Elena I. Krasnova** – Dr. Sci. (Med.), Professor, Head, Department of Infectious Diseases, Novosibirsk State Medical University; Infectious Disease Physician, City Infectious Diseases Clinical Hospital No. 1, Novosibirsk, Russia. ORCID: оooo-ooo3-3168-9309.

**Natalia I. Khokhlova** – Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Department of Infectious Diseases, Novosibirsk State Medical University; Infectious Disease Physician, City Infectious Diseases Clinical Hospital No. 1, Novosibirsk, Russia.

**Tatyana M. Nalimova** – Junior Researcher, Department of Retroviruses, State Research Center of Virology and Biotechnology VECTOR, Koltsovo, Novosibirsk region, Russia. ORCID: оooo-ooo1-8408-0930.

**Nadezhda P. Kriklivaya** – Intern Researcher, Department of Retroviruses, State Research Center of Virology and Biotechnology VECTOR, Koltsovo, Novosibirsk region, Russia. ORCID: оooo-ooo3-1534-3391.

**Maxim R. Khalikov** – Intern Researcher, Department of Retroviruses, State Research Center of Virology and Biotechnology VECTOR, Koltsovo, Novosibirsk region, Russia.

**Alexey V. Totmenin** – Cand. Sci. (Bio.), Leading Researcher, Department of Retroviruses, State Research Center of Virology and Biotechnology VECTOR, Koltsovo, Novosibirsk region, Russia. ORCID: оooo-ooo2-7418-4872.

**Lyudmila G. Gotfrid** – Intern Researcher, Department of Retroviruses, State Research Center of Virology and Biotechnology VECTOR, Koltsovo, Novosibirsk region, Russia. ORCID: оooo-ooo1-5896-8231.

**Maria P. Gashnikova** – Laboratory Assistant Researcher, Department of Retroviruses, State Research Center of Virology and Biotechnology VECTOR, Koltsovo, Novosibirsk region, Russia. ORCID: оooo-ooo1-9888-0779.

**Natalia M. Gashnikova** – Cand. Sci. (Bio.), Head, Department of Retroviruses, State Research Center of Virology and Biotechnology VECTOR, Koltsovo, Novosibirsk region, Russia. ORCID: оooo-ooo2-0891-0880.

**Готфрид Людмила Геннадьевна** – стажер-исследователь отдела ретровирусов ФБУН Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, р.п. Кольцово, Новосибирская область, Россия. ORCID: 0000-0001-5896-8231.

**Гашникова Мария Петровна** – лаборант-исследователь отдела ретровирусов ФБУН Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, р.п. Кольцово, Новосибирская область, Россия. ORCID: 0000-0001-9888-0779.

**Гашникова Наталья Матвеевна** – канд. биол. наук, заведующий отделом ретровирусов ФБУН Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, р.п. Кольцово, Новосибирская область, Россия. ORCID: 0000-0002-0891-0880.

**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, главный врач ГБУЗ НСО «Городская инфекционная клиническая больница № 1», Новосибирск, Россия.

**Колпакова Татьяна Анатольевна** – д-р мед. наук, доцент кафедры фтизиопульмонологии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия.

**Поддубная Людмила Владимировна** – д-р мед. наук, доцент, заведующий кафедрой фтизиопульмонологии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия.

**Vera G. Kuznetsova** – Dr. Sci. (Med.), Professor, Department of Infectious Diseases, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia.

**Larisa L. Pozdnyakova** – Cand. Sci. (Med.), Chief Physician, City Infectious Diseases Clinical Hospital No. 1, Novosibirsk, Russia.

**Tatiana A. Kolpakova** – Dr. Sci. (Med.), Associate Professor, Department of Phthisiopulmonology, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia.

**Ludmila V. Poddubnaya** – Dr. Sci. (Med.), Associate Professor, Head, Department of Phthisiopulmonology, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia.



## Подход к стандартизации травы нонеи русской (*Nonea rossica* Steven)

В.В. Величко, Д.С. Круглов, М.Е. Карташова

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

### АННОТАЦИЯ

Введение. Воспроизводимость действия любого фитопрепарата или его эффективность зависит от количественной вариативности химического состава лекарственного растительного сырья.

Цель. Исследование индивидуальной изменчивости биологически активных соединений (БАС) фенольного комплекса травы нонеи русской (*Nonea (N.) rossica* Steven) и определение статистически обоснованных критериев качества ЛРС.

Материалы и методы. Объектами исследования служили образцы травы *N. rossica* Steven, заготовленные от растений, собранных в разных точках ареала в типичных местах обитания в период цветения в 2017–2022 годах. Содержание БАС-маркеров – флавоноидов, коричных кислот и лактонных соединений – определялось методом спектрофотометрии.

Результаты. В результате анализа содержания БАС-маркеров 12 растений, произрастающих в одной промысловой заросли, было установлено, что коэффициент вариации не превышает 24 % и исследуемая выборка однородная. Однородность выборки позволяет статистически корректно объединить индивидуальные экземпляры и сформировать объединенную выборку для растений, собранных в пределах промысловой заросли. Анализ содержания БАС-маркеров в сырье, заготовленном в различных точках ареала (объединенные пробы), показал, что коэффициент вариации вырос незначительно и не превысил критического значения 33 %. В этом случае рассматриваемые объединенные выборки тоже однородны, что позволяет определить доверительные интервалы варьирования содержания БАС-маркеров.

Заключение. Установлены критерии качества сырья: содержание флавоноидов в пересчете на рутин должно быть не менее 0.68 %, коричных кислот в пересчете на кофейную кислоту – не менее 1.9 %, лактонов в пересчете на 2-гидроксикоричную кислоту – не менее 0.25 %.

**Ключевые слова:** изменчивость, химический состав, стандартизация сырья, коэффициент вариации, *Nonea rossica* Steven.

**Образец цитирования:** Величко В.В., Круглов Д.С., Карташова М.Е. Подход к стандартизации травы нонеи русской (*Nonea rossica* Steven) // Journal of Siberian Medical Sciences. 2024;8(1):42-50. DOI: 10.31549/2542-1174-2024-8-1-42-50

## An approach to standardization of *Nonea rossica* Steven herb

V.V. Velichko, D.S. Kruglov, M.E. Kartashova

Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia

### ABSTRACT

**Introduction.** The reproducibility of the effect of any herbal medicinal product or its effectiveness depends on the quantitative variability of the chemical composition of medicinal plant raw materials (MPRM).

Поступила в редакцию 02.03.2023  
Прошла рецензирование 20.03.2023  
Принята к публикации 05.05.2023

*Автор, ответственный за переписку*  
Величко Виктория Владимировна: ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России. 630091, г. Новосибирск, Красный просп., 52.  
E-mail: velichkvik@rambler.ru

Received 02.03.2023  
Revised 20.03.2023  
Accepted 05.05.2023

*Corresponding author*  
Victoria V. Velichko: Novosibirsk State Medical University, 52, Krasny prosp., Novosibirsk, 630091, Russia.  
E-mail: velichkvik@rambler.ru

**Aim.** A study of the individual variability of biologically active compounds (BAC) of the phenolic complex of *Nonea (N.) rossica* Steven herb and the determination of statistically valid quality criteria for MPRM.

**Materials and methods.** The objects of the study were specimens of *N. rossica* Steven herb obtained from plants collected at different points of the range in its typical habitats during the flowering phase in 2017–2022. The content of BAC markers – flavonoids, cinnamic acids and lactone compounds was determined by spectrophotometry.

**Results.** As a result of the analysis of the content of BAC markers of 12 plants growing in one cropping area, it was found that the coefficient of variation does not exceed 24%, so, the studied sample is uniformed. The homogeneity of the sample makes it possible to statistically correctly combine individual specimens and form a combined sample for plants collected within the cropping area. An analysis of the content of BAC markers in raw materials collected at various points of the range (combined samples) showed that the coefficient of variation increased slightly and did not exceed the critical value of 33%. Here, the combined samples under consideration are also homogeneous, which makes it possible to determine confidence intervals for varying the content of BAC markers.

**Conclusion.** The criteria for the quality of raw materials have been established: the content of flavonoids in terms of rutin should be at least 0.68%, cinnamic acids in terms of caffeic acid – at least 1.9%, lactones in terms of 2-hydroxycinnamic acid – at least 0.25%.

**Keywords:** variability, chemical composition, standardization of raw materials, coefficient of variation, *Nonea rossica* Steven.

**Citation example:** Velichko V.V., Kruglov D.S., Kartashova M.E. An approach to standardization of *Nonea rossica* Steven herb. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2024;8(1):42-50. DOI: 10.31549/2542-1174-2024-8-1-42-50

## ВВЕДЕНИЕ

Фармакологическая активность любого лекарственного средства (ЛС) определяется взаимодействием химических компонентов в его составе, называемых биологически активными соединениями (БАС), с клетками и тканями живого организма. Физиологические процессы жизнедеятельности растительного организма регулируются химическими соединениями, образующимися в процессе метаболизма. С биогенетических позиций все метаболиты делятся на вещества основного, видоспецифичного и азотного метаболизма. При этом формируется сугубо индивидуальный химический состав как растения в целом, так и его отдельных органов. В процессе изготовления фитопрепарата БАС из состава лекарственного растительного сырья (ЛРС) переходят в суммарное извлечение, которое будет иметь уникальный состав (фармакон), определяющий специфический фармакологический эффект от применения лекарственного растительного препарата (ЛРП). Следует заметить, что фармакологический эффект фармакона зависит не только от качественного состава, но и от количественного содержания компонентов.

Понимание возможной количественной вариативности химического состава лекарственного растительного сырья помогает производить лекарственные растительные препараты с воспроизводимым составом фармакона, обеспечи-

## INTRODUCTION

The pharmacological activity of any medicinal product (MP) is determined by the interaction of chemical components called biologically active compounds (BAC) in its composition with cells and tissues of a living organism. The physiological processes of the life activity of a plant organism are regulated by chemical compounds formed during metabolism. From the point of view of biogenetics, all metabolites are divided into substances of basic, species-specific and nitrogen metabolism. Thus, purely individual chemical composition of both the plant as a whole and its individual organs is formed. During manufacturing a medicinal herbal product, BAC from medicinal plant raw materials (MPRM) are transferred to the total extraction, which will have a unique composition (pharmacogen) that determines specific pharmacological effect of medical herbal product (MHP). It should be noted that the pharmacological effect of a pharmacogen depends not only on the qualitative composition, but also on the quantitative one.

Understanding possible quantitative variability of the chemical composition of medicinal plant raw materials helps to produce medicinal products with a reproducible pharmacogen composition, providing an deterministic pharmacological effect. The most interesting in this regard are secondary metabolites, as substances having a certain species-specific value. It is customary to use flavonoids as a marker of biochemical variability [1], since they are widespread in the

вающим детерминированный фармакологический эффект. Наибольший интерес в этом плане представляют вторичные метаболиты, как вещества, имеющие определенное видоспецифичное значение. В качестве маркера биохимической изменчивости принято использовать флавоноиды [1], так как для них характерны широкое распространение в растительном мире, значительное структурное разнообразие, химическая устойчивость, простота выделения из растительного сырья и возможность достаточно легкой и быстрой идентификации. Кроме того, флавоноиды привлекают внимание исследователей тем, что они в большинстве случаев определяют фармакологическую активность лекарственного растительного сырья, наиболее часто они проявляют противовоспалительную, мочегонную, желчегонную, венотропную и другие виды активности [1, 2]. В то же время учет изменчивости содержания одних только флавоноидов является не совсем корректным, поскольку на фармакологическую активность могут влиять и биогенетические предшественники флавоноидов – фенилпропаноиды, в частности коричные кислоты, такие как кофейная кислота, обладающая антимикробной активностью, и дериваты фенилпропеновых кислот – лактонные соединения (или кумариноподобные), обладающие свойствами антикоагулянтов непрямого действия [3].

Ранее нами было установлено наличие в траве нонеи русской флавоноидов и лактонных соединений [4], а также выделено новое соединение – нонеазид, представляющее собой эфир кофейной кислоты и флавона [5], что позволяет предполагать наличие противовоспалительных (флавоноиды), antimикробных (кофейная кислота) и антикоагулянтных свойств фитопрепаратов, получаемых из травы нонеи русской.

## ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование индивидуальной изменчивости биологически активных соединений фенольного комплекса травы нонеи русской и определение статистически обоснованных критерии качества лекарственного растительного сырья.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектами исследования служили образцы травы нонеи русской [6], заготовленные от растений, собранных в разных точках ареала (табл. 1) в типичных местах обитания (остепненные луга, высокие каменистые берега рек и т.п.) в период цветения в 2017–2022 годах. Для определения вариации элементного состава растения в преде-

plant kingdom and characterized by significant structural diversity, chemical stability, ease of isolation from plant raw materials and the possibility of fairly easy and fast identification. In addition, flavonoids attract the researchers' attention because in most cases they determine the pharmacological activity of medicinal plant raw materials, most often they exhibit anti-inflammatory, diuretic, choleric, venotonic and other activities [1, 2]. At the same time, taking into account the variability of the content of flavonoids alone is not correct, since the pharmacological activity can also be influenced by the biogenetic precursors of flavonoids – phenylpropanoids, in particular cinnamic acids, such as caffeic acid, which has antimicrobial activity, and derivatives of phenylpropion acids – lactone compounds (or coumarin-like), which have the properties of indirect anticoagulants [3].

Previously, we have found flavonoids and lactone compounds [4] in *Nonea rossica* Steven herb; as well as a new compound – noneazide, an ester of caffeic acid and a flavone [5] was isolated, which suggests the presence of anti-inflammatory (flavonoids), antimicrobial (caffeic acid) and anticoagulant properties of phytopreparations obtained from *Nonea rossica* Steven herb.

## AIM OF THE RESEARCH

Study of the individual variability of biologically active compounds of the phenolic complex of *Nonea rossica* Steven herb and determination of statistically valid quality criteria for medicinal plant raw materials.

## MATERIALS AND METHODS

The object of the study were specimens of *Nonea rossica* Steven herb [6] from plants collected at different points of the range (Table. 1) in the typical habitats (steppe meadows, high rocky riverbanks, etc.) during the flowering phase in 2017–2022. To determine variation of the elemental composition of the plant within the cropping area, 12 specimens of plants growing in several places of the area were collected. The sampling was carried out randomly. For the remaining collection points, 15–20 plants were selected, from which a combined sample was formed. After collecting, the raw materials were brought to an air-dry state (humidity ~8%) under natural conditions and crushed to particles passing through a sieve with a 2-mm mesh size.

Extracts were obtained from raw material samples using ethyl alcohol of various concentrations as a solvent – 40% (for the study of cinnamic acids), 70% (for the study of flavonoids) and 95% (for the analysis of coumarin-like compounds, the sum of

**Таблица 1.** Объекты исследования  
**Table 1.** Objects of study

№ объекта Object number	Год сбора Year of collection	Место сбора Place of collection	Координаты Coordinates	
			широта latitude	долгота longitude
1	2022	1 км на запад от д. Воробьево Кольванского района Новосибирской области 1 km west of the village Vorobyovo, Kolyvan district, Novosibirsk region	55°19'	82°33'
2	2022	3 км на восток от пос. Рошинский Искитимского района Новосибирской области 3 km east of the village Roshchinsky Iskitimsky district, Novosibirsk region	54°35'	83°14'
3	2021	1.5 км на северо-восток от с. Лекарственное Тогучинского района Новосибирской области 1.5 km north-east of the village Lekarstvennoe Toguchinsky district, Novosibirsk region	55°01'	83°41'
9	2020	3 км на северо-восток от с. Уксунай Тогульского района Алтайского края 3 km north-east of the village Uksunai, Togul district, Altai territory	55°30'	86°03'
4	2019	5 км на юго-запад от с. Турунтаево Томского района Томской области 5 km south-west of the village Turuntaevo, Tomsk district, Tomsk region	56°36'	85°58'
6	2018	6 км на запад от с. Боргой Джидинского района Республики Бурятия 6 km west of the village Borgoi, Dzhidinsky district, Republic of Buryatia	50°46'	105°44'
7	2018	2 км на северо-восток от с. Большой Улун Качугского района Иркутской области 2 km north-east of the village Bolshoy Oolong, Kachugsky district, Irkutsk region	54°13'	106°26'
8	2018	3.5 км на северо-запад от пос. Гавриловка Новокузнецкого района Кемеровской области 3.5 km north-west of the village Gavrilovka, Novokuznetsk district, Kemerovo region	53°25'	87°05'
5	2017	7 км на юг от с. Шира Ширинского района Республики Хакасия 7 km south of the village Shira, Shirinsky district, Republic of Khakassia	54°26'	89°57'
10	2017	4 км на северо-запад от с. Петровка Омского района Омской области 4 km north-west of the village Petrovka, Omsk district, Omsk region	55°08'	74°42'

Примечание. д. – деревня; пос. – поселок; с. – село.

лах промысловой заросли были собраны 12 экземпляров растений, произрастающих в различных местах массива. Отбор образцов осуществляли случайным образом. Для остальных точек сбора проводился отбор 15–20 растений, из которых формировали объединенную пробу. После сбора сырье доводили до воздушно-сухого состояния (влажность ~8 %) в естественных условиях и измельчали до частиц, проходящих сквозь сито с размером ячейки 2 мм.

Из образцов сырья были получены извлечения с использованием в качестве экстрагента спирта этилового различных концентраций – 40 % (для исследования коричных кислот), 70 % (для исследования флавоноидов) и 95 % (для анализа кумариноподобных соединений – суммы лактонов оксикоричных кислот). Точные наве-

lactones of hydroxycinnamic acids). Accurately weighed quantities of the crushed raw materials were placed in a flask and poured with a solvent in a ratio of 1:50. Flasks were heated under reflux in a boiling water bath for 20 min. After cooling, extractions were centrifuged at 8000 rpm for 15 min to remove fine impurities. A supernatant fluid was drained and finished filtrates were obtained.

The content of the studied BAC groups was determined using spectrophotometry. Quantification of cinnamic acids was carried out by direct spectrophotometry in terms of caffeic acid by the absorbance at  $\lambda = 324$  nm (a characteristic maximum for caffeic acid) and the known extinction coefficient ( $A = 910\text{ cm}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ ) [7]. For quantification of flavonoids, the method of differential spectrophotometry was used, based on the determination of the absor-

ски измельченного сырья помещали в колбу и заливали экстрагентом в соотношении 1:50. Колбы с присоединенными обратными холодильниками выдерживали на кипящей водяной бане в течение 20 мин. После охлаждения извлечения центрифugировали со скоростью 8000 об./мин в течение 15 мин для удаления мелкодисперсных примесей. Надосадочную жидкость сливали и получали готовые фильтраты.

Определение содержания исследуемых групп БАС проводили с использованием метода спектрофотометрии. Количественное содержание коричных кислот определяли методом прямой спектрофотометрии в пересчете на кофейную кислоту по величине оптической плотности при  $\lambda = 324$  нм (характерный максимум для кофейной кислоты) и известному коэффициенту экстинкции ( $A = 910 \text{ } \%^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ ) [7]. Для количественного определения flavonoidов использовали метод дифференциальной спектрофотометрии, основанный на определении оптической плотности хромогенного комплекса, образующегося при взаимодействии извлечения с 2% спиртовым раствором алюминия (III) хлорида при длине волны 410 нм (раствором сравнения служило извлечение без добавления  $\text{AlCl}_3$ ) и по известному коэффициенту экстинкции рутина ( $A = 249 \text{ } \%^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ ) [8].

Для определения содержания лактонов (кумариноподобных соединений) аналитическую навеску сырья помещали в колбу с обратным холодильником, добавляли в качестве экстрагента 95% спирт этиловый (соотношение сырья и экстрагента 1:50), колбу выдерживали на кипящей водяной бане 20 мин. К полученному после охлаждения фильтрату приливали равный объем 5% спиртового раствора калия гидрооксида и слегка подогревали. Раствор с образовавшимся осадком центрифугировали со скоростью 8000 об./мин в течение 10 мин, осадок высушивали и взвешивали. Полученный осадок растворяли в 20 мл воды очищенной и определяли ультрафиолетовый (УФ) спектр извлечения на спектрофотометре СФ-56. Анализ полученного УФ спектра извлечения показал, что исследуемое извлечение имеет два минимума (при 241 и 297 нм) и два максимума (при 267 и 314 нм). Аналогичные экстремумы (минимумы при 240 и 295 нм и максимумы при 266 и 311 нм) характерны и для 2-гидроксикоричной кислоты [8], которая, вполне вероятно, может образоваться в результате щелочного гидролиза веществ кумариновой природы. В таком случае можно провести количественную оценку содержания лактонных сое-

bance of a chromogenic complex formed due to the interaction of extraction with a 2% alcoholic solution of aluminum (III) chloride at a wavelength of 410 nm (the blank was the extraction without the addition of  $\text{AlCl}_3$ ) and by the known extinction coefficient of rutin ( $A = 249 \text{ } \%^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ ) [8].

To determine the content of lactones (coumarin-like compounds), the weighed quantity of raw materials was placed in a flask that was heated under reflux in a boiling water bath for 20 min, 95% ethyl alcohol was added as a solvent (raw materials: solvent ratio was 1:50). An equal volume of 5% alcoholic potassium hydroxide solution was added to the filtrate got after cooling, and slightly heated. The solution with the formed precipitate was centrifuged at 8000 rpm for 10 min, the precipitate was dried and weighed. Then the precipitate was dissolved in 20 ml of purified water and the ultraviolet (UV) spectrum was determined on a SF-56 spectrophotometer. Analysis of the UV spectrum showed that the studied extraction has two minima (at 241 and 297 nm) and two maxima (at 267 and 314 nm). Similar extremes (minima at 240 and 295 nm and maxima at 266 and 311 nm) are characteristic of 2-hydroxycinnamic acid [8], which, highly likely, can be produced due to substances of coumarin nature. Therefore, it is possible to quantify lactone compounds in terms of 2-hydroxycinnamic acid by the absorbance of the solution at  $\lambda = 266$  nm and the known extinction coefficient of 2-hydroxycinnamic acid  $A = 1260 \text{ } \%^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$  [9].

## RESULTS AND DISCUSSION

Statistical processing of the results was carried out and the main sample parameters were determined – the mean value, the standard deviation of the mean, the coefficient of variation and the confidence interval according to the formulas [10]

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum_i^n (x_i - \bar{X})^2}{n-1}}; C_v = \frac{\sigma}{\bar{X}} \cdot 100; \Delta x = t_{\gamma} \cdot \frac{\sigma}{\sqrt{n}},$$

where  $\sigma$  – standard deviation;

$x_i$  – single measurement;

$\bar{X}$  – mean value;

$C_v$  – coefficient of variation;

$\Delta x$  – confidence interval;

$t_{\gamma}$  – the argument of the Student's  $t$ -distribution corresponding to a 95% level of confidence and ( $n-1$ ) degree of freedom.

The results are shown in Table 2.

To assess the variability of a variation series, the most informative parameter is the coefficient of variation. The higher the value of the latter, the relatively greater the spread and less the adjustment of the stud-

динений в пересчете на 2-гидроксикоричную кислоту по оптической плотности раствора, измеренной при  $\lambda = 266$  нм, и известному коэффициенту экстинкции 2-гидроксикоричной кислоты  $A = 1260 \text{ \%}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$  [9].

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Была проведена статистическая обработка результатов и определены основные параметры выборки – среднее значение, стандартное отклонение среднего по выборке, коэффициент вариации и доверительный интервал по формулам [10]

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum_i^n (x_i - \bar{X})^2}{n-1}}; C_v = \frac{\sigma}{\bar{X}} \cdot 100; \Delta x = t_{\gamma} \cdot \frac{\sigma}{\sqrt{n}},$$

где  $\sigma$  – среднеквадратичное отклонение;

$x_i$  – единичное измерение;

$\bar{X}$  – среднее значение;

$C_v$  – коэффициент вариации;

$\Delta x$  – доверительный интервал;

$t_{\gamma}$  – аргумент распределения Стьюдента, соответствующей доверительной вероятности 95 % и ( $n-1$ ) степени свободы.

Полученные результаты приведены в табл. 2.

Для оценки изменчивости вариационного ряда данных наиболее информативный пара-

ied values, and if the coefficient of variation exceeds 33%, then this shows the heterogeneity of the results obtained [11]. The heterogeneity of the quantitative analysis results shows a high variability of the BAC content, which is highly likely to lead to the non-reproducibility of the pharmacological effect of MHP from plants collected in various sites of the cropping area. In our study, the coefficient of variation does not exceed 24%, from whence it can be concluded that the sample under study is homogeneous. Based on the established homogeneity of the sample, it is possible, without compromising statistical accuracy, to combine the measured BAC contents in individual plants into a new combined sample. Further studies were carried out with the values of the BAC content, measured at individual specimens from the combined sample. Table 3 shows data on the BAC content of raw materials collected from cropping areas at various sites of the range and in different years of herb collection.

Analysis of the results obtained (Table 3) shows that the coefficient of variation increased slightly and does not exceed the critical value of 33%, although the plants grew in different sites of the range, at great distances from each other, and raw material collecting was carried out in different years. Accordingly, the statistical homogeneity of the sample is not compro-

**Таблица 2.** Содержание биологически активных соединений (%) в образцах сырья, собранных в пределах одной промысловой заросли, в пересчете на абсолютно сухое сырье

**Table 2.** The content of biologically active compounds (%) in raw material samples collected within one cropping area in terms of completely dry raw materials

Параметр Parameter	Флавоноиды Flavonoids*	Коричные кислоты Cinnamic acids**	Лактоны Lactones***
$x_i$	1.01	1.63	0.41
	0.71	3.12	0.37
	0.59	2.02	0.44
	0.83	1.63	0.31
	0.68	2.14	0.38
	1.27	2.31	0.34
	1.04	2.24	0.3
	0.6	1.74	0.42
	0.82	1.67	0.48
	0.87	2.03	0.33
	0.9	2.0	0.38
	1.0	1.8	0.32
$\bar{X}$	0.86	2.03	0.37
$\sigma$	0.2	0.42	0.06
$C_v$	23.3	20.6	15.04
$\Delta x$	0.13	0.26	0.04

\* В пересчете на рутин.

In terms of rutin.

\*\* В пересчете на кофейную кислоту.

In terms of caffeic acid.

\*\*\* В пересчете на 2-гидроксикоричную кислоту.

In terms of 2-hydroxycinnamic acid.

**Таблица 3.** Содержание биологически активных соединений (%) в образцах сырья, собранных в различных точках ареала, в пересчете на абсолютно сухое сырье

**Table 3.** The content of biologically active compounds (%) in raw material specimens collected at various sites of the range in terms of completely dry raw materials

Параметр Parameter	Флавоноиды Flavonoids*	Коричные кислоты Cinnamic acids**	Лактоны Lactones***
$x_i$	0.78	1.27	0.32
	0.51	2.24	0.27
	0.95	2.2	0.26
	0.61	3.2	0.23
	0.42	2.33	0.54
	0.76	1.39	0.3
	0.54	3.15	0.35
	0.73	3.26	0.37
	0.95	2.92	0.46
	0.98	2.12	0.28
$\bar{X}$	0.72	2.41	0.34
$\sigma$	0.20	0.72	0.10
$C_v$	0.28	0.30	0.29
$\Delta x$	0.14	0.51	0.07

\* В пересчете на рутин.  
In terms of rutin.

\*\* В пересчете на кофейную кислоту.  
In terms of caffeic acid.

\*\*\* В пересчете на 2-гидроксикоричную кислоту.  
In terms of 2-hydroxycinnamic acid.

метр – коэффициент вариации. Чем больше значение коэффициента вариации, тем относительно больший разброс и меньшая выравненность исследуемых значений, и если коэффициент вариации превышает 33 %, то это говорит о неоднородности полученных результатов [11]. Неоднородность результатов количественного анализа свидетельствует о высокой изменчивости содержания БАС, что с большой степенью вероятности приведет к невоспроизводимости фармакологического эффекта фитопрепаратов, изготовленных из растений, собранных на различных участках промысловой заросли. В нашем случае коэффициент вариации не превышает 24 %, на основании чего можно сделать вывод о том, что исследуемая выборка однородная. На основании установленной однородности выборки можно, без нарушения статистической корректности, измеренные содержания БАС в отдельных растениях объединять в новую выборку (объединенную). В дальнейшем исследования проводились с величинами количественного содержания БАС, измеренными на точечных пробах, взятых из объединенной выборки. В табл. 3 приведены данные по содержанию БАС в сырье, заготовленном на промысловых зарослях в различных точках ареала и в разные годы сбора.

mised and it is possible to reasonably determine in terms of statistics the lower limits while settings specifications for BAC and the quality criteria of standardized raw materials. The lower limit should be the mean value of the measured content of a compound, reduced by the value of the confidence interval. Considering the established mean values and confidence intervals (Table 3), the following quality criteria for raw materials can be proposed – the content of flavonoids in terms of rutin should be at least 0.68%; cinnamic acids in terms of caffeic acid – at least 1.9%; lactones in terms of 2-hydroxycinnamic acid – at least 0.25%.

## CONCLUSION

It was found that the variability of the content of BAC of phenolic nature in the *Nonea rossica* Steven herb is at a fairly low level and does not compromise the homogeneity of the sample. The mean value of the content of normalized BAC in *Nonea rossica* Steven herb collected in different years and at different sites of the range has been determined. The draft of a pharmacopoeia monograph for MPRM of *Nonea rossica* Steven herb can include the lower limits for the content of BAC in standardized raw materials (at least 0.68% for flavonoids, 1.9% for cinnamic acids and 0.25% for lactones).

Анализ полученных результатов (см. табл. 3) показывает, что коэффициент вариации вырос незначительно и не превышает критическое значение 33 %, несмотря на то, что растения произрастали в различных точках ареала, находящихся на больших расстояниях друг от друга, и сбор сырья проводился в разные годы. Соответственно статистическая однородность выборки не нарушена и можно статистически обоснованно определить нижние границы при нормировании количественного содержания БАС и критерии качества стандартизованного сырья. За нижнюю границу следует принимать величину среднего значения измеренного содержания того или иного соединения, уменьшенную на величину доверительного интервала. С учетом установленных средних значений и доверительных интервалов (см. табл. 3) можно предложить следующие критерии качества сырья – содержание флавоноидов в пересчете на рутин должно быть не менее 0.68 %; коричных кислот в пересчете на кофейную кислоту – не

менее 1.9 %; лактонов в пересчете на 2-гидрокси-коричную кислоту – не менее 0.25 %.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Установлено, что изменчивость содержания БАС фенольной природы в траве нонеи русской находится на достаточно низком уровне и не нарушает показателя однородности выборки.

Определено среднее значение содержания нормируемых БАС в траве нонеи русской, заготовленной в различные годы и в разных точках ареала произрастания.

В проект фармакопейной статьи на ЛРС «Нонеи русской трава» можно включить нижние пороговые значения содержания БАС в стандартном сырье (не менее 0.68 % – для флавоноидов, 1.9 % – для коричных кислот и 0.25 % – для лактонов).

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Batiha G.E., Beshbishi A.M., Ikram M. et al. The pharmacological activity, biochemical properties, and pharmacokinetics of the major natural polyphenolic flavonoid: Quercetin // *Foods*. 2020;9(3):374. DOI: 10.3390/foods9030374.
2. Kumar S., Pandey A.K. Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview // *Scientific World Journal*. 2013;2013:162750. DOI: 10.1155/2013/162750.
3. Magnani C., Isaac V.L.B., Correa M.A., Salgado H.R.N. Caffeic acid: a review of its potential use in medications and cosmetics // *Analytical Methods*. 2014;6(10):3203-3210. DOI: 10.1039/C3AY41807C.
4. Величко В.В., Карташова М.Е., Круглов Д.С. Фитохимическое и ботаническое исследование перспективного лекарственного растения *Nonea rossica* Steven // *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2022;6(3):90-101. DOI: 10.31549/2542-1174-2022-6-3-90-101.
5. Величко В.В., Круглов Д.С., Карташова М.Е., Оленников Д.Н. Новые флавоноиды из *Nonea rossica* и *Tournefortia sibirica* // Химия природных соединений. 2022;6:859-862.
6. Иллюстрированная энциклопедия растительного мира Сибири / И.А. Артемов и др.; под ред. чл.-кор. РАН В.П. Седельникова. Новосибирск: Арта, 2009. 392 с.
7. Tošović J. Spectroscopic features of caffeic acid: Theoretical study // *Kragujevac J. Sci.* 2017;39:99-108. DOI: 10.5937/KgJSci1739099T.
8. Государственная Фармакопея. XIV издание. М., 2018. Т. 4. С. 6528–6538.
9. Ohno T. Oxidation of phenolic acid derivatives by soil and its relevance to allelopathic activity // *J. Environ. Qual.* 2001;30(5):1631-1635. DOI: 10.2134/jeq2001.3051631x.

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

## REFERENCES

1. Batiha G.E., Beshbishi A.M., Ikram M. et al. The pharmacological activity, biochemical properties, and pharmacokinetics of the major natural polyphenolic flavonoid: Quercetin. *Foods*. 2020;9(3):374. DOI: 10.3390/foods9030374.
2. Kumar S., Pandey A.K. Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. *Scientific World Journal*. 2013;2013:162750. DOI: 10.1155/2013/162750.
3. Magnani C., Isaac V.L.B., Correa M.A., Salgado H.R.N. Caffeic acid: a review of its potential use in medications and cosmetics. *Analytical Methods*. 2014;6(10):3203-3210. DOI: 10.1039/C3AY41807C.
4. Velichko V.V., Kartashova M.E., Kruglov D.S. Phytochemical and botanical study of a promising medicinal plant *Nonea rossica* Steven. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2022;6(3):90-101. DOI: 10.31549/2542-1174-2022-6-3-90-101.
5. Olennikov D.N., Kartashova M.E., Velichko V.V., Kruglov D.S. New flavonoids from *Nonea rossica* and *Tournefortia sibirica*. *Chemistry of Natural Compounds*. 2022;58(6):1021-1025. DOI 10.1007/s10600-022-03858-9.
6. Artemov I.A. et al.; Sedelnikov V.P. (chief ed.) (2009). *Illustrated Encyclopedia of the Flora of Siberia*. Novosibirsk: Arta. 392 p. (In Russ.)
7. Tošović J. Spectroscopic features of caffeic acid: Theoretical study. *Kragujevac J. Sci.* 2017;39:99-108. DOI: 10.5937/KgJSci1739099T.
8. State Pharmacopoeia. XIV edition (2018). Moscow. Vol. 2. P. 6528–6538. (In Russ.)

10. Никитин В.И. Первичная статистическая обработка экспериментальных данных. Самара: Самар. гос. техн. ун-т, 2017. 80 с.
11. Зайцев В.М., Лифляндский В.Г., Маринкин В.И. Прикладная медицинская статистика: учеб. пособие. СПб.: ФОЛИАНТ, 2003. 432 с.
9. Ohno T. Oxidation of phenolic acid derivatives by soil and its relevance to allelopathic activity. *J. Environ. Qual.* 2001;30(5):1631-1635. DOI: 10.2134/jeq2001.3051631x.
10. Nikitin V.I. (2017). *Primary Statistical Processing of Experimental Data*. Samara. Samara State Technical University. 80 p. (In Russ.)
11. Zaitsev V.M., Liflyandsky V.G., Marinkin V.I. (2003). *Applied Medical Statistics: a study guide*. Saint-Petersburg. FOLIANT. 432 p. (In Russ.)

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

**Величко Виктория Владимировна** – канд. фармацевт. наук, заведующий кафедрой фармакогнозии и ботаники ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия. ORCID: oooo-ooo2-9224-9350.

**Круглов Дмитрий Семенович** – канд. техн. наук, доцент кафедры фармакогнозии и ботаники ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия. ORCID: oooo-ooo2-6027-5730.

**Карташова Марина Ельвардовна** – аспирант, преподаватель кафедры фармакогнозии и ботаники ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия.

## ABOUT THE AUTHORS

**Victoria V. Velichko** – Cand. Sci. (Pharmaceut.), Head, Department of Pharmacognosy and Botany, Novosibirsk State Medical University. ORCID: oooo-ooo2-9224-9350.

**Dmitry S. Kruglov** – Cand. Sci. (Tech.), Associate Professor, Department of Pharmacognosy and Botany, Novosibirsk State Medical University. ORCID: oooo-ooo2-6027-5730.

**Marina E. Kartashova** – Post-graduate Student, Lecturer, Department of Pharmacognosy and Botany, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia.

## Морфометрические особенности межпозвоночных дисков шейного отдела позвоночника по данным МРТ

А.С. Мошкин<sup>1</sup>, В.Н. Николенко<sup>2,3</sup>, М.А. Халилов<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Орловский государственный университет им. И.С. Тургенева», Орел, Россия

<sup>2</sup>ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России, Москва, Россия

<sup>3</sup>ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова», Москва, Россия

### АННОТАЦИЯ

Введение. Благодаря магнитно-резонансной томографии возможно подробное исследование структуры межпозвоночных дисков шейного отдела позвоночника.

Цель. Выявить морфометрические особенности межпозвоночных дисков шейного отдела позвоночника при развитии дегенеративно-дистрофических изменений.

Материалы и методы. Были проанализированы 203 магнитно-резонансные томограммы, полученные в ходе обследования добровольцев от 18 до 84 лет по стандартным методикам на магнитно-резонансных томографах с напряженностью магнитного поля 1–1.5 Тл. Измеряли высоту межпозвонковых дисков на уровнях С7–С3. Полученные данные были сгруппированы в таблицы с проведением статистического анализа в Microsoft Excel 2007. Результаты. По выраженности изменений шейного отдела позвоночника и полу были сформированы три группы: 1-я – без значимых изменений на уровне шейного отдела позвоночника; 2-я – с умеренно выраженным изменениями; 3-я – со значительно выраженным изменениями структур шейного отдела позвоночника. Наибольшие изменения вертикального размера межпозвонковых дисков наблюдаются у мужчин. Средняя высота межпозвонковых дисков на уровне от С6/7 до С4/5 снижается у мужчин от 1-й к 3-й группе, у женщин, напротив, высота диска С4/5 снижается от 3-й группы. Высота межпозвонкового диска С2/3 имела наибольшие значения в 3-й группе. Заключение. Представленные результаты исследования свидетельствуют о снижении вертикального размера межпозвоночных дисков вследствие прогрессирования дегенеративно-дистрофических изменений. Была отмечена обратная динамика для межпозвонковых дисков С2/3 и С4/5 среди женщин – снижение высоты от 3-й к 1-й группе. Полученные данные дополняют сведения о динамике изменений морфометрических показателей на фоне дегенеративно-дистрофических изменений и с учетом пола пациентов, что позволяет разрабатывать средства программного анализа диагностической информации, повышая качество оказания медицинской помощи.

**Ключевые слова:** МРТ, шейный отдел позвоночника, морфометрия, межпозвоночные диски.

**Образец цитирования:** Мошкин А.С., Николенко В.Н., Халилов М.А. Морфометрические особенности межпозвоночных дисков шейного отдела позвоночника по данным МРТ // Journal of Siberian Medical Sciences. 2024;8(1):51-63. DOI: 10.31549/2542-1174-2024-8-1-51-63

## Morphometric features of intervertebral discs of the cervical spine according to MRI data

A.S. Moshkin<sup>1</sup>, V.N. Nikolenko<sup>2,3</sup>, M.A. Khalilov<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Orel State University named after I.S. Turgenev, Orel, Russia

<sup>2</sup>Sechenov University, Moscow, Russia

<sup>3</sup>Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

### ABSTRACT

**Introduction.** Thanks to magnetic resonance imaging (MRI), a detailed study of the structure of the cervical intervertebral discs is possible.

Поступила в редакцию 17.04.2023  
Прошла рецензирование 04.05.2023  
Принята к публикации 24.05.2023

*Автор, ответственный за переписку*  
Мошкин Андрей Сергеевич: ФГБОУ ВО «Орловский государственный университет им. И.С. Тургенева». 302026, г. Орел, ул. Октябрьская, 25.  
E-mail: as.moshkin@internet.ru

Received 17.04.2023  
Revised 04.05.2023  
Accepted 24.05.2023

*Corresponding author*  
Andrey S. Moshkin: Orel State University named after I.S. Turgenev, 25, Oktyabrskaya str., Orel, 302026, Russia.  
E-mail: as.moshkin@internet.ru

Аim. To identify the morphometric features of the cervical intervertebral discs during the development of degenerative and dystrophic changes.

Materials and methods. A total of 203 MR images were analyzed, obtained during the examination of volunteers from 18 to 84 years using conventional methods on 1–1.5 T MR scanners. The height of the intervertebral discs was measured at C7–C3 segments. The obtained data were grouped into tables and statistical analysis was carried out using Microsoft Excel 2007.

Results. Three groups were formed according to the severity of changes in the cervical spine and gender: 1st – without substantial changes in the cervical spine; 2nd – moderate changes; 3rd – pronounced changes in the cervical spine. The greatest changes in the vertical dimension of intervertebral discs are observed in men. The mean intervertebral disc height at the level from C6/7 to C4/5 decreases in men from the 1st to the 3rd group; in women, on the contrary, the height of the C4/5 disc decreases from the 3rd group. The height of the C2/3 intervertebral disc was the largest in the 3rd group.

Conclusion. The presented results indicate a decrease in the intervertebral disc height due to the progression of degenerative and dystrophic changes. The opposite dynamics were noted for C2/3 and C4/5 intervertebral discs among women – a decrease in the height from the 3rd to the 1st group. The data obtained complete the information on the dynamics of changes in morphometric parameters taking into account the degenerative and dystrophic state of the studied structures and the gender of patients, which makes it possible to develop tools for computational analysis of diagnostic data, improving the quality of medical care.

**Keywords:** MRI, cervical spine, morphometry, intervertebral discs.

**Citation example:** Moshkin A.S., Nikolenko V.N., Khalilov M.A. Morphometric features of intervertebral discs of the cervical spine according to MRI data. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2024;8(1):51-63. DOI: 10.31549/2542-1174-2024-8-1-51-63

## ВВЕДЕНИЕ

Оценка динамики прогрессирования дегенеративно-дистрофических заболеваний позвоночника на уровне шеи неразрывно связана с изучением структуры межпозвоночных дисков [1–5]. Современные методы исследования в клинике позволяют детально отражать не только процессы, связанные с изменениями гемодинамики мозга [6–8], но и происходящие в результате дегенеративно-дистрофических изменений и оценить их морфометрические показатели [9, 10]. Одним из наиболее эффективных методов диагностики изменений в структуре межпозвоночных дисков является магнитно-резонансная томография (МРТ) [11–15]. Уточнение морфометрических параметров изучаемых структур позволяет совершенствовать диагностические методы, вводит в рутинную работу элементы автоматизации [16–20].

## ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Выявить морфометрические особенности межпозвоночных дисков шейного отдела позвоночника при развитии дегенеративно-дистрофических изменений по данным МРТ.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Были проанализированы 203 магнитно-резонансные томограммы. Диагностические изобра-

## INTRODUCTION

Assessing the dynamics of progression of degenerative cervical spine diseases is inextricably linked with the study of the intervertebral disc structure [1–5]. Modern clinical investigational methods make it possible to show in detail not only the processes associated with changes in brain hemodynamics [6–8], but also those occurring as a result of degenerative and dystrophic changes, and evaluate their morphometric parameters [9, 10]. One of the most effective methods for diagnosing changes in the structure of intervertebral discs is magnetic resonance imaging (MRI) [11–15]. Clarification of the morphometric parameters of the studied structures makes it possible to improve diagnostic methods and introduce elements of automation into routine practice [16–20].

## AIM OF THE RESEARCH

To identify the morphometric characteristics of the cervical intervertebral discs along with the degenerative dystrophic changes development according to MRI data.

## MATERIALS AND METHODS

A total of 203 MR images were analyzed being recorded on digital media. The images were obtained during the examination of volunteers aged 18 to 84 years using conventional methods in

жения были представлены на цифровых носителях и получены в ходе обследования добровольцев в возрасте от 18 до 84 лет по стандартным методикам в режимах T1, T2 и с функцией жироподавления (Stir) в трех проекциях на магнитно-резонансных томографах GE Brivo MR355 и Philips Intera с напряженностью магнитного поля 1–1.5 Тл. Добровольцы при предоставлении диагностических данных подтвердили участие в исследовании, подписав информированное согласие. Протокол исследования был одобрен локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО «Орловский государственный университет им. И.С. Тургенева» (протокол № 25 от 16 ноября 2022 г.).

Анализ томограмм выполнялся с использованием средств специализированного программного обеспечения Evorad RIS-PACS Workstation 2.1 (License: Freeware, 2008). Измерения выполнялись на томограммах в сагittalной плоскости на уровне середины тел позвонков у переднего и дорсального углов и на уровне середины тел позвонков. На каждом уровне измерений при расчете результаты приводились к среднему значению высоты межпозвоночного диска. Полученные данные были сгруппированы в таблицы с проведением статистического анализа в Microsoft Excel 2007. Рассчитывались значения среднего и ошибка среднего ( $M \pm m$ ), медиана ( $Me$ ), квартили распределения ( $Q_1, Q_3$ ), среднее квадратичное отклонение ( $\sigma$ ), коэффициент вариации (CV, %).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Мы разделили участников исследования на группы. С этой целью проводилась оценка выраженности диагностированных изменений среди мужчин и женщин. При выполнении анализа проводилась оценка структуры тел позвонков, анализ структуры межпозвоночных дисков по классификации J.P. Thompson et al., 1990.

Первая группа – без значимо выраженных изменений на уровне шейного отдела позвоночника (высота межпозвоночных дисков не снижена, сигналы от дисков в режиме T2 значительно не снижены, структура однородная (I–II по Thompson), края тел позвонков четкие, ровные). Вторая группа – умеренно выраженные изменения в виде снижения интенсивности сигналов от межпозвоночных дисков и их высоты (III–V по Thompson), иногда с заострением углов тел позвонков. Третья группа – значительно выраженные дегенеративно-дистрофические изменения структур шейного отдела позвоноч-

T1- и T2-加重 sequences and STIR sequence in three projections on 1–1.5 T GE Brivo MR355 and Philips Intera MR scanners. Volunteers, when providing diagnostic data, confirmed their participation in the study by signing an informed consent. The study protocol was approved by the local Ethics Committee of Orel State University named after I.S. Turgenev (protocol No. 25 of November 16, 2022).

An analysis of the MR images was performed using Evorad RIS-PACS Workstation 2.1 software (License: Freeware, 2008). Measurements were performed on the images in the sagittal plane at the level of the middle of the vertebral bodies at the anterior and dorsal angles, and at the level of the middle of the vertebral bodies. At each measurement level, when calculating, the results were converted to the mean value of the intervertebral disc height. The obtained data were formed into tables with statistical analysis using Microsoft Excel 2007. The values of the mean and error of the mean ( $M \pm m$ ), median ( $Me$ ), quartiles of distribution ( $Q_1, Q_3$ ), standard deviation ( $\sigma$ ), coefficient of variation (CV, %) were calculated.

## RESULTS AND DISCUSSION

We divided the study participants into groups. For this purpose, the severity of diagnosed changes among men and women was assessed. The structure of the vertebral bodies and intervertebral discs was assessed according to the J.P. Thompson classification, 1990. The first group – without substantial changes in the cervical spine (intervertebral disc height is not decreased, T2-weighted signals from the disc are not significantly reduced, the structure is homogeneous (Thompson I–II), the margins of the vertebral bodies are clear and even). The second group – moderate changes in the form of a decrease in the signal intensity from the intervertebral discs and their height (Thompson III–V), sometimes with sharpening of the vertebral body angles. The third group – pronounced degenerative and dystrophic changes in the structures of the cervical spine with the development of intervertebral disc herniation, spondylosis, structural changes in the vertebral end plates, changes in signals from the vertebral body structures.

As a result of the analysis, mean values were calculated for the morphometric characteristics of the cervical intervertebral discs and overall averages for each group (Table 1).

The distribution of the results of assessing the vertical dimension of intervertebral discs among

**Таблица 1.** Результаты оценки вертикального размера межпозвонковых дисков шейного отдела позвоночника  
**Table 1.** Results of assessing the vertical dimension of the cervical intervertebral discs

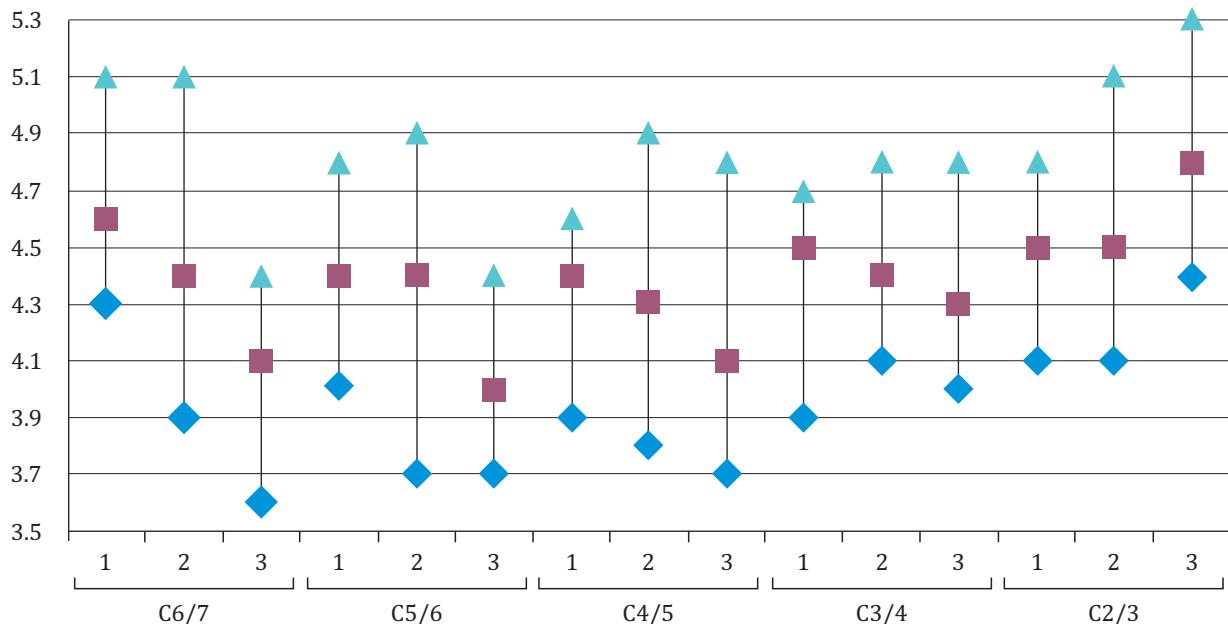
Уровень Level	Статистический показатель Statistical indices	1-я группа / Group 1		2-я группа / Group 2		3-я группа / Group 3	
		мужчины men	женщины women	мужчины men	женщины women	мужчины men	женщины women
C6/7	M ± m, мм (mm)	4.6 ± 0.4	4.2 ± 0.4	4.5 ± 0.7	4.3 ± 0.6	4.1 ± 0.6	4.0 ± 0.4
	Me, мм (mm)	4.6	4.2	4.4	4.2	4.1	3.9
	Q1–Q3, мм (mm)	4.3–5.1	3.8–4.7	3.9–5.1	3.9–5.0	3.6–4.4	3.6–4.3
	σ	0.5	0.5	0.9	0.8	0.7	0.5
	CV, %	12.5	12.9	20.6	17.3	18.0	13.6
C5/6	M ± m, мм (mm)	4.5 ± 0.4	4.0 ± 0.4	4.4 ± 0.6	4.0 ± 0.5	4.1 ± 0.8	3.8 ± 0.5
	Me, мм (mm)	4.4	3.9	4.4	3.9	4.0	3.8
	Q1–Q3, мм (mm)	4.0–4.8	3.7–4.2	3.7–4.9	3.5–4.3	3.7–4.4	3.3–4.2
	σ	0.6	0.6	0.7	0.7	1.2	0.6
	CV, %	13.4	13.9	15.9	16.9	28.9	16.0
C4/5	M ± m, мм (mm)	4.3 ± 0.4	3.9 ± 0.4	4.3 ± 0.5	4.0 ± 0.5	4.2 ± 0.6	4.1 ± 0.4
	Me, мм (mm)	4.4	3.9	4.3	3.9	4.1	4.1
	Q1–Q3, мм (mm)	3.9–4.6	3.6–4.4	3.8–4.9	3.7–4.4	3.7–4.8	3.7–4.3
	σ	0.5	0.5	0.6	0.5	0.7	0.5
	CV, %	12.8	13.8	13.2	13.5	16.4	12.9
C3/4	M ± m, мм (mm)	4.4 ± 0.5	3.9 ± 0.4	4.5 ± 0.5	4.2 ± 0.5	4.4 ± 0.5	4.2 ± 0.5
	Me, мм (mm)	4.5	3.8	4.4	4.0	4.3	4.3
	Q1–Q3, мм (mm)	3.9–4.7	3.6–4.0	4.1–4.8	3.8–4.5	4.0–4.8	3.8–4.7
	σ	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.7
	CV, %	13.6	14.4	13.4	13.8	14.0	16.0
C2/3	M ± m, мм (mm)	4.4 ± 0.5	4.0 ± 0.4	4.7 ± 0.6	4.1 ± 0.4	4.8 ± 0.6	4.5 ± 0.4
	Me, мм (mm)	4.5	3.8	4.5	4.1	4.8	4.4
	Q1–Q3, мм (mm)	4.1–4.8	3.7–4.2	4.1–5.1	3.7–4.5	4.4–5.3	4.1–4.9
	σ	0.6	0.6	0.8	0.5	0.7	0.5
	CV, %	13.4	14.8	17.0	13.1	14.9	11.5

ника с формированием грыж межпозвоночных дисков, явлениями спондилеза, структурными изменениями в области замыкательных пластин, изменения сигналов от структур тел позвонков.

В результате проведенного анализа были вычислены средние значения для морфометрических характеристик межпозвоночных дисков шейного отдела позвоночника и общие усредненные показатели для каждой группы (табл. 1).

Распределение результатов оценки вертикального размера межпозвоночных дисков среди мужчин представлено на рис. 1. Среди мужчин без признаков выраженных дегенеративно-дистрофических изменений (группа 1) на уровне шейного отдела позвоночника определялись следующие средние величины для межпозвоночных дисков: C6/7 – 4.6 ± 0.4 мм, C5/6 – 4.5 ± 0.4, C4/5 – 4.3 ± 0.4, C3/4 – 4.4 ± 0.5, C2/3 –

men is presented in Fig. 1. Among men without signs of pronounced degenerative and dystrophic changes (group 1) at the level of the cervical spine, the following mean values for the heights of intervertebral discs were determined: C6/7 – 4.6 ± 0.4 mm, C5/6 – 4.5 ± 0.4, C4/5 – 4.3 ± 0.4, C3/4 – 4.4 ± 0.5, C2/3 – 4.4 ± 0.5 mm. The average cervical intervertebral disc height among men was 4.4 ± 0.4 mm. The coefficient of variation (CV, %) was from 12.5 to 13.6%. The median values of the cervical intervertebral disc height for C6/7 discs were 4.6 mm, for 5/6 and C4/5 – 4.4, for C3/4 and C2/3 – 4.5 mm. The median of the intervertebral disc height for this group of men in general was 4.5 mm. The Q1–Q3 interval among men at the level of C6/7 was 4.3–5.1 mm, C5/6 – 4.0–4.8, C4/5 – 3.9–4.6, C3/4 – 3.9–4.7, C2/3 – 4.1–4.8 mm; on average – 4.2–4.7 mm.



**Рис. 1.** Результаты оценки вертикального размера (мм) межпозвоночных дисков среди мужчин (Q1–Q3, Me) с учетом выраженности изменений на уровне шейного отдела позвоночника (1, 2, 3 – группы исследования)

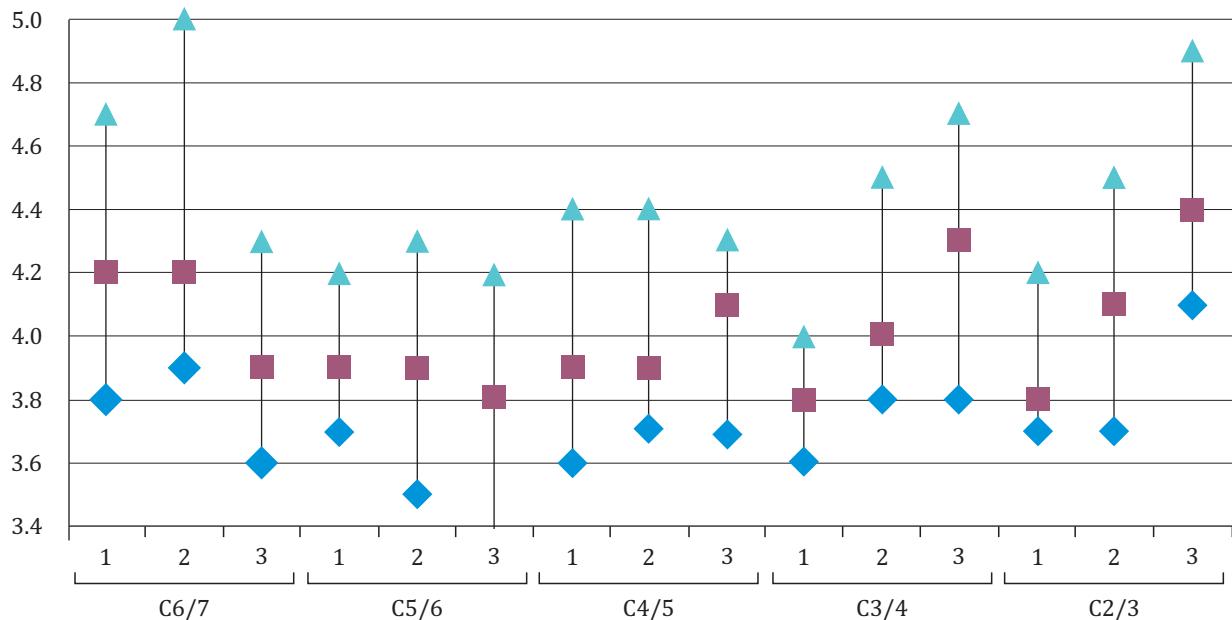
**Fig. 1.** Results of assessing the vertical dimension (mm) of intervertebral discs among men (Q1–Q3, Me), taking into account the severity of changes in the cervical spine (1, 2, 3 – study groups)

$4.4 \pm 0.5$  мм. Среднее значение высоты межпозвоночных дисков шейного отдела позвоночника среди мужчин составило  $4.4 \pm 0.4$  мм. Коэффициент вариации (CV, %) – от 12.5 до 13.6 %. Медианные значения высоты межпозвоночных дисков шейного отдела позвоночника для дисков C6/7 составляли 4.6 мм, для 5/6 и C4/5 – 4.4, для C3/4 и C2/3 – 4.5 мм. Медианное значение высоты межпозвонкового диска в целом для этой группы мужчин равнялось 4.5 мм. Интервал Q1–Q3 среди мужчин на уровне C6/7 – 4.3–5.1 мм, C5/6 – 4.0–4.8, C4/5 – 3.9–4.6, C3/4 – 3.9–4.7, C2/3 – 4.1–4.8 мм; в среднем – 4.2–4.7 мм.

Распределение результатов оценки вертикального размера межпозвонковых дисков среди женщин в группе без значимо выраженных изменений (группа 1) представлено на рис. 2. Среди женщин определились следующие средние значения высоты межпозвоночных дисков: C6/7 –  $4.2 \pm 0.4$  мм, C5/6 –  $4.0 \pm 0.4$ , C4/5 –  $3.9 \pm 0.4$ , C3/4 –  $3.9 \pm 0.4$ , C2/3 –  $4.0 \pm 0.4$  мм; среднее значение высоты межпозвоночных дисков среди женщин этой группы составило  $4.0 \pm 0.4$  мм. Коэффициент вариации среди данной группы женщин был выше по сравнению с мужчинами – от 12.9 до 14.8 %. Медианные значения высоты дисков равнялись для C6/7 4.2 мм, для C5/6 и C4/5 – 3.9, для C3/4 и C2/3 – 3.8; среднее – 3.9 мм. Интервал Q1–Q3 среди женщин этой группы на

The distribution of the results of assessing the height of intervertebral discs among women in the group without substantial changes (group 1) is presented in Fig. 2. Among women, the following mean values of the intervertebral disc height were determined: C6/7 –  $4.2 \pm 0.4$  mm, C5/6 –  $4.0 \pm 0.4$ , C4/5 –  $3.9 \pm 0.4$ , C3/4 –  $3.9 \pm 0.4$ , C2/3 –  $4.0 \pm 0.4$  mm; the average intervertebral disc height among women in this group was  $4.0 \pm 0.4$  mm. The coefficient of variation in this group of women was higher compared to men – from 12.9 to 14.8%. The median disc height value for C6/7 was 4.2 mm, for C5/6 and C4/5 – 3.9, for C3/4 and C2/3 – 3.8; on average – 3.9 mm. The Q1–Q3 interval among women in this group at the C6/7 level was 3.8–4.7 mm, C5/6 – 3.7–4.2, C4/5 – 3.6–4.4, C3/4 – 3.6–4.0, C2/3 – 3.7–4.2 mm; on average – 3.7–4.2 mm.

In the group with signs of moderate degenerative and dystrophic changes in the cervical spine (group 2), the following mean values of the intervertebral disc height among men were noted: C6/7 –  $4.5 \pm 0.7$  mm, C5/6 –  $4.4 \pm 0.6$ , C4/5 –  $4.3 \pm 0.5$ , C3/4 –  $4.5 \pm 0.5$ , C2/3 –  $4.7 \pm 0.6$  mm. The average cervical disc height among this group participants was  $4.5 \pm 0.4$  mm. The coefficient of variation was from 13.2 to 20.6%. The median values of the cervical intervertebral disc height at the level of C6/7 and C5/6 were 4.4 mm, C4/5 – 4.3, C3/4 – 4.4, C2/3 –



**Рис. 2.** Результаты оценки вертикального размера межпозвоночных дисков среди женщин (Q1–Q3, Me) с учетом выраженности изменений на уровне шейного отдела позвоночника (1, 2, 3 – группы исследования)

**Fig. 2.** Results of assessing the vertical dimension of intervertebral discs among women (Q1–Q3, Me), taking into account the severity of changes at the level of the cervical spine (1, 2, 3 – study groups)

уровне C6/7 был равен 3.8–4.7 мм, C5/6 – 3.7–4.2, C4/5 – 3.6–4.4, C3/4 – 3.6–4.0, C2/3 – 3.7–4.2 мм; в среднем – 3.7–4.2 мм.

В группе с признаками умеренно выраженных дегенеративно-дистрофических изменений на уровне шейного отдела позвоночника (группа 2) отмечались следующие средние величины высоты межпозвоночных дисков среди мужчин: C6/7 –  $4.5 \pm 0.7$  мм, C5/6 –  $4.4 \pm 0.6$  мм, C4/5 –  $4.3 \pm 0.5$  мм, C3/4 –  $4.5 \pm 0.5$  мм, C2/3 –  $4.7 \pm 0.6$  мм. Среднее значение высоты межпозвоночных дисков шейного отдела позвоночника среди данной группы мужчин составило  $4.5 \pm 0.4$  мм. Коэффициент вариации – от 13.2 до 20.6 %. Медианные значения высоты межпозвоночных дисков шейного отдела позвоночника для дисков C6/7 и C5/6 – 4.4 мм, C4/5 – 4.3, C3/4 – 4.4, C2/3 – 4.5; в среднем – 4.4 мм. Интервал Q1–Q3 среди мужчин данной группы на уровне C6/7 – 3.9–5.1 мм, C5/6 – 3.7–4.9, C4/5 – 3.8–4.9, C3/4 – 4.1–4.8, C2/3 – 4.1–5.1 мм; в среднем – 4.0–4.8 мм.

Среди женщин группы 2 отмечались следующие средние значения высоты межпозвоночных дисков: C6/7 –  $4.3 \pm 0.6$  мм, C5/6 и C4/5 –  $4.0 \pm 0.5$  мм, C3/4 –  $4.2 \pm 0.5$  мм, C2/3 –  $4.1 \pm 0.4$  мм; в среднем –  $4.1 \pm 0.4$  мм. Коэффициент вариации среди данной группы женщин был выше по сравнению с группой 1 и составлял от 13.1 до 17.3 %. Среди женщин этой группы медианное значение высоты межпозвоночных дисков на уровне C6/7

4.5; on average – 4.4 mm. The Q1–Q3 interval among men at the level of C6/7 was 3.9–5.1 mm, C5/6 – 3.7–4.9, C4/5 – 3.8–4.9, C3/4 – 4.1–4.8, C2/3 – 4.1–5.1 mm; on average – 4.0–4.8 mm.

Among women in group 2, the following mean values of the intervertebral disc height were noted: C6/7 –  $4.3 \pm 0.6$  mm, C5/6 and C4/5 –  $4.0 \pm 0.5$  mm, C3/4 –  $4.2 \pm 0.5$ , C2/3 –  $4.1 \pm 0.4$  mm; on average –  $4.1 \pm 0.4$  mm. The coefficient of variation among this group of women was higher compared to group 1 and ranged from 13.1 to 17.3 %. Among women in this group, the medians of the intervertebral disc height at the level of C6/7 was 4.2 mm, C5/6 and C4/5 – 3.9, C3/4 – 4.0, C2/3 – 4.1 mm; on average – 4.1 mm. The Q1–Q3 interval among women in this group at the C6/7 level was 3.9–5.0 mm, C5/6 – 3.5–4.3, C4/5 – 3.7–4.4, C3/4 – 3.8–4.5, C2/3 – 3.7–4.5 mm; on average – 3.9–4.4 mm.

In the group with pronounced degenerative and dystrophic changes in the cervical spine (group 3), the following mean values of the intervertebral disc height among men were noted: C6/7 –  $4.1 \pm 0.6$  mm, C5/6 –  $4.1 \pm 0.8$ , C4/5 –  $4.2 \pm 0.6$ , C3/4 –  $4.4 \pm 0.5$ , C2/3 –  $4.8 \pm 0.6$  mm; on average –  $4.3 \pm 0.5$  mm. The coefficient of variation was from 14.9 to 28.9 %. The median values of the cervical intervertebral disc height at the level of C6/7 were 4.1 mm, C5/6 – 4.0, C4/5 – 4.1, C3/4 – 4.3, C2/3 – 4.8 mm; on average – 4.3 mm. The Q1–Q3 interval among men at the level of C6/7

было 4.2 мм, C5/6 и C4/5 – 3.9, C3/4 – 4.0, C2/3 – 4.1 мм; в среднем – 4.1 мм. Интервал Q1–Q3 среди женщин данной группы на уровне C6/7 составлял 3.9–5.0 мм, C5/6 – 3.5–4.3, C4/5 – 3.7–4.4, C3/4 – 3.8–4.5, C2/3 – 3.7–4.5 мм; в среднем – 3.9–4.4 мм.

В группе с признаками значительных дегенеративно-дистрофических изменений на уровне шейного отдела позвоночника (группа 3) отмечались следующие средние величины для межпозвоночных дисков среди мужчин: C6/7 – 4.1 ± 0.6 мм, C5/6 – 4.1 ± 0.8, C4/5 – 4.2 ± 0.6, C3/4 – 4.4 ± 0.5, C2/3 – 4.8 ± 0.6 мм; в среднем – 4.3 ± 0.5 мм. Коэффициент вариации – от 14.9 до 28.9 %. Медианные значения высоты межпозвоночных дисков шейного отдела позвоночника на уровне C6/7 – 4.1 мм, C5/6 – 4.0, C4/5 – 4.1, C3/4 – 4.3, C2/3 – 4.8 мм; в среднем – 4.3 мм. Интервал Q1–Q3 среди мужчин на уровне диска C6/7 составил 3.6–4.4 мм, C5/6 – 3.7–4.4 мм, C4/5 – 3.7–4.8 мм, C3/4 – 4.0–4.8 мм, C2/3 – 4.4–5.3 мм; в среднем – 3.8–4.7 мм.

Среди женщин группы 3 отмечались следующие средние значения высоты межпозвоночных дисков: C6/7 – 4.0 ± 0.4 мм, C5/6 – 3.8 ± 0.5, C4/5 – 4.1 ± 0.4, C3/4 – 4.2 ± 0.5, C2/3 – 4.5 ± 0.4 мм; в среднем – 4.1 ± 0.3 мм. Коэффициент вариации – от 11.5 до 16.0 %. Медианное значение высоты дисков C6/7 было 3.9 мм, C5/6 – 3.8, C4/5 – 4.1, C3/4 – 4.3, C2/3 – 4.4 мм; в среднем – 4.1 мм. Интервал Q1–Q3 высоты межпозвоночных дисков среди женщин этой группы на уровне шейного отдела позвоночника C6/7 составлял 3.6–4.3 мм, C5/6 – 3.3–4.2, C4/5 – 3.7–4.3, C3/4 – 3.8–4.7, C2/3 – 4.1–4.9 мм; в среднем – 3.9–4.3 мм.

В целом наиболее выраженные изменения вертикального размера межпозвоночных дисков определяются у мужчин. В результате анализа полученных данных выявлено, что средняя высота межпозвоночных дисков на уровне от C6/7 до C4/5 немного снижается среди мужчин от 1-й к 3-й группе. Среди женщин высота межпозвоночного диска C4/5 демонстрирует обратную динамику – снижается от 3-й к 1-й группе. В свою очередь, у мужчин межпозвоночный диск C4/5 имеет относительно стабильные значения вертикального размера с небольшим снижением среднего значения в 3-й группе. У мужчин межпозвоночный диск C3/4 имеет наибольшее значение высоты во 2-й группе. Высота межпозвоночного диска C2/3 демонстрировала обратную корреляцию показателей с наибольшими значениями в 3-й

was 3.6–4.4 mm, C5/6 – 3.7–4.4 mm, C4/5 – 3.7–4.8 mm, C3/4 – 4.0–4.8, C2/3 – 4.4–5.3 mm; on average – 3.8–4.7 mm.

Among women in group 3, the following mean values for the intervertebral disc height were noted: C6/7 – 4.0 ± 0.4 mm, C5/6 – 3.8 ± 0.5, C4/5 – 4.1 ± 0.4, C3/4 – 4.2 ± 0.5, C2/3 – 4.5 ± 0.4 mm; on average – 4.1 ± 0.3 mm. The coefficient of variation was from 11.5 to 16.0%. The median of the disc height was 3.9 mm for C6/7, 3.8 – for C5/6, 4.1 – for C4/5, 4.3 – for C3/4, 4.4 mm – for C2/3; on average – 4.1 mm. The Q1–Q3 interval of intervertebral disc height among women in this group at the level of C6/7 was 3.6–4.3 mm, C5/6 – 3.3–4.2, C4/5 – 3.7–4.3, C3/4 – 3.8–4.7, C2/3 – 4.1–4.9 mm; on average – 3.9–4.3 mm.

In general, the most significant changes in the vertical dimension of the intervertebral discs are determined in men. As a result of the analysis of the data obtained, it was revealed that the average intervertebral disc height at the level from C6/7 to C4/5 decreases slightly among men from the 1st to the 3rd group. Among women, the height of the C4/5 disc shows the opposite dynamics – it decreases from the 3rd to the 1st group. In turn, in men, the C4/5 intervertebral disc has relatively stable vertical dimension values with a slight decrease in the mean value in the 3rd group. In men, the C3/4 intervertebral disc has the largest height in group 2. The height of the C2/3 intervertebral disc showed a negative correlation of indicators with the highest values in group 3 and a decrease in group 1, the difference being in the range of 0.3–0.5 mm.

We have assessed correlations between variables using the Pearson's correlation (Table 2), Spearman's and Kendall's tau-b correlations (Table 3).

The presented data demonstrate a significant correlation of age with the severity of changes in the cervical spine, the height of the C2/3 discs, as well as the gender of patients with the height of all intervertebral discs. When assessing the results of the Pearson's correlation, significant associations were identified between the values of the vertical dimension of all intervertebral discs.

Similar results were found with Spearman's and Kendall's tau-b correlations.

Graphically, correlations between the heights of C3/4 and C6/7 and C4/5 and C5/6 intervertebral discs are presented in Fig. 3, 4.

## CONCLUSION

The results of the study indicate – in the majority of cases – a decrease in the vertical dimension of the cervical intervertebral discs due to the progression of

**Таблица 2.** Результаты корреляционного анализа по Пирсону  
**Table 2.** Results of the Pearson's correlation

		Возраст Age	Пол Sex	C6/7	C5/6	C4/5	C3/4	C2/3	Изменения позвоночника в шейном отделе Changes in the cervical spine
<b>Возраст Age</b>	Корреляция Correlation	1.000	0.134	-0.023	-0.074	0.109	0.119	0.238	0.667
	Значимость Significance	-	0.057	0.741	0.297	0.121	0.092	0.001	0.000
<b>Пол Sex</b>	Корреляция Correlation	0.134	1.000	-0.197	-0.291	-0.264	-0.303	-0.341	-0.060
	Значимость Significance	0.057	-	0.005	0.000	0.000	0.000	0.000	0.393
<b>C6/7</b>	Корреляция Correlation	-0.023	-0.197	1.000	0.566	0.517	0.486	0.402	-0.176
	Значимость Significance	0.741	0.005	-	0.000	0.000	0.000	0.000	0.012
<b>C5/6</b>	Корреляция Correlation	-0.074	-0.291	0.566	1.000	0.648	0.521	0.432	-0.129
	Значимость Significance	0.297	0.000	0.000	-	0.000	0.000	0.000	0.067
<b>C4/5</b>	Корреляция Correlation	0.109	-0.264	0.517	0.648	1.000	0.639	0.551	0.082
	Значимость Significance	0.121	0.000	0.000	0.000	-	0.000	0.000	0.243
<b>C3/4</b>	Корреляция Correlation	0.119	-0.303	0.486	0.521	0.639	1.000	0.686	0.129
	Значимость Significance	0.092	0.000	0.000	0.000	0.000	-	0.000	0.067
<b>C2/3</b>	Корреляция Correlation	0.238	-0.341	0.402	0.432	0.551	0.686	1.000	0.269
	Значимость Significance	0.001	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	-	0.000
<b>Изменения в шейном отделе позвоночника Changes in the cervical spine</b>	Корреляция Correlation	0.667	-0.060	-0.176	-0.129	0.082	0.129	0.269	1.000
	Значимость Significance	0.000	0.393	0.012	0.067	0.243	0.067	0.000	-

группе и снижением их к 1-й группе, разница – в диапазоне 0,3–0,5 мм.

Нами была выполнена оценка корреляционных связей между переменными по Пирсону (табл. 2), Спирмену и тай-б Кендалла (табл. 3).

Представленные данные демонстрируют значимую корреляцию значений возраста с выраженностью изменений шейного отдела позвоночника, высотой дисков C2/3, а также пола пациентов с высотой всех межпозвоночных дисков. При оценке данных корреляционного анализа по Пирсону были выявлены значимые связи между значениями вертикальных размеров всех межпозвоночных дисков.

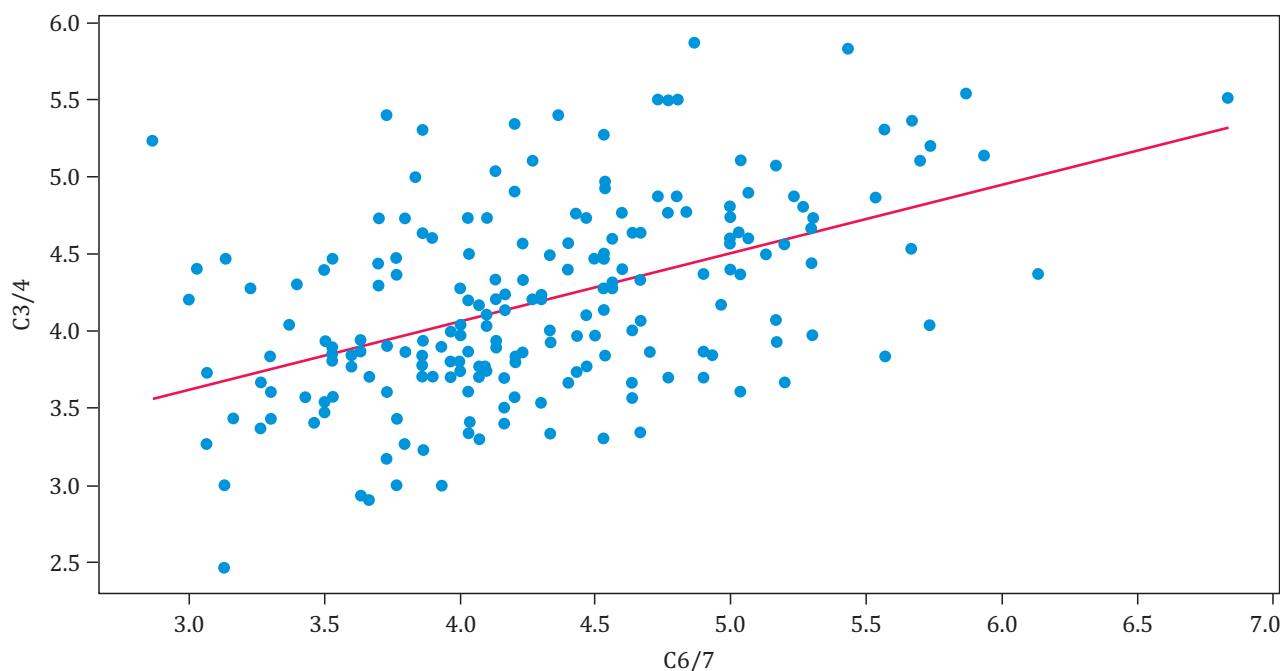
Схожие результаты были отмечены при корреляционном анализе по Спирмену и тай-б Кендалла.

degenerative and dystrophic changes from the 1st to the 3rd group. The opposite dynamics were noted for C2/3 and C4/5 intervertebral discs among women – the vertical dimension decreased from the 3rd to the 1st group. The data obtained make it possible to supplement an information about the dynamics of changes of morphometric parameters with underlying degenerative and dystrophic changes, and with regard to the gender of patients, which makes it possible to develop tools for computational analysis of diagnostic information, improving the quality of medical care.

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

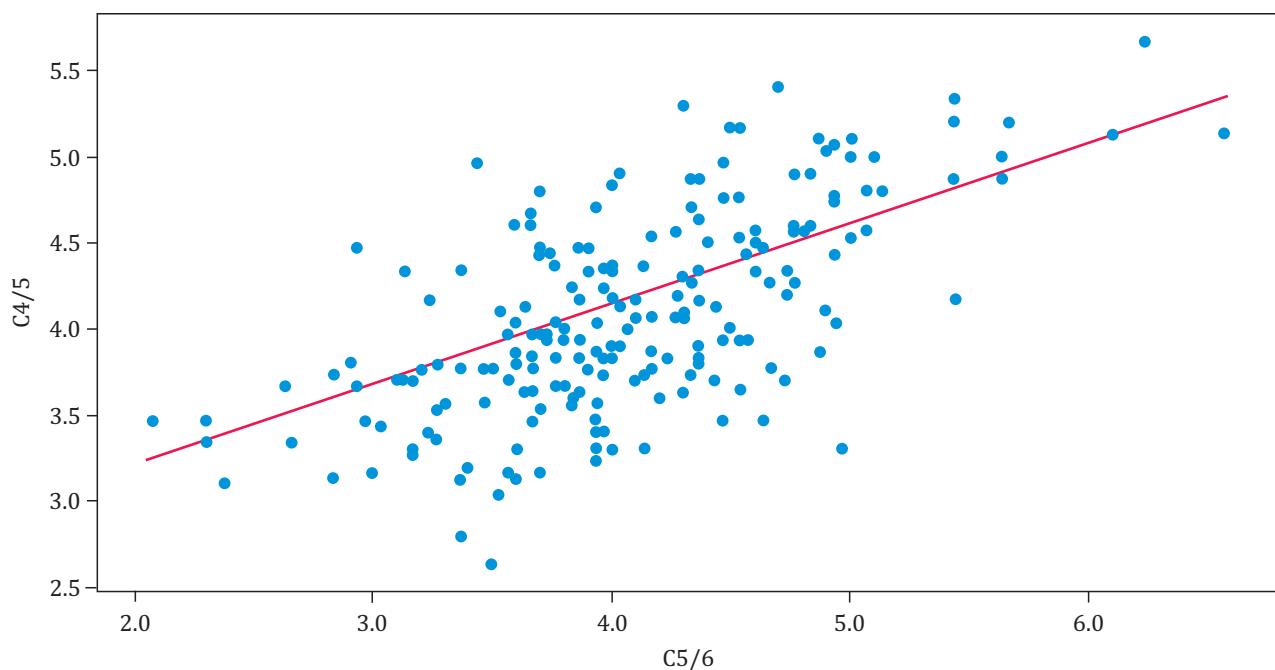
**Таблица 3.** Результаты корреляционного анализа по Спирмену и тау-*b* Кендалла  
**Table 3.** Results of the Spearman's and Kendall's tau-*b* correlations

		Воз- раст Age	Пол Sex	C6/7	C5/6	C4/5	C3/4	C2/3	Изменения позвоночника в шейном отделе Changes in the cervical spine
<i>Tau-b Кендалла / Kendall's tau-<i>b</i></i>									
<b>Возраст</b> <b>Age</b>	Корреляция / Correlation	1.000	0.120	-0.012	-0.041	0.073	0.115	0.177	0.541
	Значимость / Significance	-	0.039	0.797	0.388	0.127	0.016	0.000	0.000
<b>Пол</b> <b>Sex</b>	Корреляция / Correlation	0.120	1.000	-0.163	-0.248	-0.214	-0.251	-0.271	-0.069
	Значимость / Significance	0.039	-	0.005	0.000	0.000	0.000	0.000	0.301
<b>C6/7</b>	Корреляция / Correlation	-0.012	-0.163	1.000	0.387	0.355	0.343	0.262	-0.135
	Значимость / Significance	0.797	0.005	-	0.000	0.000	0.000	0.000	0.014
<b>C5/6</b>	Корреляция / Correlation	-0.041	-0.248	0.387	1.000	0.462	0.394	0.312	-0.098
	Значимость / Significance	0.388	0.000	0.000	-	0.000	0.000	0.000	0.075
<b>C4/5</b>	Корреляция / Correlation	0.073	-0.214	0.355	0.462	1.000	0.467	0.394	0.060
	Значимость / Significance	0.127	0.000	0.000	0.000	-	0.000	0.000	0.277
<b>C3/4</b>	Корреляция / Correlation	0.115	-0.251	0.343	0.394	0.467	1.000	0.522	0.128
	Значимость / Significance	0.016	0.000	0.000	0.000	0.000	-	0.000	0.020
<b>C2/3</b>	Корреляция / Correlation	0.177	-0.271	0.262	0.312	0.394	0.522	1.000	0.220
	Значимость / Significance	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	-	0.000
<b>Изменения позвоночни- ка в шейном отделе Changes in the cervical spine</b>	Корреляция / Correlation	0.541	-0.069	-0.135	-0.098	0.060	0.128	0.220	1.000
	Значимость / Significance	0.000	0.301	0.014	0.075	0.277	0.020	0.000	-
<i>По Спирмену / Spearman's correlation</i>									
<b>Возраст</b> <b>Age</b>	Корреляция / Correlation	1.000	0.145	-0.020	-0.060	0.111	0.166	0.255	0.661
	Значимость / Significance	-	0.038	0.774	0.395	0.114	0.018	0.000	0.000
<b>Пол</b> <b>Sex</b>	Корреляция / Correlation	0.145	1.000	-0.197	-0.300	-0.259	-0.304	-0.329	-0.073
	Значимость / Significance	0.038	-	0.005	0.000	0.000	0.000	0.000	0.302
<b>C6/7</b>	Корреляция / Correlation	-0.020	-0.197	1.000	0.541	0.507	0.478	0.381	-0.178
	Значимость / Significance	0.774	0.005	-	0.000	0.000	0.000	0.000	0.011
<b>C5/6</b>	Корреляция / Correlation	-0.060	-0.300	0.541	1.000	0.629	0.551	0.445	-0.127
	Значимость / Significance	0.395	0.000	0.000	-	0.000	0.000	0.000	0.070
<b>C4/5</b>	Корреляция / Correlation	0.111	-0.259	0.507	0.629	1.000	0.638	0.551	0.076
	Значимость / Significance	0.114	0.000	0.000	0.000	-	0.000	0.000	0.281
<b>C3/4</b>	Корреляция / Correlation	0.166	-0.304	0.478	0.551	0.638	1.000	0.717	0.162
	Значимость / Significance	0.018	0.000	0.000	0.000	0.000	-	0.000	0.021
<b>C2/3</b>	Корреляция / Correlation	0.255	-0.329	0.381	0.445	0.551	0.717	1.000	0.279
	Значимость / Significance	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	-	0.000
<b>Изменения позвоночни- ка в шейном отделе Changes in the cervical spine</b>	Корреляция / Correlation	0.661	-0.073	-0.178	-0.127	0.076	0.162	0.279	1.000
	Значимость / Significance	0.000	0.302	0.011	0.070	0.281	0.021	0.000	-



**Рис. 3.** Распределение вертикальных размеров (мм) межпозвоночных дисков C3/4 и C6/7 среди всех участников исследования с построением модели линейной регрессии

**Fig. 3.** Distribution of the vertical dimensions (mm) of C3/4 and C6/7 intervertebral discs among all study participants with construction of a linear regression model



**Рис. 4.** Распределение вертикальных размеров (мм) межпозвоночных дисков C4/5 и C5/6 среди всех участников исследования с построением модели линейной регрессии

**Fig. 4.** Distribution of vertical dimensions (mm) of C4/5 and C5/6 intervertebral discs among all study participants with a linear regression model construction

Графически корреляционные связи для отношений размеров межпозвоночных дисков С3/4 и С6/7 и С4/5 и С5/6 представлены на рис. 3, 4.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Представленные результаты исследования свидетельствуют о снижении в большинстве случаев вертикального размера межпозвоночных дисков шейного отдела вследствие прогрессирования дегенеративно-дистрофических изменений от 1-й к 3-й группе. Была отмечена обратная динамика для межпозвоночных дис-

ков С2/3 и С4/5 среди женщин – вертикальный размер снижался от 3-й к 1-й группе. Полученные данные позволяют дополнить сведения о динамике изменений морфометрических показателей на фоне дегенеративно-дистрофических изменений и с учетом пола пациентов, что позволяет разрабатывать средства программного анализа диагностической информации, повышая качество оказания медицинской помощи.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Демьянова Л.М., Гуркина О.В. Остеохондроз шейного отдела позвоночника: основы профилактики и лечения // Аллея науки. 2018;21(5):334-338.
2. Кириенко А.Н., Сороковиков В.А., Поздеева Н.А. Дегенеративно-дистрофические поражения шейного отдела позвоночника // Сибирский медицинский журнал. 2015;138(7):21-26.
3. Яхьяева С.А., Гарабова Н.И., Буржунова М.Г. Конкремценция шейных позвонков и неврологические осложнения // Вестник неврологии, психиатрии и нейрохирургии. 2021;3:195-201. DOI: 10.33920/med-01-2103-03.
4. Jensen R.K., Jensen T.S., Grøn S. et al. Prevalence of MRI findings in the cervical spine in patients with persistent neck pain based on quantification of narrative MRI reports // Chiropr. Man. Therap. 2019;27(1):13. DOI: 10.1186/s12998-019-0233-3.
5. Voronzhev I.A., Eloeva Z.V., Sysun L.A. et al. Comparison of the results of US and MRI in the diagnosis of cervical and lumbar intervertebral discs hernia // Azerbaijan Medical Journal. 2021;2:81-87. DOI: 10.34921/amj.2021.2.012.
6. Гавриленко А.В., Николенко В.Н., Аль-Юсеф Н.Н. и др. Корреляция между морфологическими и биомеханическими особенностями и атеросклерозом сонных артерий // Наука и инновации в медицине. 2022;7(3):160-163. DOI: 10.35693/2500-1388-2022-7-3-160-163.
7. Николенко В.Н., Фомкина О.А., Гладилин Ю.А. Анатомия внутрисерепных артерий вертебробазилярной системы. М.: Изд-во Первого МГМУ им. И.М. Сеченова, 2014. 108 с.
8. Николенко В.Н., Фомкина О.А. Деформационно-прочностные параметры артерий головного мозга во II периоде зрелого возраста // Сеченовский вестник. 2019;10(1):41-46. DOI: 10.26442/22187332.2019.1.41-46.
9. Адамович Е.А. Анализ количественных и качественных особенностей межпозвоночных дисков шейного отдела позвоночника у лиц разного пола юношеского возраста // Морфология. 2016;10(3):57-62. DOI: 10.26641/1997-9665.2016.3.57-62.
10. Onishi F.J., Daniel J.W., Joaquim A.F. et al. The impact of traumatic herniated discs in cervical facets // Journal of the American Medical Association. 2019;321(14):1411-1418. DOI: 10.1001/jama.2019.1011.

## REFERENCES

1. Demyanova L.M., Gurkina O.V. Osteochondrosis of the cervical spine: basics of prevention and treatment. *Alley of Science*. 2018;21(5):334-338. (In Russ.)
2. Kirienko A.N., Sorokovikov V.A., Pozdeeva N.A. Degenerative-dystrophic cervical spine disorders (literature review). *Siberian Medical Journal*. 2015;138(7):21-26. (In Russ.)
3. Yakhyeva S.A., Garabova N.I., Burzhunova M.G. Concrescence of the cervical vertebrae and neurological complications. *Bulletin of Neurology, Psychiatry and Neurosurgery*. 2021;3:195-201. DOI: 10.33920/med-01-2103-03. (In Russ.)
4. Jensen R.K., Jensen T.S., Grøn S. et al. Prevalence of MRI findings in the cervical spine in patients with persistent neck pain based on quantification of narrative MRI reports. *Chiropr. Man. Therap.* 2019;27(1):13. DOI: 10.1186/s12998-019-0233-3.
5. Voronzhev I.A., Eloeva Z.V., Sysun L.A. et al. Comparison of the results of US and MRI in the diagnosis of cervical and lumbar intervertebral discs hernia. *Azerbaijan Medical Journal*. 2021;2:81-87. DOI: 10.34921/amj.2021.2.012.
6. Gavrilenko A.V., Nikolenko V.N., Al-Yusef N.N. et al. Correlation between morphological and biochemical features and carotid atherosclerosis. *Science and Innovations in Medicine*. 2022;7(3):160-163. DOI: 10.35693/2500-1388-2022-7-3-160-163. (In Russ.)
7. Nikolenko V.N., Fomkina O.A., Gladilin Yu.A. (2014). Anatomy of the Intracranial Arteries of the Vertebral-basilar System. Moscow: Sechenov University, 108 p. (In Russ.)
8. Nikolenko V.N., Fomkina O.A. Deformation-strength parameters of arteries of the brain in the II period of mature age. *Sechenov Medical Journal*. 2019;10(1):41-46. DOI:10.26442/22187332.2019.1.41-46.
9. Adamovich E.A. Analysis of quantitative and qualitative features of the intervertebral discs of the cervical part of the vertebral column in individuals of juvenile age of both sexes. *Morphologia*. 2016;10(3):57-62. DOI: 10.26641/1997-9665.2016.3.57-62.
10. Onishi F.J., Daniel J.W., Joaquim A.F. et al. The impact of traumatic herniated discs in cervical facets dislocations treatments: systematic review and meta-analysis.

dislocations treatments: systematic review and meta-analysis // *Eur. Spine J.* 2022;31(10):2664-2674. DOI: 10.1007/s00586-022-07290-z.

11. Бывальцев В.А., Степанов И.А., Калинин А.А., Шишков К.В. Диффузионно-взвешенная магнитно-резонансная томография в диагностике дегенерации межпозвонкового диска // Медицинская техника. 2016;4(298):29-32.
12. Бывальцев В.А., Степанов И.А., Калинин А.А., Белых Е.Г. Применение измеряемого коэффициента диффузии в диагностике дегенерации поясничных межпозвоночных дисков у пациентов пожилого и старческого возраста методом диффузионно-взвешенной МРТ // Успехи геронтологии. 2018;31(1):103-109.
13. Burkhardt B.W., Baumann L., Simgen A. et al. Long-term follow-up MRI shows no hastening of adjacent segment degeneration following cervical disc arthroplasty // *Sci. Rep.* 2022;12(1):13318. DOI: 10.1038/s41598-022-17652-8.
14. Nguyen A.Q., Harada G.K., Leverich K.L. et al. High-intensity zones on MRI of the cervical spine in patients: epidemiology and association with pain and disability // *Global Spine J.* 2022;12(5):829-839. DOI: 10.1177/2192568220966328.
15. Mesregah M.K., Repajic M., Mgbam P. et al. Trends and patterns of cervical degenerative disc disease: an analysis of magnetic resonance imaging of 1300 symptomatic patients // *Eur. Spine J.* 2022;31(10):2675-2683. DOI: 10.1007/s00586-022-07336-2.
16. Danilevich V.P., Gumin斯基 Yu.Y., Tikhola V.A. et al. Mathematical modeling of individual parameters of the sum of the sizes intervertebral discs of the lumbar spine in juvenile males and males of the first mature age in norm // *Reports of Morphology.* 2019;25(1):68-76. DOI: 10.31393/morphology-journal-2019-25(1)-09. (In Russ.)
17. Селютин А.Д., Дауров С.К. Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2020619832 Российской Федерации. Программное обеспечение для компьютерной оценки состояния межпозвоночных дисков: № 2020618845: 2020.
18. Kabil M.S., Abdel-ghany W. Microendoscopic anterior cervical foraminotomy: a preliminary series of 76 cases // *Egypt. J. Neurosurg.* 2020;35:12. DOI: 10.1186/s41984-020-00082-x.
19. Yasaka K., Tanishima T., Ohtake Yu. et al. Deep learning reconstruction for 1.5 T cervical spine MRI: effect on interobserver agreement in the evaluation of degenerative changes // *Eur. Radiol.* 2022;32(9):6118-6125. DOI: 10.1007/s00330-022-08729-z.
20. Yu T., Wu J.P., Zhang J. et al. Comparative evaluation of posterior percutaneous endoscopy cervical disectomy using a 3.7 mm endoscope and a 6.9 mm endoscope for cervical disc herniation: a retrospective comparative cohort study // *BMC Musculoskeletal Disord.* 2021;22(1):131. DOI: 10.1186/s12891-021-03980-9.
21. Eur. Spine J. 2022;31(10):2664-2674. DOI: 10.1007/s00586-022-07290-z.
22. Byvaltsev V.A., Stepanov I.A., Kalinin A.A., Shishkov K.V. Diffusion-weighted magnetic resonance imaging in the diagnosis of intervertebral disc degeneration. *Medical Technics.* 2016;4(298):29-32. (In Russ.)
23. Byvaltsev V.A., Stepanov I.A., Kalinin A.A., Belykh E.G. The use of apparent diffusion coefficient in diagnosis of lumbar intervertebral disk degeneration in patients with middle and old age by diffusion-weighted MRI. *Advances in Gerontology.* 2018;31(1):103-109. (In Russ.)
24. Burkhardt B.W., Baumann L., Simgen A. et al. Long-term follow-up MRI shows no hastening of adjacent segment degeneration following cervical disc arthroplasty. *Sci. Rep.* 2022;12(1):13318. DOI: 10.1038/s41598-022-17652-8.
25. Nguyen A.Q., Harada G.K., Leverich K.L. et al. High-intensity zones on MRI of the cervical spine in patients: epidemiology and association with pain and disability. *Global Spine J.* 2022;12(5):829-839. DOI: 10.1177/2192568220966328.
26. Mesregah M.K., Repajic M., Mgbam P. et al. Trends and patterns of cervical degenerative disc disease: an analysis of magnetic resonance imaging of 1300 symptomatic patients. *Eur. Spine J.* 2022;31(10):2675-2683. DOI: 10.1007/s00586-022-07336-2.
27. Danilevich V.P., Gumin斯基 Yu.Y., Tikhola V.A. et al. Mathematical modeling of individual parameters of the sum of the sizes intervertebral discs of the lumbar spine in juvenile males and females of the first mature age in norm. *Reports of Morphology.* 2019;25(1):68-76. DOI: 10.31393/morphology-journal-2019-25(1)-09. (In Russ.)
28. Selyutin A.D., Daurov S.K. Certificate of state registration of a computer program No. 2020619832, Russian Federation. Software for computer assessment of the condition of intervertebral discs: No. 2020618845: 2020. (In Russ.)
29. Kabil M.S., Abdel-ghany W. Microendoscopic anterior cervical foraminotomy: a preliminary series of 76 cases. *Egypt. J. Neurosurg.* 2020;35:12. DOI: 10.1186/s41984-020-00082-x.
30. Yasaka K., Tanishima T., Ohtake Yu. et al. Deep learning reconstruction for 1.5 T cervical spine MRI: effect on interobserver agreement in the evaluation of degenerative changes. *Eur. Radiol.* 2022;32(9):6118-6125. DOI: 10.1007/s00330-022-08729-z.
31. Yu T., Wu J.P., Zhang J. et al. Comparative evaluation of posterior percutaneous endoscopy cervical disectomy using a 3.7 mm endoscope and a 6.9 mm endoscope for cervical disc herniation: a retrospective comparative cohort study. *BMC Musculoskeletal Disord.* 2021;22(1):131. DOI: 10.1186/s12891-021-03980-9.

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

**Мошкин Андрей Сергеевич** – канд. мед. наук, доцент кафедры анатомии, оперативной хирургии и медицины катастроф ФГБОУ ВО «Орловский государственный университет им. И.С. Тургенева», Орел, Россия. ORCID: 0000-0003-2085-0718.

## ABOUT THE AUTHORS

**Andrey S. Moshkin** – Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Department of Anatomy, Operative Surgery and Disaster Medicine, Orel State University named after I.S. Turgenev, Orel, Russia. ORCID: 0000-0003-2085-0718.

**Vladimir N. Nikolenko** – Dr. Sci. (Med.), Professor, Head, Department of Anatomy and Histology, Seche-

**Николенко Владимир Николаевич** – д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой анатомии и гистологии ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России; заведующий кафедрой нормальной и топографической анатомии ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова», Москва, Россия. ORCID: oooo-0001-9532-9957.

**Халилов Максуд Абдуразакович** – д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой анатомии, оперативной хирургии и медицины катастроф ФГБОУ ВО «Орловский государственный университет им. И.С. Тургенева», Орел, Россия. ORCID: oooo-0003-3529-0557.

nov University; Head, Department of Normal and Topographic Anatomy, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia. ORCID: oooo-0001-9532-9957.

**Maksud A. Khalilov** – Dr. Sci. (Med.), Professor, Head, Department of Anatomy, Operative Surgery and Disaster Medicine, Orel State University named after I.S. Turgenev, Orel, Russia. ORCID: oooo-0003-3529-0557.



## Разработка и валидация методики количественного определения триметазидина дигидрохлорида для исследовательских целей

Р. Альрухаи<sup>1, 2</sup>, С.Н. Суслина<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы», Москва, Россия

<sup>2</sup>Университет Дамаска, Дамаск, Сирия

### АННОТАЦИЯ

Введение. Методология фармацевтической разработки предусматривает получение и анализ экспериментальных образцов, в частности по количеству действующего вещества в среде растворения/высвобождения. Для стандартизации качества фармацевтических субстанций используют современные спектральные и хроматографические методы, что существенно усложняет тестирование образцов в эксперименте. Разработка и валидация доступной методики спектрофотометрического определения триметазидина дигидрохлорида (ТМД) необходима для оценки кинетики высвобождения в исследуемых образцах.

Цель. Разработка и валидация спектрофотометрической методики количественного определения ТМД.

Материалы и методы. Фармацевтические субстанции ТМД и вспомогательных веществ соответствовали требованиям нормативных документов по качеству. Сертифицированные приборы, оборудование и используемые методики соответствовали требованиям Государственной Фармакопеи РФ XIV издания и рекомендациям ICH. Результаты. Для разработки методики спектрофотометрического определения ТМД установлен максимум поглощения при длине волны  $269 \pm 2$  нм. В связи с необходимостью количественной оценки профилей кинетики высвобождения действующего вещества из экспериментальных образцов (грануляты и таблетки) ТМД в кислой среде и фосфатном буфере ( $\text{pH} = 6.8 \pm 0.05$ ) валидацию методики проводили в соответствующих условиях. Построенная калибровочная кривая показала, что линейный диапазон предложенной методики составляет 5.0–25.0 мкг/мл с коэффициентом корреляции 0.9994 в кислой среде ( $\text{HCl } 0.1 \text{ M}$ ) и 10.0–50.0 мкг/мл с коэффициентом корреляции 0.9997 в фосфатном буфере. Такие характеристики разработанной методики, как специфичность, правильность и прецизионность, находились в допустимых пределах. Определение с помощью этой методики ТМД в модельных смесях в составе гранул и таблеток показало совпадение с теоретическими значениями в границах допустимых отклонений. Заключение. Разработана и валидирована спектрофотометрическая методика количественного определения ТД при максимуме поглощения  $269 \pm 2$  нм, что позволяет использовать ее в ходе фармацевтической разработки.

**Ключевые слова:** триметазидин, аналитический метод, количественное определение, спектрофотометрия, валидация.

**Образец цитирования:** Альрухаине Р., Суслина С.Н. Разработка и валидация методики количественного определения триметазидина дигидрохлорида для исследовательских целей // Journal of Siberian Medical Sciences. 2024;8(1):64-74. DOI: 10.31549/2542-1174-2024-8-1-64-74

## Development and validation of an accessible analytical method for the quantification of trimetazidine dihydrochloride for research purposes

R. Alrouhayyah<sup>1, 2</sup>, S.N. Suslina<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russia

<sup>2</sup>Damascus University, Damascus, Syria

### ABSTRACT

**Introduction.** The methodology of pharmaceutical development provides for the preparation and analysis of experimental samples, in particular by the amount of an active substance in the dissolution/release medium. Modern spec-

Поступила в редакцию 11.04.2023  
Прошла рецензирование 12.05.2023  
Принята к публикации 31.05.2023

Автор, ответственный за переписку  
Альрухане Раним: ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы» (РУДН). 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, 6.  
E-mail: alrukhaie-r@rudn.ru

Received 11.04.2023  
Revised 12.05.2023  
Accepted 31.05.2023

*Corresponding author*  
Ranim Alrouhayyah: Peoples' Friendship University of Russia (RUDN University), 6 Miklukho-Maklaya str., Moscow, 117198, Russia.  
E-mail: alrukhaie-r@rudn.ru

tral and chromatographic methods are used to standardize the quality of pharmaceutical substances, which significantly complicates testing samples. The development and validation of an accessible method for the spectrophotometric determination of trimetazidine dihydrochloride (TMD) is necessary to assess the release kinetics in the samples studied.

**Aim.** Development and validation of a spectrophotometric method for the quantitative determination of TMD.

**Materials and methods.** Pharmaceutical substances of TMD and excipients met the quality requirements of regulatory documents. The certified devices, equipment and methods used complied with the requirements of the State Pharmacopoeia of the Russian Federation, 14th ed. and the recommendations of the International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use (ICH).

**Results.** To develop a method for the spectrophotometric determination of TMD, the maximum absorbance was detected at  $269 \pm 2$  nm. Due to the need to quantify the release profiles of the active substance from experimental samples (granulates and tablets) of TMD in acidic medium and phosphate buffer ( $\text{pH} = 6.8 \pm 0.05$ ), the method was validated under such conditions. The constructed calibration curve showed that the linear range of the method is  $5.0\text{--}25.0 \mu\text{g/ml}$  with a correlation coefficient of 0.9994 in acidic medium ( $\text{HCl } 0.1 \text{ M}$ ) and  $10.0\text{--}50.0 \mu\text{g/ml}$  with a correlation coefficient of 0.9997 in phosphate buffer. Such characteristics of the method as specificity, accuracy and precision were within reference limits. The determination of TMD using this method in mixture models formulated into granules and tablets showed coincidence with the reference values within the limits of acceptable deviations.

**Conclusion.** A spectrophotometric method for the quantitative determination of TMD within the maximum absorbance at  $269 \pm 2$  nm was developed and validated, which makes it possible to use it during pharmaceutical development.

**Keywords:** trimetazidine, analytical method, quantification, spectrophotometry, validation.

**Citation example:** Alrouhayyah R., Suslina S.N. Development and validation of an accessible analytical method for the quantification of trimetazidine dihydrochloride for research purposes. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2024;8(1):64-74. DOI: 10.31549/2542-1174-2024-8-1-64-74

## ВВЕДЕНИЕ

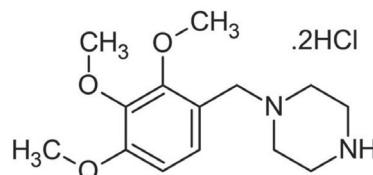
Триметазидина дигидрохлорид (TMD) [1-(2,3,4-триметоксибензил)-пиперазина дигидрохлорид] (рис. 1), молекулярная масса – 339 г, является эффективным, хорошо переносимым препаратом, используемым в кардиологии для нормализации метаболических процессов [1]. Триметазидин – липофильное слабое основание с двумя значениями показателя константы кислотности ( $\text{pKa}$ ):  $\text{pKa1} = 4.45 \pm 0.02$  и  $\text{pKa2} = 9.14 \pm 0.02$  [2], с очень низкой растворимостью в воде по сравнению с однопротонированным или дважды протонированным триметазидином, образующимся в кислой среде. TMD как соль представляет собой слегка гигроскопичный белый или почти белый кристаллический порошок, легко растворимый в воде и умеренно – в спирте [3].

Анализ литературы показал наличие значительного количества методик: спектрофотоме-

## INTRODUCTION

Trimetazidine dihydrochloride (TMD) [1-(2,3,4-trimethoxybenzyl)-piperazine dihydrochloride] (Fig. 1), having molecular weight of 339 g, is an effective, well-tolerated drug used in cardiology to normalize metabolic processes [1]. Trimetazidine is a lipophilic weak base with two values of the acid dissociation constant ( $\text{pKa}$ ):  $\text{pKa1} = 4.45 \pm 0.02$  and  $\text{pKa2} = 9.14 \pm 0.02$  [2], with very low aqueous solubility compared with single-protonated or double-protonated trimetazidine formed in acidic medium. TMD as a salt is a slightly hygroscopic white or almost white crystalline powder, freely soluble in water and sparingly – in alcohol [3].

An analysis of the literature has shown a significant number of analytical methods (spectrophotometry in the ultraviolet (UV) and visible regions, chromatography (high-performance liquid, high-performance thin-layer and gas), electroanalytical and



**Рис. 1.** Формула триметазидина дигидрохлорида  
**Fig. 1.** The chemical structure of trimetazidine dihydrochloride

трические в ультрафиолетовой (СФМ-УФ) и видимой областях, хроматографические: высокоэффективная жидкостная, высокоэффективная тонкослойная и газовая, электроаналитические и хемилюминесцентные методики и др. – для количественного определения фармацевтической субстанции ТМД [4]. Среди этих методик СФМ-УФ наиболее предпочтительна для исследовательской практики в связи с простотой проведения анализа, доступностью оборудования и расходных материалов и экономией времени [5].

Т.К. Murthy et al. предложены две простые и чувствительные спектрофотометрические методики для определения ТМД в промежуточных продуктах и лекарственных формах (ЛФ). Первая основана на окислительном связывании гидразингидрохлорида 3-метил-2-бензотиазолиона с ТМД в присутствии сульфата церия и аммония с получением окрашенного комплекса и измерением его поглощения при 520 нм. Вторая методика – по реакции окисления/восстановления ТМД с реагентом Фолина-Чокальтеу (Folin-Ciocalteu), с измерением оптической плотности окрашенного продукта при 745 нм [6]. ТМД также определяли в ЛФ с помощью методик, основанных на образовании окрашенных комплексов: с йодом в качестве  $\sigma$ -акцептора в сухом 1,2-дихлорэтане – абсорбция комплекса желтого цвета при длине волны 364 нм и с бромкрезоловым зеленым в сухом 1,2-дихлорэтане с образованием окрашенного комплекса в растворе, измеренном при 408 нм [7].

G. Krishnamoorthy, M. Ganesh разработали методику анализа ТМД, основанную на измерении оптической плотности водного раствора при 270 нм с диапазоном линейности от 400 до 700 мкг/мл, что также успешно применяется для определения действующего вещества в ЛФ [8]. При апробации этой методики установлена возможность ее использования в отношении фармацевтической субстанции ТМД с разным диапазоном линейности, однако она оказалась неприменима при оценке кинетики высвобождения или количественного определения в составе экспериментальных образцов ЛФ.

Е.В. Компанцевой и соавт. описана методика количественного определения ТМД в таблетках, покрытых оболочкой, в соответствии с общей фармакопейной статьей (ОФС) 1.2.1.1.0003.15 «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях». Среда растворения и растворитель для определения стандартного раствора: HCl 0.1 М,  $\lambda_{\max} = 233$  нм. Количество ТМД в образце определяется путем измерения оптической

хемилуминесценции методами, etc.) для количественного определения фармацевтической субстанции ТМД [4]. Among these methods, UV spectrophotometry is the most preferred for research practice due to the ease of analysis, affordability of equipment and supplies, and time savings [5].

Murthy et al. proposed two simple and sensitive spectrophotometric methods to determine TMD in bulk and in dosage forms (DFs). The first is based on the oxidative coupling of 3-methyl-2-benzothiazolione hydrazone hydrochloride with TMD in presence of ceric ammonium sulfate to form a colored product with  $\lambda_{\max}$  at 520 nm. The second method is based on the oxidation/reduction reaction of TMD with Folin-Ciocalteu reagent to form a colored product with  $\lambda_{\max}$  at 745 nm [6]. TMD was also determined in DFs using techniques based on the formation of colored complexes: with iodine as  $\sigma$ -acceptor in dry 1,2-dichloroethane – the maximum absorbance of a yellow colored complex at 364 nm and with bromocresol green in dry 1,2-dichloroethane with the formation of a yellow colored complex with the maximum absorbance at 408 nm [7].

Krishnamoorthy and Ganesh developed a spectrophotometric method for detection of TMD based on measuring the absorbance at 270 nm with a concentration range from 400 to 700  $\mu$ g/ml, which is also successfully used to determine the active substance in DFs [8]. During the testing of this method, the possibility of its use for the pharmaceutical substance of TMD with a different range of linearity was revealed; however, it turned out to be inapplicable when evaluating the release kinetics or quantification in the composition of experimental samples of DFs.

The method of quantitative determination of TMD in coated tablets, in accordance with the general pharmacopoeial monograph (GPM) 1.2.1.1.0003.15 Spectrophotometry in the UV and visible area is described by Kompantseva et al. The dissolution medium and solvent for the determination of the standard solution: HCl 0.1 M,  $\lambda_{\max} = 233$  nm. The amount of TMD in the sample is determined by measuring the absorbance of the standard and test solutions [9].

Because of developing modified-release dosage forms of TMD involves a dissolution test in two different media: acidic medium (HCl 0.1 M) and phosphate buffer (pH 6.8  $\pm$  0.05), it is necessary to develop and validate a technique for each of them.

## AIM OF THE RESEARCH

Development and validation of a spectrophotometric method for the quantitative determination of TMD.

ской плотности стандартного и испытуемого растворов [9].

В связи с тем, что создание систем модифицированного высвобождения ТМД предполагает проведение теста растворения в двух разных средах: кислой среде (HCl 0.1 M) и фосфатном буфере (pH 6.8 ± 0.05), необходимо разработать и валидировать методику для каждой из них.

## ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Разработка и валидация спектрофотометрической методики количественного определения ТМД.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперименты проведены на кафедре общей фармацевтической и биомедицинской технологии Медицинского института ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы» в соответствии с фармакопейными методиками [10].

**Объект исследования:** ТМД (Trimetazidine, CAS 5011-34-7, Alcon Biosciences Pvt. Ltd., Индия), Коллидон® SR (Kollidon® SR, CAS 9003-20-7, BASF, Германия), Эудрагит® RS30D (Eudragit® RS30D, CAS 33434-24-3) и Эудрагит® RSPO (Eudragit® RSPO CAS 33434-24-1) производства Evonik (Германия), Поливинилпирролидон-к25 (Povidone K25, CAS 9003-39-8, Boai NKY Pharmaceuticals Ltd, Китай).

**Определение максимума поглощения ( $\lambda_{\max}$ ).** Точную навеску 100.0 мг ТМД растворяли в 100 мл 0.1 М HCl с получением исходного раствора (1000.0 мкг/мл). Аликовты исходного раствора переносили в мерные колбы для получения концентраций 5.0, 10.0, 15.0, 20.0, 25.0, 30.0 мкг/мл соответственно. Растворы сканировали в УФ-диапазоне на спектрофотометре СФ-102 (Россия), максимум поглощения  $\lambda_{\max}$  получен при длине волны 269 нм. По этой же схеме также была определена величина  $\lambda_{\max}$  в фосфатном буфере (pH 6.8 ± 0.05), которая также составила 269 нм.

Предлагаемая методика оценивалась по аналитическим параметрам в кислой среде (HCl 0.1 M) и фосфатном буфере (pH 6.8 ± 0.05) в соответствии с ОФС 1.1.0012.15 «Валидация аналитических методик», ОФС 1.2.1.1.0003.15 «Спектрофотометрия в УФ и видимой областях» и ОФС.1.4.2.0014.15 «Растворение для твердых дозированных лекарственных форм» [10] и с рекомендациями ICH [11].

**Апробация методики в HCl 0.1 M.** Аналитическая область: для определения интервала

## MATERIALS AND METHODS

The experiments were conducted at the Department of General Pharmaceutical and Biomedical Technology of the Medical Institute of the Peoples' Friendship University of Russia in accordance with pharmacopoeial techniques [10].

**The object of research:** TMD (Trimetazidine, CAS 5011-34-7, Alcon Biosciences Pvt. Ltd., India), Kollidon® SR (CAS 9003-20-7, BASF, Germany), Eudragit® RS30D (CAS 33434-24-3) and Eudragit® RSPO (CAS 33434-24-1, Evonik, Germany), Polyvinylpyrrolidone k25 (Povidone K25, CAS 9003-39-8, Boai NKY Pharmaceuticals Ltd, China).

**Determination of the maximum absorbance ( $\lambda_{\max}$ ).** An accurately weighed quantity of 100.0 mg of TMD was dissolved in 100 ml of 0.1 M HCl to obtain a stock solution (1000.0  $\mu$ g/ml). Aliquots of the stock solution were transferred to graduated flasks to obtain concentrations of 5.0, 10.0, 15.0, 20.0, 25.0, 30.0  $\mu$ g/ml, respectively. The solutions were analyzed in the UV range using a SPH-102 spectrophotometer (Russia),  $\lambda_{\max}$  was found at 269 nm. According to the similar manner, the  $\lambda_{\max}$  value in phosphate buffer (pH 6.8 ± 0.05) was determined, which also amounted to 269 nm.

The proposed method was evaluated by analytical parameters in acidic medium (HCl 0.1 M) and phosphate buffer (pH 6.8 ± 0.05) in accordance with the GMP 1.1.0012.15 Validation of analytical techniques, GMP 1.2.1.1.0003.15 Spectrophotometry in the UV and visible area and GMP 1.4.2.0014.15 Dissolution of solid pharmaceutical dose forms [10] and with the recommendations of the International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use (ICH) [11].

**Approbation of the method in HCl 0.1 M.** Analytical range: to determine the interval between the lower and upper concentration values, several concentrations of TMD in 0.1 M HCl in the range of 1.0–40.0  $\mu$ g/ml were prepared and their absorption was recorded at 269 nm.

**Linearity:** to check linearity, the absorbance of 5 samples with different concentrations of TMD was measured. A calibration curve was constructed representing the absorbance at concentration, and an equation  $y = bx + a$  with a correlation coefficient ( $R^2$ ) was obtained.

**Specificity:** shows that the presence of related excipients does not affect the result of the analysis in an unintended way. For this purpose, various solutions of TMD at a certain concentration (HCl 0.1 M) were prepared and their absorbance values were measured using the spectrophotometer at

**Таблица 1.** Оценка правильности методики в кислой среде (HCl 0.1 M)  
**Table 1.** Assessment of the accuracy of the method in acidic medium (HCl 0.1 M)

Концентрация, мкг/мл Concentration, $\mu\text{g}/\text{ml}$	Среднее значение $\pm$ SD, мкг/мл Mean value $\pm$ SD, $\mu\text{g}/\text{ml}$	Восстановление $\pm$ RSD, % Recovery $\pm$ RSD, %
7.5	7.44 $\pm$ 0.07	99.15 $\pm$ 0.95
10.0	9.95 $\pm$ 0.19	99.46 $\pm$ 1.94
12.5	12.40 $\pm$ 0.24	99.23 $\pm$ 1.96
15.0	15.01 $\pm$ 0.26	100.09 $\pm$ 1.73
17.5	17.3 $\pm$ 0.30	98.86 $\pm$ 1.71

Примечание. SD – стандартное отклонение; RSD – относительное стандартное отклонение.  
Note. SD – standard deviation; RSD – relative standard deviation.

между нижним и верхним значениями концентрации готовили ряд концентраций ТМД в HCl 0.1 M в диапазоне 1.0–40.0 мкг/мл и фиксировали их поглощение при 269 нм.

Линейность: для проверки линейности измеряли оптическую плотность 5 образцов с различными концентрациями ТМД. Калибровочную кривую строили, представляя оптическую плотность при концентрации, и получали уравнение в форме  $y = bx + a$  с коэффициентом корреляции ( $R^2$ ).

Специфичность: показывает, что наличие сопутствующих компонентов не влияет на результат анализа непредусмотренным образом. Для этого готовили различные растворы ТМД определенной концентрации в HCl 0.1 M и получали значения их поглощения на спектрофотометре при  $\lambda_{\text{max}} = 269$  нм. Затем процедуру повторяли с добавлением используемых вышеупомянутых вспомогательных веществ (ВВ).

Правильность: устанавливали с использованием 5 повторов для каждого из 5 уровней концентрации, включенных в диапазон линейности, растворов ТМД в HCl 0.1 M. Оптическую плотность измеряли на спектрофотометре при 269 нм для каждого уровня концентрации, затем по калиброванному графику определяли концентрацию ТМД в растворе и рассчитывали среднее значение концентрации (табл. 1).

Прецизионность: изучается на однородных выборках и может оцениваться как повторяемость (сходимость) и как внутрилабораторная (промежуточная) прецизионность. Повторяемость можно определить путем анализа 4 повторов для каждого из 5 уровней концентрации (5.0, 7.5, 10.0, 12.5, 15.0 мкг/мл) в тот же день, затем анализ повторяли в течение трех разных дней для оценки промежуточной прецизионности, путем определения ее воспроизводимости (табл. 2).

$\lambda_{\text{max}} = 269$  nm. The procedure was then repeated with the addition of the abovementioned excipients.

Accuracy: it was assessed using 5 replications for each of 5 concentrations included in the linearity range of TMD solutions in HCl 0.1 M. The absorbance was measured using the spectrophotometer at 269 nm for each concentration level, then the concentration of TMD in the solution was determined using a calibration plot and the mean concentration value was calculated (Table 1).

Precision: it is studied using homogeneous samples and can be assessed as repeatability and as intermediate precision. Repeatability can be determined by analyzing in 4 replications for each of 5 concentrations (5.0, 7.5, 10.0, 12.5, 15.0  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) on the same day, then the analysis was repeated over three different days to assess intermediate precision by determining its reproducibility (Table 2).

**Approbation of the method in phosphate buffer (pH 6.8  $\pm$  0.05).** Analytical range: several TMD concentrations of TMD were prepared in phosphate buffer (pH 6.8  $\pm$  0.05) in the range of 1.0–70.0  $\mu\text{g}/\text{ml}$  and absorbance values were determined at 269 nm.

Linearity: the absorbance of 5 samples with different concentrations of TMD in the analytical range was determined and a calibration curve was constructed.

Specificity: solutions of TMD and various excipients were prepared at known concentrations, and their absorbance values were determined at  $\lambda_{\text{max}} = 269$  nm. TMD concentrations were calculated using the equation of a calibration plot.

Accuracy: the absorbance was measured using the spectrophotometer at 269 nm for 5 levels included in the linearity range. The concentrations of TMD solutions and the concentration of TMD in solution were determined using the calibration plot. This procedure was repeated 5 times for each con-

**Таблица 2.** Оценка повторяемости и промежуточной прецизионности методики в кислой среде (HCl 0.1 M)  
**Table 2.** Assessment of repeatability and intermediate precision of the method in acidic medium (HCl 0.1 M)

Концентрация, мкг/мл Concentration, $\mu\text{g}/\text{ml}$	Восстановление $\pm$ RSD, % / Recovery $\pm$ RSD, %	
	В течение одного дня / Within one day	В течение трех дней / Over three days
5.0	99.72 $\pm$ 1.76	99.69 $\pm$ 1.68
7.5	99.79 $\pm$ 1.13	99.20 $\pm$ 1.81
10.0	99.90 $\pm$ 1.12	100.16 $\pm$ 1.44
12.5	99.40 $\pm$ 0.89	99.17 $\pm$ 1.41
15.0	99.83 $\pm$ 1.39	100.03 $\pm$ 1.19

Примечание. RSD – относительное стандартное отклонение.

Note. RSD – relative standard deviation.

**Апробация методики в фосфатном буфере (pH 6.8  $\pm$  0.05).** Аналитическая область: готовили ряд концентраций ТМД в фосфатном буфере (pH 6.8  $\pm$  0.05) в диапазоне 1.0–70.0 мкг/мл и определяли величины поглощения при 269 нм.

Линейность: определяли поглощение 5 проб с различными находящимися в аналитической области концентрациями ТМД и строили калибровочную кривую.

Специфичность: готовили растворы ТМД и разных ВВ в известных концентрациях и определяли значения их поглощения при  $\lambda_{\text{max}} = 269$  нм. С использованием уравнения калиброванного графика рассчитывали концентрации ТМД.

Правильность: поглощения измеряли с помощью спектрофотометра при 269 нм для 5 уровней, включенных в диапазон линейности. Концентрации растворов ТМД и концентрацию ТМД в растворе определяли с использованием калиброванного графика. Эту процедуру повторяли 5 раз для каждого уровня концентрации и рассчитывали среднее значение (табл. 3).

Прецизионность: 5 концентраций (15.0, 20.0, 30.0, 40.0, 45.0 мкг/мл) ТМД в фосфатном буфере анализировали при 269 нм 4 раза в один и тот же день (повторяемость (сходимость)), затем анализ

centration level and the average value was calculated (Table 3).

Precision: samples in 5 concentrations (15.0, 20.0, 30.0, 40.0, 45.0  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) of TMD in phosphate buffer were analyzed at 269 nm 4 times on the same day (repeatability), then the analysis was repeated more over three different days (intermediate precision) (Table 4).

**Analysis of trimetazidine dihydrochloride in experimental samples.** To test the developed UV spectrophotometric method developed for the quantification of TMD, the quantitative detection of the active substance was performed: (a) in experimental samples of TMD solid dispersions using various polymers; (b) in immediate-release tablets (Trimetazidine 20 mg, film-coated tablets, Ozon LLC, Russia) (T20) and in prolonged-release (Deprenorm MV 35 mg, prolonged-release film-coated tablets, Canonpharma Production CJSC, Russia) (T35).

*In solid dispersions:* an accurately weighed quantity of crushed TMD samples (TD1, TD2 and TD3) containing 10.0 mg of the active substance of TMD were placed in 100 ml graduated flasks, and dissolved in HCl 0.1 M, diluted to volume, then filtered. Standard solutions with concentrations in the range of 5.0–25.0  $\mu\text{g}/\text{ml}$  were prepared from

**Таблица 3.** Оценка правильности методики в фосфатном буфере (pH 6.8  $\pm$  0.05)  
**Table 3.** Accuracy assessment of the method in phosphate buffer (pH 6.8  $\pm$  0.05)

Концентрация, мкг/мл Concentration, $\mu\text{g}/\text{ml}$	Среднее значение $\pm$ SD, мкг/мл Mean value $\pm$ SD, $\mu\text{g}/\text{ml}$	Восстановление $\pm$ RSD, % Recovery $\pm$ RSD, %
15.0	15.01 $\pm$ 0.23	100.04 $\pm$ 1.52
20.0	19.89 $\pm$ 0.16	99.46 $\pm$ 0.82
30.0	29.72 $\pm$ 0.35	99.07 $\pm$ 1.17
40.0	39.57 $\pm$ 0.45	98.92 $\pm$ 1.14
45.0	44.75 $\pm$ 0.45	99.44 $\pm$ 0.99

Примечание. SD – стандартное отклонение; RSD – относительное стандартное отклонение.

Note. SD – standard deviation; RSD – relative standard deviation.

**Таблица 4.** Оценка повторяемости и промежуточной прецизионности в фосфатном буфере (pH 6.8 ± 0.05)  
**Table 4.** Assessment of repeatability and intermediate precision in phosphate buffer (pH 6.8 ± 0.05)

Концентрация, мкг/мл Concentration, µg/ml	Восстановление ± RSD, % / Recovery ± RSD, %	
	В течение одного дня / Within one day	В течение трех дней / Over three days
15.0	99.48 ± 0.92	99.82 ± 0.84
20.0	99.93 ± 0.94	99.92 ± 0.81
30.0	99.43 ± 1.25	99.11 ± 1.37
40.0	98.92 ± 1.67	98.7 ± 1.74
45.0	99.38 ± 0.7	98.97 ± 0.86

Примечание. RSD – относительное стандартное отклонение.

Note. RSD – relative standard deviation.

повторяли еще в течение трех других дней (внутрилабораторная (промежуточная) прецизионность) (табл. 4).

#### Анализ триметазидина дигидрохлорида в составе экспериментальных образцов.

Для испытания разработанной СФМ-УФ методики количественного определения ТМД проведен анализ количественного содержания действующего вещества: а) в экспериментальных образцах твердых дисперсий ТМД с использованием различных полимеров; б) в таблетках немедленного высвобождения (Триметазидин 20 мг, таблетки, покрытые пленочной оболоч-

the obtained filtrates using the same solvent. The absorbance of the obtained solutions was measured at 269 nm, and the concentration was calculated according to the calibration curve, taking into account dilution (Table 5).

*In tablets:* an accurately weighed quantity of a sample of crushed tablets containing 10.0 mg of TMD was dissolved in HCl 0.1 M and analyzed according to the above procedure (Table 5).

#### RESULTS AND DISCUSSION

When assessing the specificity of the technique developed, it was found that there was no effect of

**Таблица 5.** Результаты анализа триметазидина дигидрохлорида в экспериментальных образцах  
**Table 5.** The results of the analysis of trimetazidine dihydrochloride in experimental samples

Образец Sample	Концентрация, мкг/мл Concentration, µg/ml	Среднее значение ± SD, мкг/мл Mean value ± SD, µg/ml	Восстановление ± RSD, % Recovery ± RSD, %
<i>В твердых дисперсиях / In solid dispersions</i>			
ТД1 / TD1	5.0	4.99 ± 0.10	99.73 ± 1.91
ТД1 / TD1	15.0	14.84 ± 0.24	98.91 ± 1.65
ТД1 / TD1	20.0	19.99 ± 0.33	99.93 ± 1.64
ТД2 / TD2	5.0	5.06 ± 0.07	101.27 ± 1.43
ТД2 / TD2	15.0	14.99 ± 0.18	101.27 ± 1.43
ТД2 / TD2	20.0	20.01 ± 0.16	100.03 ± 0.78
ТД3 / TD3	5.0	4.97 ± 0.08	99.40 ± 1.61
ТД3 / TD3	15.0	15.03 ± 0.15	100.20 ± 1.02
ТД3 / TD3	20.0	19.95 ± 0.22	99.73 ± 1.11
<i>В таблетках / In tablets</i>			
T20	10.0	9.89 ± 0.19	98.87 ± 1.88
T20	20.0	19.84 ± 0.35	99.18 ± 1.78
T20	25.0	24.72 ± 0.38	98.88 ± 1.52
T35	10.0	10.01 ± 0.12	100.13 ± 1.17
T35	20.0	19.84 ± 0.24	99.22 ± 1.22
T35	25.0	24.89 ± 0.30	99.57 ± 1.19

Примечание. SD – стандартное отклонение; RSD – относительное стандартное отклонение.

Note. SD – standard deviation; RSD – relative standard deviation.

кой, ООО «Озон», Россия) (Т20) и пролонгированного высвобождения (Депренорм МВ 35 мг, таблетки пролонгированного действия, покрытые пленочной оболочкой, ЗАО «Канонфарма Продакшн», Россия) (Т35).

**В твердых дисперсиях:** точные навески измельченных образцов ТМД (ТД1, ТД2 и ТД3), содержащие по 10.0 мг действующего вещества ТМД, помещали в мерные колбы вместимостью 100 мл и растворяли в HCl 0.1 M, доводя до метки, затем фильтровали. Из полученных фильтратов готовили рабочие растворы с концентрациями в диапазоне 5.0–25.0 мкг/мл с использованием того же растворителя. Абсорбцию полученных растворов фиксировали при 269 нм и рассчитывали концентрацию по калибровочной кривой с учетом разбавления (табл. 5).

**В таблетках:** точную навеску образца измельченных таблеток, соответствующую 10.0 мг ТМД, растворяли в HCl 0.1 M и проводили анализ согласно изложенной выше методике (см. табл. 5).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При оценке специфичности разработанной методики установлено отсутствие влияния ВВ на результаты анализа количественного определения ТМД, а полученные результаты совпадали с теоретическим содержанием ТМД в исследованных образцах. Аналитическая область составляла от 4.0 до 35.0 мкг/мл в HCl 0.1 M, а в фосфатном буфере (pH 6.8 ± 0.05) – от 5.0 до 65.0 мкг/мл. Построенная кривая оказалась линейной в диапазоне концентраций от 5.0 до 25.0 мкг/мл в HCl 0.1 M и от 10.0 до 50.0 мкг/мл в фосфатном буфере (pH 6.8 ± 0.05), с коэффициентом корреляции 0.9994 и 0.9997 соответственно (рис. 2, 3).

Из данных, представленных в табл. 1 и 3, видно, что восстановление разных образцов при определении правильности находилось в пределах 97.15–101.82 % в HCl 0.1 M и 97.78–101.56 % в фосфатном буфере (pH 6.8 ± 0.05) со значениями RSD меньше 2 % в обеих средах, т.е. истинные значения концентрации лежат внутри доверительных интервалов соответствующих средних экспериментально полученных результатов. Кроме того, свободный член в уравнении линейности статистически значимо не отличается от нуля. Таким образом, использование разработанной методики дает результаты без систематической ошибки.

Значения восстановления, представленные в табл. 2 и 4 (оценка повторяемости), указывают в значительной степени на высокую воспроизво-

димость на результаты количественного определения ТМД, и результаты, полученные совпадают с содержанием ТМД в исследованных образцах. Аналитический диапазон был от 4.0 до 35.0 мкг/мл в HCl 0.1 M, и от 5.0 до 65.0 мкг/мл в фосфатном буфере (pH 6.8 ± 0.05) – от 5.0 до 25.0 мкг/мл в HCl 0.1 M и от 10.0 до 50.0 мкг/мл в фосфатном буфере (pH 6.8 ± 0.05), с коэффициентом корреляции 0.9994 и 0.9997, соответственно (рис. 2 и 3).

Данные, представленные в Табл. 1 и 3, показывают, что восстановление различных образцов при определении правильности находилось в пределах 97.15–101.82 % в HCl 0.1 M и 97.78–101.56 % в фосфатном буфере (pH 6.8 ± 0.05) со значениями RSD меньше 2 % в обеих средах, т.е. истинные значения концентрации лежат внутри доверительных интервалов соответствующих средних экспериментально полученных результатов. Кроме того, свободный член в уравнении линейности статистически значимо не отличается от нуля. Таким образом, использование разработанной методики дает результаты без систематической ошибки.

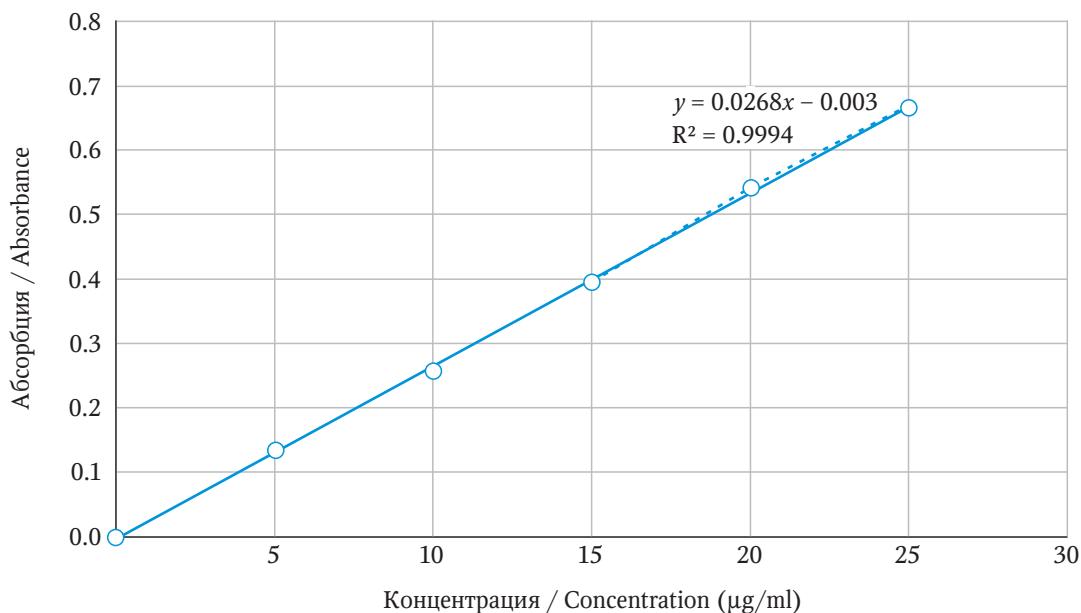
Данные, представленные в Табл. 2 и 4, при оценке воспроизводимости, указывают на высокую воспроизводимость и точность разработанного метода в обеих средах.

При оценке специфичности разработанной методики установлено отсутствие влияния ВВ на результаты анализа количественного определения ТМД, а полученные результаты совпадали с теоретическим содержанием ТМД в исследованных образцах. Аналитическая область составляла от 4.0 до 35.0 мкг/мл в HCl 0.1 M, а в фосфатном буфере (pH 6.8 ± 0.05) – от 5.0 до 65.0 мкг/мл. Построенная кривая оказалась линейной в диапазоне концентраций от 5.0 до 25.0 мкг/мл в HCl 0.1 M и от 10.0 до 50.0 мкг/мл в фосфатном буфере (pH 6.8 ± 0.05), с коэффициентом корреляции 0.9994 и 0.9997 соответственно (рис. 2, 3).

## CONCLUSION

Мы разработали спектрофотометрический метод для количественного определения триметазидина дигидрохлорида с максимумом поглощения при 269 ± 2 нм с хорошей линейностью ( $R^2 = 0.999$ ) и аналитическим диапазоном от 4.0–35.0 мкг/мл в кислой среде и 5.0–65.0 мкг/мл в щелочной среде. Проверка подтвердила специфичность, точность и воспроизводимость метода. Предложенный спектрофотометрический метод для определения триметазидина дигидрохлорида может быть использован для оценки высвобождения активного вещества в кислой и щелочной среде из таблеток и экспериментальных образцов с различными добавками.

**Acknowledgments.** The publication was supported by the Strategic Academic Leadership Program of the Peoples' Friendship University of Russia (Moscow, Russia). The authors express their



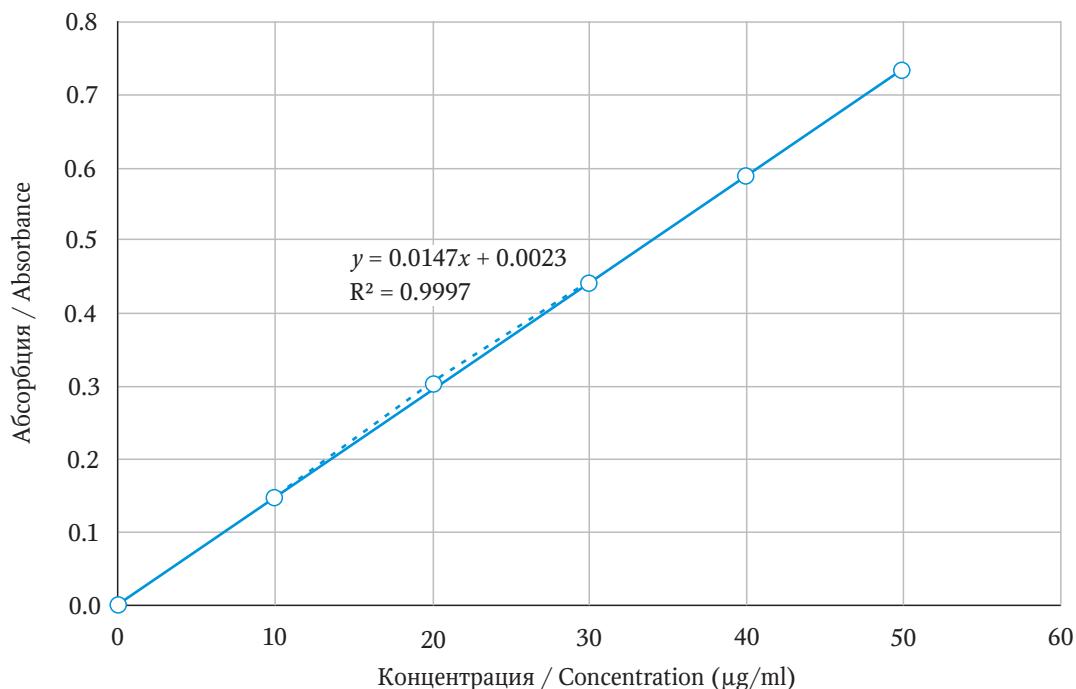
**Рис. 2.** Калибровочный график для анализа в кислотной среде (HCl 0.1 M)  
**Fig. 2.** The calibration plot for analysis in acidic medium (HCl 0.1 M)

димость и точность разработанной методики в обеих средах.

При определении содержания ТМД в экспериментальных образцах ЛФ средние значения восстановления находились в пределах 97.26–102.70 % в экспериментальных образцах твердых дисперсий и 96.99–101.30 % – в препаратах срав-

gratitude to the Mirpharm pharmaceutical company for providing samples of pharmaceutical substances.

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



**Рис. 3.** Калибровочный график для анализа в фосфатном буфере (pH 6.8 ± 0.05)  
**Fig. 3.** The calibration plot for analysis in phosphate buffer (pH 6.8 ± 0.05)

нения (см. табл. 5), что указывает на возможность применения разработанной методики для количественного определения ТМД в ЛФ.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разработана спектрофотометрическая методика количественного определения триметазидина дигидрохлорида при максимуме поглощения  $269 \pm 2$  нм с хорошей линейностью ( $R^2 = 0.999$ ) и диапазоном анализа 4.0–35.0 мкг/мл в кислой среде и 5.0–65.0 мкг/мл в щелочной среде. Валидация доказала специфичность, правильность и прецизионность методики. Предложенная спектрофотометрическая методика определения триметазидина дигидрохлорида может быть использована в ходе фармацевтической

разработки для оценки высвобождения действующего вещества в кислой и щелочной среде из таблеток и экспериментальных образцов с различными вспомогательными веществами.

**Благодарность.** Публикация осуществлена при поддержке Программы стратегического академического лидерства ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы» (Москва, Россия). Авторы выражают благодарность фармацевтической компании «Мир-Фарм» за предоставленные образцы фармацевтических субстанций.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Aksun M., Aksun S., Kestelli M. et al. The postoperative effects of use of trimetazidine before the coronary artery bypass graft surgery // Niger. J. Clin. Pract. 2019;22(7):997-1001. DOI: 10.4103/njcp.njcp\_587\_18.
2. Zhu M., Liu X., Zhang R. et al. Effectiveness of trimetazidine in patients with chronic heart failure stratified by the expression of soluble suppression of tumorigenicity-2 (sST2): A prospective cohort study // Adv. Ther. 2022;39(12):5514-5529. DOI: 10.1007/s12325-022-02315-x.
3. Акаторова Е.В. Триметазидин (обзор последних зарубежных публикаций) // Consilium Medicum. 2018;20(10):53-58. DOI: 10.26442/2075-1753\_2018.10.53-58.
4. Onay-Besikci A., Özkan S. Trimetazidine revisited: A comprehensive review of the pharmacological effects and analytical techniques for the determination of trimetazidine // Cardiovasc. Ther. 2008;26(2):147-165. DOI: 10.1111/j.1527-3466.2008.00043.
5. Qarah N., El-Maaiden Ez. Spectrophotometric/titrimetric drug analysis // R. Shukla, A. Kuznetsov, A. Ali (eds.). Drug Formulation Design. 2023. 328 p. DOI: 10.5772/intechopen.109364.
6. Murthy T.K., Sankar G.D., Srinivasa Rao Y. Visible spectrophotometric methods for the determination of trimetazidine dihydrochloride in pharmaceutical formulations // Indian Drugs. 2002; 39(4):230-233.
7. Issa Y.M., Abou-Attia F.M., Abdel-Gawad F.M., Abdel-Hamid S.M. Spectrophotometric determination of some pharmaceutical piperazine derivatives by charge-transfer and ion-pair complexation methods // Sci. Pharm. 2002;70(3):253-269. DOI: 10.3797/scipharm. aut-02-24.
8. Krishnamoorthy G., Ganesh M. Spectrophotometric determination of trimetazidine dihydrochloride in bulk and solid dosage forms // Indian J. Pharm. Sci. 2001;63:436-437.
9. Компантцева Е.В., Мартиросова Г.А., Цыбулина М.Г. Валидация методик количественного определения триметазидина дигидрохлорида в таблетках по 0,02 г // Вестник Воронежского государственного

## REFERENCES

1. Aksun M., Aksun S., Kestelli M. et al. The postoperative effects of use of trimetazidine before the coronary artery bypass graft surgery. *Niger. J. Clin. Pract.* 2019;22(7):997-1001. DOI: 10.4103/njcp.njcp\_587\_18.
2. Zhu M., Liu X., Zhang R. et al. Effectiveness of trimetazidine in patients with chronic heart failure stratified by the expression of soluble suppression of tumorigenicity-2 (sST2): A prospective cohort study. *Adv. Ther.* 2022;39(12):5514-5529. DOI: 10.1007/s12325-022-02315-x.
3. Akatova E.V. Trimetazidine (review of the latest foreign publications). *Consilium Medicum.* 2018;20(10):53-58. DOI: 10.26442/2075-1753\_2018.10.53-58. (In Russ.)
4. Onay-Besikci A., Özkan S. Trimetazidine revisited: A comprehensive review of the pharmacological effects and analytical techniques for the determination of trimetazidine. *Cardiovasc. Ther.* 2008;26(2):147-165. DOI: 10.1111/j.1527-3466.2008.00043.
5. Qarah N., El-Maaiden Ez. Spectrophotometric/titrimetric drug analysis. In *Shukla R., Kuznetsov A., Ali A.* (eds.). (2023). *Drug Formulation Design.* 328 p. DOI: 10.5772/intechopen.109364.
6. Murthy T.K., Sankar G.D., Srinivasa Rao Y. Visible spectrophotometric methods for the determination of trimetazidine dihydrochloride in pharmaceutical formulations // *Indian Drugs.* 2002; 39(4):230-233.
7. Issa Y.M., Abou-Attia F.M., Abdel-Gawad F.M., Abdel-Hamid S.M. Spectrophotometric determination of some pharmaceutical piperazine derivatives by charge-transfer and ion-pair complexation methods. *Sci. Pharm.* 2002;70(3):253-269. DOI: 10.3797/scipharm. aut-02-24.
8. Krishnamoorthy G., Ganesh M. Spectrophotometric determination of trimetazidine dihydrochloride in bulk and solid dosage forms. *Indian J. Pharm. Sci.* 2001;63:436-437.
9. Kompantseva E.V., Martirosova G.A., Tsibulina M.G. Validation of methods of quantitative definition of trimetazidine dihydrochloride tablets of 0,02 g. *Proceedings of Voronezh State University. Series: Chemistry. Biology. Pharmacy.* 2006;2:271-275. (In Russ.)

университета. Серия: Химия. Биология. Фармация. 2006;2:271-275.

10. Государственная Фармакопея РФ. XIV изд. М., 2018. Т. 1. URL: <https://docs.rucml.ru/feml/pharma/v14/vol1/> (дата обращения: 23.03.2023).

11. ICH Q2(R2) guideline on validation of analytical procedures. URL: [https://www.ema.europa.eu/documents/scientific-guideline/ich-guideline-q2r2-validation-analytical-procedures-step-2b\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/documents/scientific-guideline/ich-guideline-q2r2-validation-analytical-procedures-step-2b_en.pdf) (дата обращения: 07.02.2023).

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

**Альрухаиэ Раним** – аспирант кафедры общей фармацевтической и биомедицинской технологии Медицинского института ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы», Москва, Россия; кафедра аналитической и пищевой химии, факультет фармации, Университет Дамаска, Дамаск, Сирия. ORCID: оооо-0001-9651-2913.

**Суслина Светлана Николаевна** – д-р фармацевт. наук, доцент, заведующий кафедрой общей фармацевтической и биомедицинской технологии Медицинского института ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы», Москва, Россия. ORCID: оооо-0002-7333-2263.

10. State Pharmacopoeia of the Russian Federation. 14th ed. (2018). Moscow. Vol. 1. URL: <https://docs.rucml.ru/feml/pharma/v14/vol1/> (accessed 23.03.2023). (In Russ.)

11. ICH Q2(R2) guideline on validation of analytical procedures. URL: [https://www.ema.europa.eu/documents/scientific-guideline/ich-guideline-q2r2-validation-analytical-procedures-step-2b\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/documents/scientific-guideline/ich-guideline-q2r2-validation-analytical-procedures-step-2b_en.pdf) (accessed 07.02.2023).

## ABOUT THE AUTHORS

**Ranim Alrouhayyah** – Postgraduate Student, Department of General Pharmaceutical and Biomedical Technology, Medical Institute, Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russia; Department of Analytical and Food Chemistry, Faculty of Pharmacy, Damascus University, Damascus, Syria. ORCID: оооо-0001-9651-2913.

**Svetlana N. Suslina** – Dr. Sci. (Pharmaceut.), Associate Professor, Head, Department of General Pharmaceutical and Biomedical Technology, Medical Institute, Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russia. ORCID: оооо-0002-7333-2263.

## Влияние CD4<sup>+</sup> клеточной популяции и противотуберкулезной терапии на клиренс коронавируса SARS-CoV-2 у пациентов с инфекционным заболеванием COVID-19 в сочетании с туберкулезом

И.Я. Цеймах<sup>1</sup>, А.П. Семитко<sup>1,2</sup>, Д.Е. Богачев<sup>1</sup>, Я.А. Даулетова<sup>1</sup>, А.А. Шмакова<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава России, Барнаул, Россия

<sup>2</sup> КГБУЗ «Алтайский краевой противотуберкулезный диспансер», Барнаул, Россия

### АННОТАЦИЯ

Введение. Пандемия коронавирусной инфекционной болезни (COVID-19) побудила к изучению проблем сочетанной патологии, включающих коморбидные широко распространенные и высоко патогенные инфекционные заболевания. Туберкулез продолжает оставаться социально и эпидемиологически значимым инфекционным заболеванием, способным оказывать негативное влияние на исходы у больных с сочетанной инфекцией COVID-19, в том числе из-за недостаточно изученного сопряжения патогенетических механизмов этих инфекционных заболеваний. Изучение факторов риска неблагоприятных исходов сочетанной инфекции туберкулеза и COVID-19 позволит улучшить управление этими болезнями.

Цель. Оценить влияние изменений популяций иммунокомпетентных клеток, специфических методов лечения на клиренс коронавируса SARS-CoV-2 в дыхательных путях больных COVID-19 в сочетании с туберкулезом.

Материалы и методы. В ретроспективном когортном клиническом исследовании проанализированы клинические характеристики и длительность элиминации коронавируса (SARS-CoV-2) из дыхательных путей у 76 госпитализированных пациентов с COVID-19 в сочетании с активным туберкулезом. В первую группу были включены 37 пациентов с COVID-19 в сочетании с активным туберкулезом органов дыхания или внелегочным туберкулезом без признаков лимфогенного или гематогенного распространения инфекции (ТБ ОД/ВЛ). Во вторую группу вошли 39 больных с COVID-19 в сочетании с диссеминированным туберкулезом (ДТБ).

Результаты. При построении моделей множественной регрессии уровень CD4<sup>+</sup> клеток менее 80 в 1 мкл был наиболее сильной детерминантой задержки элиминации SARS-CoV-2 из дыхательных путей с коэффициентом регрессии ( $\beta \pm m$ )  $21.762 \pm 6.250$  ( $p = 0.002$ ) и  $10.853 \pm 4.220$  ( $p = 0.015$ ) соответственно в первой и второй группах. В комплексе с длительностью противотуберкулезной терапии, проведением антиретровирусной терапии, анемией, содержанием тромбоцитов в крови эти факторы позволили прогнозировать 68.1 % значений дисперсии длительности элиминации SARS-CoV-2 из дыхательных путей больных с ТБ ОД/ВЛ и 42.7 % значений дисперсии этого показателя при сочетании с ДТБ.

Заключение. Снижение популяции CD4<sup>+</sup> менее 80 кл./мкл, длительность интенсивной фазы противотуберкулезной терапии, проведение антиретровирусной терапии, анемия, количество тромбоцитов периферической крови оказывают комплексное влияние на удлинение сроков элиминации вируса SARS-CoV-2 из дыхательных путей больных COVID-19 в сочетании с туберкулезом.

**Ключевые слова:** COVID-19, клиренс коронавируса SARS-CoV-2, туберкулез, CD4<sup>+</sup> лимфоциты, противотуберкулезная терапия.

**Образец цитирования:** Цеймах И.Я., Семитко А.П., Богачев Д.Е., Даулетова Я.А., Шмакова А.А. Влияние CD4<sup>+</sup> клеточной популяции и противотуберкулезной терапии на клиренс коронавируса SARS-CoV-2 у пациентов с инфекционным заболеванием COVID-19 в сочетании с туберкулезом // Journal of Siberian Medical Sciences. 2024;8(1):75-87. DOI: 10.31549/2542-1174-2024-8-1-75-87

Поступила в редакцию 06.07.2023  
Прошла рецензирование 18.12.2023  
Принята к публикации 12.01.2024

Автор, ответственный за переписку  
Цеймах Ирина Яковлевна: ФГБОУ ВО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава России. 656038, г. Барнаул, просп. Ленина, 40.  
E-mail: irintsei@mail.ru

Received 06.07.2023  
Revised 18.12.2023  
Accepted 12.01.2024

Corresponding author  
Irina Ya. Tseymakh: Altai State Medical University, 40, Lenina prosp., Barnaul, 656038, Russia.  
E-mail: irintsei@mail.ru

# The effect of the CD4<sup>+</sup> T cell subset and anti-tubercular therapy on SARS-CoV-2 clearance in patients with COVID-19 and tuberculosis co-infection

I.Ya. Tseymakh<sup>1</sup>, A.P. Semitko<sup>1,2</sup>, D.E. Bogachev<sup>1</sup>, Ya.A. Dauletova<sup>1</sup>, A.A. Shmakova<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Altai State Medical University, Barnaul, Russia

<sup>2</sup>Altai Regional Tuberculosis Dispensary, Barnaul, Russia

## ABSTRACT

**I n t r o d u c t i o n .** The coronavirus disease (COVID-19) pandemic has prompted the study of problems of comorbidities, including widespread and highly pathogenic comorbid infectious diseases. Tuberculosis continues to be major infectious disease in terms of social life and epidemiology that can have a negative impact on the outcomes of patients with COVID-19 and other infectious diseases, including because of the association of pathogenetic mechanisms of these infectious diseases is still unclear. The study of risk factors for adverse outcomes of tuberculosis and COVID-19 co-infection will improve managing these diseases.

**A i m .** To evaluate the impact of changes in immunocompetent cell subsets and specific treatment regimens on SARS-CoV-2 clearance in the respiratory tract of patients with COVID-19 and tuberculosis co-infection.

**M a t e r i a l s a n d m e t h o d s .** In a retrospective cohort clinical study we have analyzed the clinical characteristics and duration of elimination of coronavirus (SARS-CoV-2) from the respiratory tract of 76 hospitalized patients with COVID-19 and active tuberculosis. The first group included 37 patients with COVID-19 and active pulmonary or extrapulmonary tuberculosis without signs of lymphogenous or hematogenous spread of *Mycobacterium tuberculosis* infection (TB P/EP). The second group included 39 patients with COVID-19 and disseminated tuberculosis (DTB).

**R e s u l t s .** When constructing multiple regression models, the CD4<sup>+</sup> count less than 80 cells/ $\mu$ l was the strongest determinant of delayed elimination of SARS-CoV-2 from the respiratory tract with a regression coefficient ( $\beta \pm m$ ) of  $21.762 \pm 6.250$  ( $p = 0.002$ ) and  $10.853 \pm 4.220$  ( $p = 0.015$ ) in the first and second groups, respectively. In combination with the duration of anti-tubercular therapy, antiretroviral therapy, anemia, and platelet count, these factors made it possible to predict a 68.1% variances in the duration of elimination of SARS-CoV-2 from the respiratory tract of patients with TB P/EP, and a 42.7% variances of this indicator in patient with COVID-19 and DTB co-infection.

**C o n c l u s i o n .** A decrease in the CD4<sup>+</sup> count less than 80 cells/ $\mu$ l, the duration of the intensive phase of anti-tubercular therapy, antiretroviral therapy, anemia, peripheral blood platelet count have a comprehensive impact on prolongation of SARS-CoV-2 elimination from the respiratory tract of patients with COVID-19 and tuberculosis co-infection.

**Keywords:** COVID-19, SARS-CoV-2 clearance, tuberculosis, CD4<sup>+</sup> lymphocytes, anti-tuberculosis therapy.

**Citation example:** Tseymakh I.Ya., Semitko A.P., Bogachev D.E., Dauletova Ya.A., Shmakova A.A. The effect of the CD4<sup>+</sup> T cell subset and anti-tubercular therapy on SARS-CoV-2 clearance in patients with COVID-19 and tuberculosis co-infection. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2024;8(1):75-87. DOI: 10.31549/2542-1174-2024-8-1-75-87

## ВВЕДЕНИЕ

Пандемия коронавирусной инфекционной болезни (COVID-19), вызванная ассоциированным с тяжелым острым респираторным синдромом коронавирусом 2-го типа (SARS-CoV-2), характеризуется вовлечением пациентов с широким спектром хронических инфекционных заболеваний, значительно варьирующих в различных регионах мира [1–3]. Туберкулез относится к заболеваниям социально значимым и относительно распространенным среди пациентов с COVID-19, достигая удельного веса 4.5 % у этой категории пациентов. Систематические обзоры и мета-анализы наблюдатель-

## INTRODUCTION

The coronavirus disease (COVID-19) pandemic caused by type 2 coronavirus (SARS-CoV-2), associated with the severe acute respiratory syndrome, is characterized by the involvement of patients with a wide range of chronic infectious diseases, which vary significantly in different regions of the world [1–3]. Tuberculosis is a major and relatively common disease among patients with COVID-19 reaching a proportion of 4.5% in this group of patients. Systematic reviews and meta-analyses of observational studies have led to conclusions about an increased risk of severe course and death in patients with COVID-19 and tuberculosis co-infection. The importance of

ных исследований позволили сделать выводы об увеличении рисков тяжелого течения и смерти у пациентов с сочетанием COVID-19 и туберкулеза. Значение активного туберкулеза как фактора риска неблагоприятных исходов COVID-19 подтверждено в многоцентровых исследованиях, включавших российские когорты пациентов и госпитализированных больных, в странах с высоким распространением туберкулеза и ВИЧ-инфекции. Полученные данные указывают на негативное влияние ВИЧ-инфекции и сочетания ее с туберкулезом на риски осложнений, смерти у пациентов с коинфекцией COVID-19.

Ряд экспериментальных исследований взаимодействия *Mycobacterium (M.) tuberculosis* (МБТ) и коронавируса SARS-CoV-2, данные клинических исследований и знания фундаментальных механизмов туберкулезной инфекции позволяют выделить потенциальные аддитивные механизмы развития этих инфекций, включающие нарушение Th1-опосредованного иммунного ответа в результате изменения структуры и функциональной активности популяций CD4<sup>+</sup> лимфоцитов, нарушения регуляции фагоцитарной активности клеток, стимулирования экспрессии рецепторов к ангиотензин-конвертирующему ферменту типа 2 (ACE2) при активации характерного для туберкулеза регулируемого  $\gamma$ -интерфероном Th1-типа иммунного ответа [4, 5]. Вышеперечисленные механизмы позволяют в настоящее время рассматривать туберкулез и COVID-19 как коинфекцию с общими для обоих заболеваний ключевыми звенями патогенеза.

Изучение предикторов неблагоприятного исхода коинфекции туберкулеза и COVID-19, поиск путей единого управления патогенетическими механизмами этих заболеваний является важной и недостаточно освещенной в современной литературе проблемой.

## ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Определить роль иммунокомпетентных клеток, специфической противоинфекционной и патогенетической терапии в комплексном влиянии на клиренс коронавируса SARS-CoV-2 в дыхательных путях больных с COVID-19 в сочетании с туберкулезом.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В ретроспективном когортном клиническом исследовании с использованием метода «случай – контроль» проанализированы особенности клинического течения и продолжительность

активной туберкулеза как риска для неблагоприятных исходов COVID-19 подтверждено в многоцентровых исследованиях, включавших российские когорты пациентов и госпитализированных больных, в странах с высоким распространением туберкулеза и ВИЧ-инфекции. Полученные данные указывают на негативное влияние ВИЧ-инфекции и сочетания ее с туберкулезом на риски осложнений, смерти у пациентов с коинфекцией COVID-19.

Several experimental studies of the interaction of *Mycobacterium (M.) tuberculosis* (MTB) and SARS-CoV-2, data of clinical trials and knowledge of the essential mechanisms of tuberculosis allow to identify potential additive mechanisms for the development of these infections, including disorders of the Th1-mediated immune response because of changes in the structure and functional activity of CD4<sup>+</sup> T cell subsets, deregulated phagocytic cell activity, promoting the expression of angiotensin-converting enzyme 2 receptors (ACE2) during activation of the characteristic of tuberculosis Th1 immune response regulated by  $\gamma$ -interferon [4, 5]. The abovementioned mechanisms allow to currently consider tuberculosis and COVID-19 as a co-infection with key pathogenesis elements common to both diseases.

The study of predictors of an unfavorable outcome of tuberculosis and COVID-19 co-infection, the search for ways to unified control of the pathogenetic mechanisms of these diseases, is an important and insufficiently covered problem in modern literature.

## AIM OF THE RESEARCH

To evaluate the role of CD4<sup>+</sup> T cells, specific anti-infective and pathogenetic therapies, in their comprehensive impact on SARS-CoV-2 clearance in the respiratory tract of patients with COVID-19 and tuberculosis co-infection.

## MATERIALS AND METHODS

A retrospective clinical case-control study was conducted. The features of the clinical course and the duration of achieving negative SARS-CoV-2 tests (elimination, clearance) in the respiratory tract in hospitalized patients with active tuberculosis were analyzed. The publication of the results obtained was approved by the Ethics Committee of the Altai State Medical University (No. 6 dated June 28, 2023). The data of medical records of 76 tuberculosis patients aged  $\geq 18$  years who were hospitalized in the Altai Regional Tuberculosis Dispensary between October 2021 and March 2022 and had COVID-19 at the dispensary were evaluated. The diagnosis of tuberculosis was made under the clinical guidelines approved in the Russian Federation, including microscopy,

периода достижения отрицательного результата выделения РНК коронавируса SARS-CoV-2 (периода элиминации, клиренса) в дыхательных путях у госпитализированных пациентов с активным туберкулезом. Публикация материалов исследования одобрена Комитетом по этике при Алтайском государственном медицинском университете (протокол № 6 от 28 июня 2023 г.). Проведена оценка данных медицинских карт 76 больных туберкулезом в возрасте  $\geq 18$  лет, госпитализированных в Алтайский краевой противотуберкулезной диспансер в период с октября 2021 г. по март 2022 г. и перенесших в этот период инфекционное заболевание COVID-19. Диагностика туберкулеза осуществлялась в соответствии с утвержденными в Российской Федерации клиническими рекомендациями, включала микроскопические методы исследования, молекулярно-генетический анализ Xpert MTB/RIF, культуральные методы верификации *M. tuberculosis* в мокроте и других биологических образцах [6]. Диагноз коронавирусной болезни (COVID-19) подтверждался на основании выделения в мазках из носоглотки больных РНК коронавируса SARS-CoV-2 молекулярно-генетическим методом. Оценивались, помимо общих клинических исследований, результаты клинических анализов крови, полученные в течение первых суток от момента первичного выявления коронавируса и в течение не более 7 дней после прекращения выделения коронавируса из дыхательных путей больных туберкулезом; данные тестирования на ВИЧ-инфекцию у пациентов в период госпитализации или в анамнезе, уровень CD4 $^{+}$  клеток периферической крови у ВИЧ-инфицированных пациентов. В связи с неполным объемом данных об уровне РНК ВИЧ в крови у пациентов с сопутствующей ВИЧ-инфекцией, этот показатель в исследовании не оценивался. Критерием исключения был летальный исход в течение первых 7 дней после установления диагноза COVID-19. Больные были стратифицированы в две группы: в первую включены 37 пациентов с COVID-19 в сочетании с активным туберкулезом органов дыхания или внелегочным туберкулезом без признаков лимфогенного и (или) гематогенного распространения инфекции (ТБ ОД/ВЛ), во вторую группу вошли 39 больных с COVID-19 в сочетании с диссеминированным туберкулезом (ДТБ). Разделение больных в зависимости от стадии распространения туберкулезной инфекции с выделением группы больных с легочной лимфогенной и гематогенной диссеминацией (диссеминированным туберкулезом) проводилось с учес-

molecular genetic Xpert MTB/RIF assay, culture method of *M. tuberculosis* detection in sputum and other biological samples [6]. The diagnosis of coronavirus disease (COVID-19) was confirmed based on the detection of SARS-CoV-2 RNA in nasopharyngeal swabs of patients by molecular genetic analysis. Besides routine clinical investigation, the results of blood tests obtained during the first day from the moment of initial detection of coronavirus and within  $\leq 7$  days after viral clearance in the respiratory tract of tuberculosis patients, as well as HIV testing results in patients during hospitalization or in a history, peripheral blood CD4 $^{+}$  count in HIV-infected patients were evaluated. Because of incomplete data on the level of HIV RNA blood load of patients with HIV co-infection, this indicator was not evaluated in the study. The exclusion criterion was a fatal outcome within the first 7 days after the diagnosis of COVID-19. The patients were divided into two groups: the first included 37 patients with COVID-19 and active pulmonary or extrapulmonary tuberculosis without signs of lymphogenous and (or) hematogenous spread of infection (TB P/EP); the second group included 39 patients with COVID-19 and disseminated tuberculosis (DTB). Dividing the patients depending on the stage of spread of tuberculosis infection with the assignment to a group of patients with pulmonary lymphogenous and hematogenous dissemination (disseminated tuberculosis) was carried out considering the relationship established by several authors between the various stages of spread of tubercular infection (pulmonary dissemination, extrapulmonary lymphogenous and hematogenous dissemination) and HIV status, as well as other causes of immunosuppression in tuberculosis patients [7, 8]. SARS-CoV-2 clearance (the time to achieve a negative SARS-CoV-2 RNA testing, determined in the number of days) in the respiratory tract of patients was considered as one of COVID-19 outcomes.

Statistical data processing was carried out using the SigmaPlot 14.0 software. Sample data are presented as a median, lower and upper quartiles – Me (Q1–Q3). Nonparametric methods were used to test the null hypothesis of the absence of differences between the samples. The Mann-Whitney test was used to compare two unrelated groups, and the Wilcoxon test was used to compare two related samples. The comparison of qualitative variables' frequency was performed using the chi-square test ( $\chi^2$ ). Multiple linear regression was used to assess the impact of several independent variables on a continuous dependent variable. The results of the evaluation of the strength of correlations, specificity and statistical

том установленной рядом авторов взаимосвязи между различными этапами генерализации туберкулезной инфекции (легочной диссеминации, внелегочной лимфогенной и гематогенной диссеминации) и ВИЧ-статусом, а также другими причинами иммуносупрессии у больных туберкулезом [7, 8]. Клиренс коронавируса SARS-CoV-2 (сроки достижения отрицательного результата определения РНК SARS-CoV-2, определяемые в количестве дней) в дыхательных путях пациентов оценивался как один из исходов COVID-19.

Статистическая обработка данных проводилась с помощью пакета статистических программ SigmaPlot 14.0. Выборочные данные представлены в виде медианы, нижнего и верхнего квартилей – Me (Q1–Q3). Непараметрические методы использовались для проверки нулевой гипотезы отсутствия различий между выборками. Применился критерий Манна – Уитни для сравнения двух несвязанных групп, критерий Вилкоксона – для сравнения двух связанных выборок. Сравнение частот качественных признаков проводилось с применением критерия хи-квадрат ( $\chi^2$ ). Множественный линейный регрессионный анализ применялся для оценки влияния нескольких независимых переменных на непрерывную зависимую переменную. Результаты оценки силы связи, специфичности и статистической значимости полученных уравнений регрессии представлялись соответственно в виде коэффициента множественной корреляции (R), коэффициента детерминации ( $R^2$ ), критерия Фишера (F). При проверке нулевой гипотезы критический уровень статистической значимости принимался равным 0.05.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Диагноз туберкулеза был установлен до первого определения РНК SARS-CoV-2 в дыхательных путях у 19 чел. (51.0 %) первой группы и 10 чел. (25.6 %;  $p = 0.041$ ) второй группы. В первой группе больных удельный вес пациентов, у которых туберкулез был выявлен после диагностики инфекционного заболевания COVID-19, был ниже, чем во второй группе, соответственно 18 чел. (49.0 %) и 29 чел. (74.4 %;  $p = 0.020$ ). Выявленные различия отражают проблему несвоевременного распознавания туберкулеза в период пандемии коронавирусной инфекции в России и во многих странах мира [1, 9].

В изучаемых группах больных преобладали мужчины, составившие в первой группе 33 чел. (89.2 %) и во второй группе 30 чел. (76.9 %;  $p = 0.263$ ). Пациентов в возрасте от 18 до 34 лет

significance of the regression equations obtained were presented, respectively, as the multiple correlation coefficient (R), the coefficient of determination ( $R^2$ ), and the Fisher distribution (F). When testing the null hypothesis, statistical significance was assumed to be 0.05.

## RESULTS

Tuberculosis was diagnosed before the first positive SARS-CoV-2 testing in the respiratory tract in 19 people (51.0%) of the first group and 10 people (25.6%;  $p = 0.041$ ) of the second group. In the first group, the proportion of patients in whom tuberculosis was detected after diagnosis of COVID-19 was lower than in the second group: 18 (49.0%) and 29 people (74.4%;  $p = 0.020$ ), respectively. The revealed differences reflect the problem of delayed diagnostics of tuberculosis during the coronavirus pandemic in Russia and in various countries of the world [1, 9].

The studied groups of patients were dominated by men: 33 people in the first group (89.2%) and 30 people in the second group (76.9%;  $p = 0.263$ ). Patients aged 18 to 34 years were 8 (21.6%) in the first group and 6 (15.4%;  $p = 0.688$ ) in the second group; aged 35 to 65 years – 23 (62.2 %) in the first group and 30 (76.9 %;  $p = 0.252$ ) in the second group; aged over 65 years – 6 (16.2 %) in the first group and 3 (7.7 %;  $p = 0.429$ ) in the second group. HIV infection was the most common comorbidity, with the same proportion in the studied groups – in the first group it was registered in 18 people (48.6%), and in the second group – in 23 people (59.0%;  $p = 0.497$ ). Anemia, defined as a decrease in hemoglobin below 110 g/l, was found in 14 patients (37.8%) of the first group and 22 people (56.4%;  $p = 0.163$ ) of the second group. Other concomitant diseases and conditions that occurred with the same frequency in both groups were alcohol dependence, parenteral drug abuse, body weight loss, type 2 diabetes mellitus, and chronic kidney disease. There were no differences in the proportion of patients with shedding of *M. tuberculosis* in the groups – 13 people (35.1%) in the first group and 20 people (51.3%;  $p = 0.233$ ) in the second group. When analyzing the clinical forms of the disease in the first group, pulmonary tuberculosis was diagnosed in fewer patients than in the second group – in 30 people (81.1%) and 39 people (100%;  $p = 0.014$ ), respectively. In the first group of patients, pulmonary tuberculosis had following forms: focal – in 1 person (2.7%), infiltrative – in 10 people (27.0%), caseous pneumonia – in 7 people (18.9%), cavernous and fibrous-cavernous – in 8 people (21.6%). These forms of pulmonary tuberculosis were absent in the second group, in which all

было 8 чел. (21.6 %) в первой группе и 6 чел. (15.4 %;  $p = 0.688$ ) во второй группе; в возрасте от 35 до 65 лет – 23 чел. (62.2 %) в первой группе и 30 чел. (76.9 %;  $p = 0.252$ ) во второй группе, в возрасте старше 65 лет – 6 чел. (16.2 %) в первой группе и 3 чел. (7.7 %;  $p = 0.429$ ) во второй группе. ВИЧ-инфекция явилась самой частой сочетанной патологией, с одинаковым удельным весом в изучаемых группах больных – в первой группе была у 18 чел. (48.6 %) и во второй группе – у 23 чел. (59.0 %;  $p = 0.497$ ). Анемия, определявшаяся как снижение уровня гемоглобина менее 110 г/л, наблюдалась у 14 пациентов (37.8 %) первой группы и 22 чел. (56.4 %;  $p = 0.163$ ) второй группы. Другими сопутствующими заболеваниями и состояниями, с одинаковой частотой встречавшимися в обеих группах больных, были алкоголизм, парентеральная наркомания, дефицит массы тела, сахарный диабет 2-го типа, хроническая болезнь почек. В группах отсутствовали различия по удельному весу больных с выделением *M. tuberculosis* – 13 чел. (35.1 %) в первой группе и 20 чел. (51.3 %;  $p = 0.233$ ) во второй группе. При анализе клинических форм заболевания в первой группе туберкулез органов дыхания выявлялся у меньшего количества пациентов, чем во второй группе, соответственно у 30 чел. (81.1 %) и у 39 чел. (100 %;  $p = 0.014$ ). В первой группе больных туберкулез органов дыхания протекал в формах: очаговой – у 1 чел. (2.7 %), инфильтративной – у 10 чел. (27.0 %), казеозной пневмонии – у 7 чел. (18.9 %), кавернозной и фиброзно-кавернозной – у 8 чел. (21.6 %). Эти формы туберкулеза органов дыхания отсутствовали во второй группе больных, в которой у всех 39 пациентов (100 %) наблюдался диссеминированный туберкулез легких. Туберкулез внутргрудных лимфоузлов был диагностирован у 4 чел. (10.8 %) в первой и 13 чел. (33.3 %;  $p = 0.038$ ) во второй группе. Туберкулезный плеврит определялся у 7 человек (18.9 %) первой группы и 9 чел. второй группы (23.1 %;  $p = 0.867$ ). При анализе форм туберкулеза других органов установлено, что костно-суставной туберкулез был у 9 чел. (24.4 %) первой группы и отсутствовал во второй группе ( $p = 0.003$ ). Во второй группе был диагностирован туберкулез внутренних органов (печень, селезенка, почки) у 2 чел. (5.1 %), периферических лимфоузлов – у 1 чел. (2.6 %), туберкулезный менингит – у 3 чел. (7.7 %); в первой группе больных вовлечение этих органов в туберкулезный процесс отсутствовало. Эти различия были обусловлены включением во вторую группу больных с симптомами прогрессирующего туберку-

39 patients (100%) had disseminated pulmonary tuberculosis. Tuberculosis of the intrathoracic lymph nodes was diagnosed in 4 people (10.8%) in the first group and 13 people (33.3%;  $p = 0.038$ ) in the second group. Tuberculous pleurisy was diagnosed in 7 people (18.9%) of the first group and 9 people of the second group (23.1%;  $p = 0.867$ ). When analyzing the forms of tuberculosis of other organs, we have found that osteoarticular tuberculosis was in 9 people (24.4%) of the first group and was not in the second group ( $p = 0.003$ ). In the second group, tuberculosis of the liver, spleen, kidneys was diagnosed in 2 people (5.1%), of peripheral lymph nodes – in 1 person (2.6%), tuberculous meningitis – in 3 people (7.7%); in the first group of patients, there was no involvement of these organs in the tuberculosis process. These differences were due to the inclusion of patients with symptoms of advanced tuberculosis with lymphogenous lymphatic and (or) hematogenous dissemination of MTB in the second group.

The immune status of patients in the first group differed from the second group of patients in a lower proportion of individuals with a decrease in CD4+ <80 cells/ $\mu$ l in peripheral blood: 1 (5.4%) and 12 people (30.8%;  $p = 0.011$ ), respectively. There were no differences in the proportion of patients with lymphopenia (<1000 cells/ $\mu$ l) between the first and second groups – 6 (16.2%) and 13 people (33.3%;  $p = 0.145$ ), respectively.

The duration of controlled anti-tuberculosis therapy before diagnosis of COVID-19 in tuberculosis patients was comparable, amounting to 35 (18–109) doses in the first group and 28 (11–56) doses of anti-tuberculosis drugs in the second group ( $p = 0.129$ ). Post hoc analysis revealed the use of anti-tuberculosis chemotherapy during the follow-up until the COVID-19 outcome in the regimen for drug-susceptible tuberculosis (RHZE) in 15 people (40.5%) of the first and 19 people (48.7%;  $p = 0.626$ ) of the second group; in the regimen for multidrug-resistant tuberculosis (MRT) – in 19 people (51.4 %) of the first and 18 people (46.2 %;  $p = 0.823$ ) of the second group; in the regimen for pre-extensive drug-resistant (pre-XDR) tuberculosis in 3 people (8.1 %) of the first and 2 (5.1 %;  $p = 0.949$ ) in the second group [6]. The first and second groups of patients did not differ in the proportion of patients receiving antiviral therapy for COVID-19 – 26 (70.3%) and 32 people (82.1%;  $p = 0.347$ ), respectively; favipiravir was used in all cases of antiviral therapy. Antiretroviral therapy was administered to 11 people (61.1%) of the first group and 17 people (73.9%;  $p = 0.623$ ) of the second group. A short regimen of treatment with systemic glucocorticosteroids (up to 14 days) was

леза с лимфогенной и (или) гематогенной диссеминацией МБТ.

Иммунный статус пациентов первой группы отличался от второй группы больных меньшим удельным весом лиц со снижением содержания CD4<sup>+</sup> лимфоцитов <80 кл./мкл в периферической крови, соответственно 1 (5.4 %) и 12 чел. (30.8 %;  $p = 0.011$ ). Различий в удельном весе больных с лимфопенией (<1000 кл./мкл) между первой и второй группами не было выявлено – соответственно 6 (16.2 %) и 13 чел. (33.3 %;  $p = 0.145$ ).

Длительность контролируемой противотуберкулезной терапии до диагностики коронавирусной инфекции (COVID-19) у больных туберкулезом была сопоставима, составив в первой группе больных 35 (18–109) доз и во второй группе 28 (11–56) доз противотуберкулезных препаратов ( $p = 0.129$ ). Постфактум анализ выявил применение противотуберкулезной химиотерапии в период наблюдения до достижения исхода COVID-19 в режиме для лекарственно-чувствительного туберкулеза (RHZE) у 15 чел. (40.5 %) первой и 19 чел. (48.7%;  $p = 0.626$ ) второй группы; в режиме туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ) МБТ – у 19 чел. (51.4 %) первой и 18 чел. (46.2 %;  $p = 0.823$ ) второй группы; в режиме туберкулеза с широкой лекарственной устойчивостью МБТ (пре-МЛУ) – у 3 чел. (8.1 %) первой и 2 (5.1 %;  $p = 0.949$ ) второй группы [6]. Первая и вторая группы больных не отличались по удельному весу пациентов, получавших противовирусную терапию инфекционного заболевания COVID-19 – соответственно 26 (70.3 %) и 32 чел. (82.1 %;  $p = 0.347$ ); во всех случаях противовирусной терапии применялся фавипиравир. Антиретровирусная терапия проводилась у 11 чел. (61.1 %) первой группы и 17 чел. (73.9 %;  $p = 0.623$ ) второй группы. Короткий курс лечения системными глюкокортикоидами (до 14 дней) получали 9 чел. (24.3 %) в первой группе и 12 чел. (30.8 %;  $p = 0.706$ ) во второй группе. Сопоставимое количество пациентов изучаемых групп получали антикоагулянтную терапию с применением профилактических доз нефракционированного гепарина, малопоточную кислородотерапию. В группах отсутствовали пациенты, нуждавшиеся в механической вентиляции легких. Хирургического лечения туберкулеза в обеих группах пациентов не проводилось.

В начале инфекционного заболевания COVID-19 показатели количества эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов, а также уровня гемоглобина в

received by 9 people (24.3%) in the first group and 12 people (30.8%;  $p = 0.706$ ) in the second group. A comparable number of patients in the studied groups were prescribed anticoagulant therapy using prophylactic doses of unfractionated heparin, low-flow oxygen therapy. There were no patients in the groups who needed mechanical ventilation. Surgical treatment of tuberculosis was not performed in both groups of patients.

At the beginning of COVID-19, such indicators as erythrocyte count, leukocyte count, platelet count, as well as the level of hemoglobin in peripheral blood were comparable in the studied groups of patients (Table 1). In the second group, there was a lower absolute lymphocyte count than in the first group. When the clinical outcome of COVID-19 was achieved in the form of cessation of SARS-CoV-2 shedding (viral clearance) in the respiratory tract, the indicators of anemia, leukocyte and lymphocyte counts, as well as platelet count in peripheral blood did not show significant changes in both groups of patients.

To determine the factors affecting the SARS-CoV-2 viral clearance in the respiratory tract of patients with tuberculosis and COVID-19 co-infection, multiple linear regression models were constructed for the first (TB P/EP) and second (DTB) groups separately. The most pronounced effect on the delay in elimination of SARS-CoV-2 from the respiratory tract in both groups of patients had the CD4<sup>+</sup> T lymphocyte count less than 80 cells/ $\mu$ l, at the same time, in the first group the regression coefficient  $\beta$  was higher than in the second group (Tables 2, 3). A statistically significant effect on slowing SARS-CoV-2 clearance in both groups was found for such predictors as a shorter duration of the intensive phase of anti-tuberculosis therapy preceding COVID-19, in the first group – for an increase in platelet count. Thus, a significant strong relationship (multiple linear correlation coefficient  $R = 0.825$ ) was shown between a decrease in CD4<sup>+</sup> lymphocyte count less than 80 cells/ $\mu$ l, anemia, platelet count, the duration of intensive phase of anti-tuberculosis therapy, antiretroviral therapy in HIV-infected patients and delayed elimination of SARS-CoV-2 from the respiratory tract of patients of the first group. These determinants make it possible to predict a 68.1% variance in the clearance of SARS-CoV-2 in the respiratory tract of patients with TB P/EP and COVID-19 co-infection (Table 2).

The degree of the cause-effect relationship of the abovementioned determinants with the clearance of SARS-CoV-2 in the respiratory tract of patients in the second group was estimated as significant of moderate strength (multiple linear correlation coef-

**Таблица 1.** Сравнительный анализ динамики гематологических показателей при диагностике COVID-19 и при достижении элиминации коронавируса из дыхательных путей в группах больных туберкулезом, Me (Q1–Q3)  
**Table 1.** The comparative analysis of the dynamics of hematological parameters in the diagnosis of COVID-19 and in achieving the elimination of coronavirus from the respiratory tract in groups of tuberculosis patients, Me (Q1–Q3)

Показатель Parameter	При диагностике COVID-19 When diagnosing COVID-19	При элиминации коронавируса On coronavirus elimination	p
<i>Первая группа больных (ТБ ОД/ВЛ) / The first group (TB P/EP)</i>			
Эритроциты ( $\times 10^{12}/\text{л}$ )   Erythrocytes ( $\times 10^{12}/\text{l}$ )	4.070 (3.650–4.630)	4.030 (3.145–4.555)	0.546
Hb (г/л)   (g/l)	113.000 (97.500–133.500)	107.000 (82.500–133.000)	0.198
Тромбоциты ( $\times 10^9/\text{л}$ )   Platelets ( $\times 10^9/\text{l}$ )	230.000 (134.000–313.500)	258.000 (192.500–333.500)	0.344
Лейкоциты ( $\times 10^9/\text{л}$ )   Leukocytes ( $\times 10^9/\text{l}$ )	6.700 (4.600–9.400)	7.200 (5.400–11.200)	0.222
Лимфоциты ( $\times 10^9/\text{л}$ )   Lymphocytes ( $\times 10^9/\text{l}$ )	1.900 (1.350–2.700)	2.300 (1.650–2.850)	0.249
<i>Вторая группа больных (ДТБ) / The second group (DTB)</i>			
Эритроциты ( $\times 10^{12}/\text{л}$ )   Erythrocytes ( $\times 10^{12}/\text{l}$ )	3.980 (3.310–4.600)	3.850 (3.090–4.460)	0.444
Hb (г/л)   (g/l)	107.000 (94.000–132.000)	105.000 (86.000–125.000)	0.257
Тромбоциты ( $\times 10^9/\text{л}$ )   Platelets ( $\times 10^9/\text{l}$ )	250.000 (140.000–323.000)	219.000 (162.000–343.000)	0.795
Лейкоциты ( $\times 10^9/\text{л}$ )   Leukocytes ( $\times 10^9/\text{l}$ )	6.700 (3.900–9.200)	7.300 (4.700–10.200)	0.228
Лимфоциты ( $\times 10^9/\text{л}$ )   Lymphocytes ( $\times 10^9/\text{l}$ )	1.200 (0.800–1.700) <sup>1</sup>	1.500 (0.900–1.800) <sup>2</sup>	0.307

П р и м е ч а н и я : <sup>1</sup>Статистическая значимость различий между первой и второй группой при диагностике инфекционного заболевания COVID-19,  $p < 0.001$ .

<sup>2</sup>Статистическая значимость различий между первой и второй группой в начале инфекционного заболевания COVID-19,  $p < 0.001$ .  
 ТБ ОД/ВЛ – туберкулез органов дыхания или внелегочный туберкулез; ДТБ – диссеминированный туберкулез.

N o t e s : <sup>1</sup>Significant differences between the first and second groups in the diagnosis of COVID-19,  $p < 0.001$ .

<sup>2</sup>Significant differences between the first and second groups at the beginning of COVID-19,  $p < 0.001$ .

ТВ Р/EP – туберкулез легких/внелегочный туберкулез; ДТБ – диссеминированный туберкулез.

периферической крови были сопоставимы в изучаемых группах больных (табл. 1). Во второй группе наблюдалось более низкое абсолютное количество лимфоцитов, чем в первой группе пациентов. При достижении клинического исхода инфекционного заболевания COVID-19 в виде прекращения выделения вируса SARS-CoV-2 в дыхательных путях (элиминации) показатели анемии, количество лейкоцитов и лимфоцитов, а также тромбоцитов в периферической крови не претерпевали значимых изменений в обеих группах больных.

Для определения факторов, влияющих на клиренс коронавируса SARS-CoV-2 в дыхательных путях больных туберкулезом с коинфекцией COVID-19, были построены модели множественной линейной регрессии отдельно для первой (ТБ ОД/ВЛ) и второй (ДТБ) групп больных. Наиболее выраженное влияние на задержку элиминации из дыхательных путей коронавируса в обеих группах больных оказывал уровень CD4<sup>+</sup> лимфоцитов менее 80 кл./мкл, при этом в первой группе коэффициент регрессии  $\beta$  был более высоким, чем во второй группе (табл. 2, 3). Статистически значимое влияние на замедление клиренса коронавируса в обеих изучаемых группах установлено для таких предикторов, как меньшая продолжительность предшествовавшей

феномен R = 0.653), and explaining a 42.7% variance of the SARS-CoV-2 clearance (Table 3).

Including antiviral therapy with favipiravir and a short regimen of therapy with systemic glucocorticosteroid in regression models for both groups of patients was not associated with an increase in the strength of cause-effect relationships with the studied outcome of coronavirus infection in tuberculosis patients, regardless of the presence of criteria for the lymphotogenous and hematogenous spread of MTB.

## DISCUSSION

Based on the purpose of this study and taking into account the possible influence of the lymphotogenous and hematogenous spread of *M. tuberculosis* on the suppression of the immune response, the level of the ACE2 protein expression on the vascular endothelium, shown in a number of experimental and clinical studies, we have stratified tuberculosis patients depending on the signs of various stages of lymphotogenous and hematogenous spread of MTB [4, 5].

In our study, in the group of patients with DTB, the proportion of HIV-infected people was comparable to the same indicator in the group of patients with TB P/EP. However, among patients with DTB, the frequency of a decrease in CD4<sup>+</sup> lymphocytes <80 cells/ $\mu\text{l}$  before the onset of COVID-19 was higher

**Таблица 2.** Модель множественной линейной регрессии для оценки факторов, влияющих на удлинение сроков достижения отрицательного результата выделения РНК вируса SARS-CoV-2 в дыхательных путях больных туберкулезом органов дыхания или внелегочным туберкулезом с коинфекцией COVID-19

**Table 2.** A multiple linear regression model for evaluating factors influencing the prolongation of the time to achieve negative results of SARS-CoV-2 RNA testing in the respiratory tract of patients with pulmonary or extrapulmonary tuberculosis and COVID-19 co-infection

Показатель / Indicator	$\beta \pm m$	<i>p</i> Вальда / <i>p</i> Wald
CD4 <sup>+</sup> клетки < 80 кл./мкл   CD4 <sup>+</sup> < 80 cells/ $\mu$ l	21.762 $\pm$ 6.250	<b>0.002</b>
Анемия (Hb < 110 г/л)   Anemia (Hb < 110 g/l)	1.426 $\pm$ 2.840	0.619
Тромбоциты, $\times 10^9$ /л   Platelets, $\times 10^9$ /l	0.0352 $\pm$ 0.0106	<b>0.002</b>
Длительность противотуберкулезной терапии, количество доз Duration of anti-tuberculosis therapy, number of doses	0.139 $\pm$ 0.0379	<b>&lt;0001</b>
Проведение антиретровирусной терапии / Antiretroviral therapy	4.839 $\pm$ 3.209	0.142
Константа / Constant	1.397 $\pm$ 3.645	0.704
<i>R</i> = 0.825; коэффициент детерминации / coefficient of determination <i>R</i> <sup>2</sup> = 0.681; <i>F</i> = 10.332; <i>p</i> $\leq$ 0.001		

COVID-19 интенсивной фазы противотуберкулезной терапии, в первой группе – для увеличения количества тромбоцитов. Таким образом, показана значимая причинно-следственная сильная связь (множественный коэффициент линейной корреляции *R* = 0.825) между снижением CD4<sup>+</sup> лимфоцитов менее 80 кл./мкл, наличием анемии, количеством тромбоцитов, длительностью интенсивной фазы противотуберкулезной терапии, проведением антиретровирусной терапии у ВИЧ-инфицированных пациентов и задержкой элиминации коронавируса SARS-CoV-2 из дыхательных путей больных первой группы. Указанные детерминанты позволяют прогнозировать 68.1 % вариации (дисперсии) клиренса коронавируса SARS-CoV-2 в дыхательных путях пациентов с ТБ ОД/ВЛ и коинфекцией COVID-19 (см. табл. 2).

Степень причинно-следственной связи вышеуказанных детерминант с клиренсом коронавируса SARS-CoV-2 из дыхательных путей больных второй группы оценена как значимая умеренной силы (множественный коэффициент линейной корреляции *R* = 0.653), объясняющая 42.7 % значений вариации клиренса коронавируса (см. табл. 3).

Включение в модели регрессии в качестве факторов влияния противовирусной терапии с применением фавипиравира, короткого курса терапии системными глюкокортикоидами для обеих групп пациентов не ассоциировалось с увеличением силы причинно-следственных связей с изучаемым исходом коронавирусной инфекции у больных туберкулезом, независимо от присутствия критерии лимфогематогенного распространения МБТ.

than in the group of patients with TB P/EP. It should be noted that the Centers for Disease Control and Prevention (CDC) in the United States and several other regions recommend considering a decrease in CD4<sup>+</sup> population of less than 200 cells/ $\mu$ l as an indicator of deuteropathy stage of HIV infection (AIDS) [7]. The data obtained are consistent with the conclusions of researchers that the mechanisms and stages of spread of tuberculosis, its clinical forms are determined by the initial level of CD4<sup>+</sup> lymphocytes at the time of tuberculosis diagnosis [7, 8]. With this, the possibility and type of spread of tuberculosis (lymphogenous, hematogenous) are due to the severity of secondary immunodeficiency of various etiologies, among which, an important role belongs not only to HIV infection, but also to poor nutritional status, alcohol abuse and other factors associated with an antisocial lifestyle.

Our study showed the leading role of the degree of the CD4<sup>+</sup> cell blood subset reduction for predicting delayed elimination of SARS-CoV-2 from the respiratory tract. A cause-effect relationship between the CD4<sup>+</sup> lymphocyte count decrease, primarily, the number of circulating naive CD4<sup>+</sup> T lymphocytes, and delayed SARS-CoV-2 clearance in COVID-19 patients, including those with tuberculosis co-infection, was also shown by a number of authors in observational studies [10, 11]. The researchers drew attention to the association of SARS-CoV-2 prolonged clearance time in patients with a more severe course of COVID-19, immunopathological disorders associated with the virus replication and causing long-term lung tissue damage.

It is necessary to point out that in our study, the significant role of the duration of the intensive phase of anti-tuberculosis therapy, preceding

**Таблица 3.** Модель множественной линейной регрессии для оценки факторов, влияющих на удлинение сроков достижения отрицательного результата выделения РНК SARS-CoV-2 в дыхательных путях больных диссеминированным туберкулезом с коинфекцией COVID-19

**Table 3.** A multiple linear regression model for evaluating factors influencing the prolongation of the time to achieve negative results of SARS-CoV-2 RNA testing in the respiratory tract of patients with disseminated tuberculosis and COVID-19 co-infection

Показатель	$\beta \pm m$	<i>p</i> Вальда
CD4 <sup>+</sup> клетки <80 кл./мкл   CD4 <sup>+</sup> < 80 cells/ $\mu$ l	10.853 $\pm$ 4.220	<b>0.015</b>
Анемия (Hb < 110 г/л)   Anemia (Hb < 110 g/l)	4.251 $\pm$ 4.034	0.300
Тромбоциты, $\times 10^9$ /л   Platelets, $\times 10^9$ /l	0.0165 $\pm$ 0.0137	0.239
Длительность противотуберкулезной терапии, количество доз Duration of anti-tuberculosis therapy, number of doses	0.130 $\pm$ 0.0554	<b>0.025</b>
Проведение антиретровирусной терапии / Antiretroviral therapy	4.802 $\pm$ 3.806	0.216
Константа / Constant		
R = 0.653; коэффициент детерминации / coefficient of determination R <sup>2</sup> = 0.427; F = 4.482; p = 0.002		

## ОБСУЖДЕНИЕ

Исходя из цели настоящего исследования и учитывая возможное влияние лимфогенного и гематогенного распространения *M. tuberculosis* на подавление иммунного ответа, степень экспрессии белка ACE2 на эндотелии сосудов, отмечаемое в ряде экспериментальных и клинических исследований, нами была проведена стратификация больных туберкулезом в зависимости от признаков различных этапов лимфогематогенного распространения МБТ [4, 5].

В проведенном ретроспективном когортном исследовании в группе больных с ДТБ удельный вес ВИЧ-инфицированных был сопоставим с аналогичным показателем в группе больных с ТБ ОД/ВЛ. Однако среди больных с ДТБ частота снижения CD4-позитивных лимфоцитов < 80 кл./мкл до возникновения COVID-19 была выше, чем в группе пациентов с ТБ ОД/ВЛ. Необходимо отметить, что Центр по контролю и профилактике заболеваний в США и ряде других регионов (Centers for Disease Control and Prevention, CDC) рекомендует рассматривать снижение CD4<sup>+</sup> популяции менее 200 кл./мкл как индикатор стадии вторичных заболеваний при ВИЧ-инфекции (СПИД) [7]. Полученные данные согласуются с выводами исследователей о том, что механизмы и этапы генерализации туберкулеза, его клинические формы обусловлены исходным уровнем CD4<sup>+</sup> лимфоцитов на момент выявления туберкулеза [7, 8]. При этом возможность и тип генерализации туберкулеза (лимфогенный, гематогенный) обусловлены тяжестью вторичного иммунодефицита различной этиологии, среди которой важная роль принадлежит не только ВИЧ-инфекции, но и низ-

COVID-19 co-infection, in the timing of SARS-CoV-2 elimination from the respiratory tract, was demonstrated. The limitation of our study was a large proportion of patients with drug-resistant tuberculosis (>50% of MRT and pre-XDR TB patients) in both groups of patients with tuberculosis and COVID-19 co-infection with a relatively short duration of intensive anti-tuberculosis therapy preceding the development of COVID-19 (less than 3 months in the group of tuberculosis patients without signs of MBT infection spread, less than 2 months in the group of patients with DTB). The systematic reviews reveal ambiguous results in assessing the significance of differences in the risks of severe COVID-19 and death of patients depending on concomitant active or previously treated tuberculosis [12, 13]. Publications by researchers from Russia, South Africa and the Philippines suggest that active tuberculosis is associated with an increased risk of COVID-19 mortality. Aggarwal et al. (2021) in a systematic review that included 43 studies, showed a higher risk of mortality and severe COVID-19 disease in outpatients with the concomitant active pulmonary tuberculosis, but not in hospitalized patients receiving anti-tuberculosis therapy [1]. The results of this systematic review suggest the importance of guided anti-tuberculosis therapy in improving the outcomes of COVID-19 in patients with active tuberculosis. To obtain more complete data, further studies are needed on the impact of active tuberculosis and appropriately controlled anti-tuberculosis therapy on the immune response and clearance of highly pathogenic coronaviruses depending on the presence and type of drug resistance of *M. tuberculosis*, combined with HIV infection and antiretroviral therapy.

кому нутритивному статусу, алкоголизму и другим, связанным с асоциальным образом жизни, факторам.

В нашем исследовании продемонстрирована ведущая роль степени снижения популяции CD4<sup>+</sup> клеток в прогнозировании задержки элиминации коронавируса SARS-CoV-2 из дыхательных путей. Рядом авторов в наблюдательных исследованиях также отмечалась причинно-следственная связь между снижением содержания в крови CD4<sup>+</sup> лимфоцитов, прежде всего количества циркулирующих наивных CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитов, и замедлением клиренса коронавируса у больных с COVID-19, в том числе с туберкулезной коинфекцией [10, 11]. Исследователи обращали внимание на ассоциацию более длительных сроков элиминации коронавируса SARS-CoV-2 у больных с более тяжелым течением COVID-19, иммунопатологическими расстройствами, связанными с репликацией вируса и обусловливающими длительное повреждение тканей легких.

Необходимо обратить внимание на то, что в настоящем исследовании продемонстрирована значимая роль продолжительности интенсивной фазы противотуберкулезной терапии, предшествовавшей коинфекции COVID-19, для сроков элиминации коронавируса из дыхательных путей. Ограничением нашего исследования явились большая доля больных с лекарственно-устойчивым туберкулезом (>50 % пациентов с МЛУ и пре-ШЛУ МБТ) в обеих группах больных с коинфекцией туберкулеза и COVID-19 при относительно короткой продолжительности интенсивной противотуберкулезной терапии, предшествовавшей развитию COVID-19 (менее 3 мес в группе больных туберкулезом без признаков генерализации инфекции, менее 2 мес в группе больных с диссеминированным туберкулезом легких). Систематические обзоры выявляют неоднозначные результаты оценки значимости различий рисков тяжелого течения COVID-19 и смерти больных в зависимости от сочетанного активного или ранее леченного туберкулеза [12, 13]. Публикации исследователей из России, Южной Африки и Филиппин позволяют предполагать, что активное текущее заболевание туберкулезом связано с повышенным риском смертности от COVID-19. A.N. Aggarwal et al. (2021) в систематическом обзоре, включавшем 43 исследования, отметили повышенные риски тяжелого течения и летального исхода COVID-19 у выявленных в амбулаторных условиях больных с сопутствующим активным туберкулезом, но не у госпитализированных пациентов, получающих

## CONCLUSION

Suppression of the CD4<sup>+</sup> T cell subset with a critical level less than 80 cells/μl is the leading cause of delayed elimination SARS-CoV-2 from the respiratory tract of patients with tuberculosis and COVID-19 co-infection, which may contribute to a more severe course of COVID-19.

The duration of controlled anti-tubercular therapy during the intensive phase of treatment of hospitalized tuberculosis patients preceding the onset of COVID-19 correlates with delayed elimination of SARS-CoV-2 from the respiratory tract of patients with tuberculosis and COVID-19 co-infection.

Appropriately controlled anti-tubercular therapy during the intensive phase of treatment, antiretroviral therapy assigned in a timely manner to patients with concomitant HIV infection at the stage of secondary infection in order to restore the CD4<sup>+</sup> T cell subset as a result of suppression of HIV replication, treatment of anemia in accordance with conventional indications for respiratory infection, will improve outcomes in hospitalized patients with tuberculosis and COVID-19 co-infection.

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

противотуберкулезную терапию [1]. Результаты этого систематического обзора позволяют предположить значение контролируемой противотуберкулезной терапии в улучшении исходов COVID-19 у больных активным туберкулезом. Для получения более полных данных необходимы дальнейшие исследования влияния активного туберкулеза и адекватно контролируемой противотуберкулезной терапии на иммунный ответ и клиренс высокопатогенных коронавирусов в зависимости от наличия и вида лекарственной устойчивости *M. tuberculosis*, ВИЧ-инфекции и антиретровирусной терапии.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Подавление популяции CD4<sup>+</sup> клеток с достижением критического уровня менее 80 кл./мкл является ведущей причиной замедленной элиминации коронавируса SARS-CoV-2 в дыхательных путях больных туберкулезом в сочетании с коронавирусной инфекцией, что может способствовать более тяжелому течению инфекционного заболевания COVID-19.

Длительность контролируемой противотуберкулезной терапии в интенсивной фазе лечения

госпитализированных больных туберкулезом, предшествующей возникновению COVID-19, коррелирует с задержкой элиминации коронавируса SARS-CoV-2 в дыхательных путях больных туберкулезом в сочетании с COVID-19.

Адекватно контролируемая противотуберкулезная терапия в интенсивной фазе лечения, своевременное назначение антиретровирусной терапии больным с сопутствующей ВИЧ-инфекцией в стадии вторичных заболеваний с целью

восстановления популяции CD4<sup>+</sup> клеток в результате подавления репликации ВИЧ, коррекция анемии в соответствии с общепринятыми показаниями при респираторной инфекции позволяют улучшить исходы у госпитализированных пациентов с туберкулезом в сочетании с инфекционным заболеванием COVID-19.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Aggarwal A.N., Agarwal R., Dhooria S. et al. Active pulmonary tuberculosis and coronavirus disease 2019: A systematic review and meta-analysis // *PLoS One.* 2021;16(10):e0259006. DOI: 10.1371/journal.pone.0259006.
2. Tuberculosis and COVID-19 co-infection: description of the global cohort. TB/COVID-19 Global Study Group // *Eur. Respir. J.* 2022;59(3):2102538. DOI: 10.1183/13993003.02538-2021.
3. Jassat W., Cohen C., Tempia S. et al.; DATCOV author group. Risk factors for COVID-19-related in-hospital mortality in a high HIV and tuberculosis prevalence setting in South Africa: a cohort study // *Lancet HIV.* 2021;8(9):e554-e567. DOI: 10.1016/S2352-3018(21)00151-X.
4. Chiok K.R., Dhar N., Banerjee A. *Mycobacterium tuberculosis* and SARS-CoV-2 co-infections: The knowns and unknowns // *iScience.* 2023;26(5):106629. DOI: 10.1016/j.isci.2023.106629.
5. Mousquer G.T., Peres A., Fiegenbaum M. Pathology of TB/COVID-19 co-infection: The phantom menace // *Tuberculosis (Edinb).* 2021;126:102020. DOI: 10.1016/j.tube.2020.102020.
6. Туберкулез у взрослых: Клинические рекомендации. 2022. URL: [https://cr.minsdrav.gov.ru/recomend/16\\_2](https://cr.minsdrav.gov.ru/recomend/16_2) (дата обращения: 25.12.2023).
7. Зимина В.Н., Кравченко А.В., Викторова И.Б., Кошечкин В.А. Туберкулез и ВИЧ-инфекция у взрослых: Руководство. 2-е изд., перераб. и доп. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2020. 256 с.
8. Пантелейев А.М. Клиническое представление о патогенезе генерализации туберкулеза у больных ВИЧ-инфекцией // Туберкулез и болезни легких. 2015;(2):26-31. DOI: 10.21292/2075-1230-2015-0-2-26-31.
9. Васильева И.А., Тестов В.В., Стерликов С.А. Эпидемическая ситуация по туберкулезу в годы пандемии COVID-19 – 2020–2021 гг. // Туберкулез и болезни легких. 2022;100(3):6-12. DOI: 10.21292/2075-1230-2022-100-3-6-12.
10. Mollalign H., Chala D., Beyene D. Clinical features and treatment outcome of coronavirus and tuberculosis co-infected patients: a systematic review of case reports // *Infect. Drug. Resist.* 2022;15:4037-4046. DOI: 10.2147/IDR.S370837.
11. Zlei M., Sidorov I.A., Joosten S.A. et al. In collaboration with Beat-Covid, in collaboration with Lumc Covid. Immune determinants of viral clearance in hospitalised COVID-19 patients: reduced circulating naïve CD4<sup>+</sup>

## REFERENCES

1. Aggarwal A.N., Agarwal R., Dhooria S. et al. Active pulmonary tuberculosis and coronavirus disease 2019: A systematic review and meta-analysis. *PLoS One.* 2021;16(10):e0259006. DOI: 10.1371/journal.pone.0259006.
2. Tuberculosis and COVID-19 co-infection: description of the global cohort. TB/COVID-19 Global Study Group. *Eur. Respir. J.* 2022;59(3):2102538. DOI: 10.1183/13993003.02538-2021.
3. Jassat W., Cohen C., Tempia S. et al.; DATCOV author group. Risk factors for COVID-19-related in-hospital mortality in a high HIV and tuberculosis prevalence setting in South Africa: a cohort study. *Lancet HIV.* 2021;8(9):e554-e567. DOI: 10.1016/S2352-3018(21)00151-X.
4. Chiok K.R., Dhar N., Banerjee A. *Mycobacterium tuberculosis* and SARS-CoV-2 co-infections: The knowns and unknowns. *iScience.* 2023;26(5):106629. DOI: 10.1016/j.isci.2023.106629.
5. Mousquer G.T., Peres A., Fiegenbaum M. Pathology of TB/COVID-19 co-infection: The phantom menace. *Tuberculosis (Edinb).* 2021;126:102020. DOI: 10.1016/j.tube.2020.102020.
6. Tuberculosis in adults: Clinical guidelines. 2022. URL: [https://cr.minsdrav.gov.ru/recomend/16\\_2](https://cr.minsdrav.gov.ru/recomend/16_2) (accessed 25.12.2023).
7. Zimina V.N., Kravchenko A.V., Viktorova I.B., Koshechkin V.A. (2020). *Tuberculosis and HIV Infection in Adults: Guide.* 2nd ed., revised. Moscow: GEOTAR-Media. 256 p. (In Russ.)
8. Panteleev A.M. Clinical notion of the pathogenesis of tuberculosis generalization in HIV-infected patients. *Tuberculosis and Lung Diseases.* 2015;(2):26-31. DOI: 10.21292/2075-1230-2015-0-2-26-31. (In Russ.)
9. Vasilyeva I.A., Testov V.V., Sterlikov S.A. Tuberculosis situation in the years of the COVID-19 Pandemic – 2020–2021. *Tuberculosis and Lung Diseases.* 2022;100(3):6-12. DOI: 10.21292/2075-1230-2022-100-3-6-12. (In Russ.)
10. Mollalign H., Chala D., Beyene D. Clinical features and treatment outcome of coronavirus and tuberculosis co-infected patients: a systematic review of case reports. *Infect. Drug. Resist.* 2022;15:4037-4046. DOI: 10.2147/IDR.S370837.
11. Zlei M., Sidorov I.A., Joosten S.A. et al. In collaboration with Beat-Covid, in collaboration with Lumc Covid. Immune determinants of viral clearance in hospitalised COVID-19 patients: reduced circulating naïve CD4<sup>+</sup>

COVID-19 patients: reduced circulating naïve CD4+ T cell counts correspond with delayed viral clearance // *Cells*. 2022;11(17):2743. DOI: 10.3390/cells11172743.

12. Bostanghadiri N., Jazi F.M., Razavi S. et al. *Mycobacterium tuberculosis* and SARS-CoV-2 coinfections: A review // *Front. Microbiol.* 2022;12:747827. DOI: 10.3389/fmicb.2021.747827.

13. Jhaveri T.A., Fung C., LaHood A.N. et al. Clinical outcomes of individuals with COVID-19 and tuberculosis during the pre-vaccination period of the pandemic: A systematic review // *J. Clin. Med.* 2022;11(19):5656. DOI: 10.3390/jcm11195656.

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

**Цеймак Ирина Яковлевна** – д-р мед. наук, доцент, заведующий кафедрой пульмонологии и фтизиатрии с курсом дополнительного профессионального образования (ДПО) ФГБОУ ВО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава России, Барнаул, Россия. ORCID: оооо-0002-9978-5156.

**Семитко Андрей Павлович** – канд. мед. наук, доцент кафедры пульмонологии и фтизиатрии с курсом ДПО ФГБОУ ВО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава России; заведующий отделением легочного туберкулеза № 4 КГБУЗ «Алтайский краевой противотуберкулезный диспансер», Барнаул, Россия. ORCID: оооо-0002-8472-9386.

**Богачев Дмитрий Евгеньевич** – ассистент кафедры пульмонологии и фтизиатрии с курсом ДПО ФГБОУ ВО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава России, Барнаул, Россия. ORCID: оооо-0001-6906-0069.

**Даuletова Янина Анатольевна** – канд. мед. наук, доцент кафедры пульмонологии и фтизиатрии с курсом ДПО ФГБОУ ВО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава России, Барнаул, Россия. ORCID: оооо-0009-1722-651X.

**Шмакова Анна Алексеевна** – врач-фтизиатр, врач-инфекционист КГБУЗ «Алтайский краевой противотуберкулезный диспансер», Барнаул, Россия. ORCID: оооо-0005-8781-3147.

T cell counts correspond with delayed viral clearance. *Cells*. 2022;11(17):2743. DOI: 10.3390/cells11172743.

12. Bostanghadiri N., Jazi F.M., Razavi S. et al. *Mycobacterium tuberculosis* and SARS-CoV-2 coinfections: A review. *Front. Microbiol.* 2022;12:747827. DOI: 10.3389/fmicb.2021.747827.

13. Jhaveri T.A., Fung C., LaHood A.N. et al. Clinical outcomes of individuals with COVID-19 and tuberculosis during the pre-vaccination period of the pandemic: A systematic review. *J. Clin. Med.* 2022;11(19):5656. DOI: 10.3390/jcm11195656.

## ABOUT THE AUTHORS

**Irina Ya. Tseymakh** – Dr. Sci. (Med.), Associate Professor, Head, Department of Pulmonology and Phthisiology with a course of Advanced Vocational Education (AVE), Altai State Medical University, Barnaul, Russia. ORCID: оооо-0002-9978-5156.

**Andrey P. Semitko** – Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Department of Pulmonology and Phthisiology with a course of AVE, Altai State Medical University; Head, Department of Pulmonary Tuberculosis No. 4, Altai Regional Tuberculosis Dispensary, Barnaul, Russia. ORCID: оооо-0002-8472-9386.

**Dmitry E. Bogachev** – Assistant, Department of Pulmonology and Phthisiology with a course of AVE, Altai State Medical University, Barnaul, Russia. ORCID: оооо-0001-6906-0069.

**Yanina A. Dauletova** – Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Department of Pulmonology and Phthisiology with a course of AVE, Altai State Medical University, Barnaul, Russia. ORCID: оооо-0009-1722-651X.

**Anna A. Shmakova** – Tuberculosis Physician, Infectious Disease Physician, Altai Regional Tuberculosis Dispensary, Barnaul, Russia. ORCID: оооо-0005-8781-3147.

## Связь экспрессии BMI-1 и ROR1 с клинико-морфологическими параметрами и течением люминального рака молочной железы

В.О. Тараканова<sup>1,2</sup>, Н.В. Крахмаль<sup>1,2</sup>, Н.Н. Бабышкина<sup>1,2</sup>, С.В. Вторушин<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>НИИ онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, Томск, Россия

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Томск, Россия

### АННОТАЦИЯ

**Введение.** Люминальный рак молочной железы (РМЖ) занимает наибольшую долю в структуре всего молекулярного ландшафта данного заболевания. На фоне проводимого, чаще всего гормонального, лечения у части пациентов развивается прогрессия заболевания, что диктует поиск новых молекулярных предикторов.

**Цель исследования.** Изучить клинико-морфологические особенности заболевания в зависимости от экспрессии BMI-1 и ROR1 в первичной опухоли у больных с люминальным раком молочной железы на фоне терапии ингибиторами ароматазы.

**Материалы и методы.** В исследование были включены 80 пациенток с T1-2No-1Mo стадиями первично-операбельного РМЖ в возрасте  $62.1 \pm 8.1$  года. Изучалась ткань первичной опухоли методом иммуногистохимии. Применили антитела к ROR1 и BMI-1. Оценивалось наличие и степень выраженности иммунного окрашивания, процент позитивно окрашенных опухолевых клеток. Экспрессионные параметры исследуемых маркеров оценивались в связи с различными клинико-патологическими параметрами заболевания.

**Результаты.** 70 пациенток имели люминальный А подтип, 10 пациенток – люминальный В/HER2-отрицательный субтип. Позитивная экспрессия BMI-1 наблюдалась в 64 % случаев, экспрессия ROR1 встречалась реже и составила 24 %. При нарастании степени злокачественности опухоли (grade) увеличивается число случаев с позитивной экспрессией фактора ROR1 ( $p < 0.05$ ). Уровень пролиферативной активности опухоли (Ki67) коррелировал с позитивной экспрессией ROR1 ( $p = 0.312$ ,  $p = 0.03$ ) и BMI-1 ( $p = 0.310$ ,  $p < 0.031$ ). При наличии метастатического поражения регионарных лимфатических узлов экспрессия обоих показателей была достоверно выше. Возникновение отдаленных метастазов сопряжено с высокими уровнем экспрессии BMI-1 клетками первичной опухоли ( $p < 0.05$ ).

**Заключение.** Проведенное исследование отчетливо демонстрирует взаимосвязь протеинов ROR1 и BMI-1 с клинико-патологическими параметрами первичной опухоли и течением заболевания при люминальных молекулярных подтипах рака молочной железы.

**Ключевые слова:** рак молочной железы, BMI-1, ROR1, иммуногистохимия.

**Образец цитирования:** Тараканова В.О., Крахмаль Н.В., Бабышкина Н.Н., Вторушин С.В. Связь экспрессии BMI-1 и ROR1 с клинико-морфологическими параметрами и течением люминального рака молочной железы // Journal of Siberian Medical Sciences. 2024;8(1):88-99. DOI: 10.31549/2542-1174-2024-8-1-88-99

Поступила в редакцию 30.11.2023  
Прошла рецензирование 20.02.2024  
Принята к публикации 10.03.2024

Автор, ответственный за переписку  
Тараканова Валерия Олеговна: НИИ онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, 634009, г. Томск, пер. Кооперативный, 5.  
E-mail: valeria.ssmu@gmail.com

Received 30.11.2023  
Revised 20.02.2024  
Accepted 10.03.2024

Corresponding author  
Valeria O. Tarakanova: Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, 5, Kooperativny str., Tomsk, 634009, Russia.  
E-mail: valeria.ssmu@gmail.com

## Correlation of BMI-1 and ROR1 expression with clinical and morphological parameters and the course of luminal breast cancer

V.O. Tarakanova<sup>1,2</sup>, N.V. Krakhmal<sup>1,2</sup>, N.N. Babyshkina<sup>1,2</sup>, S.V. Vtorushin<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia

<sup>2</sup>Siberian State Medical University, Tomsk, Russia

### ABSTRACT

**I n t r o d u c t i o n .** Luminal breast cancer (BC) occupies the largest proportion in the structure of the entire molecular landscape of this disease. During the ongoing treatment, most often hormone therapy, in part of patients, the disease progression develops, which makes necessary the search for new molecular predictors.

**A i m o f t h e r e s e a r c h .** To study the clinical and morphological features of the disease depending on BMI-1 and ROR1 expression in the primary tumor in luminal breast cancer patients during aromatase inhibitors therapy.

**M a t e r i a l s a n d m e t h o d s .** The study included 80 patients with T1-2No-1Mo operable primary breast cancer at the age of  $62.1 \pm 8.1$  years. The primary tumor tissue was studied using immunohistochemistry. Antibodies to ROR1 and BMI-1 were used. The presence and degree of immunostaining, and the percentage of positively stained tumor cells were assessed. The expression parameters of the studied markers were assessed in relation to various clinical and pathological data of the disease.

**R e s u l t s .** 70 patients had the luminal A subtype, 10 patients had the luminal B/HER2-negative subtype. Positive BMI-1 expression was observed in 64% of cases, ROR1 expression was less common and amounted to 24%. As tumor grade increases, the number of cases with positive ROR1 expression increases ( $p < 0.05$ ). The level of proliferative activity (Ki67) correlated with positive ROR1 expression ( $\rho = 0.312, p = 0.03$ ) and BMI-1 ( $\rho = 0.310, p < 0.031$ ). In presence of metastases to regional lymph nodes, the expression of both markers was significantly higher. The occurrence of distant metastases is associated with high levels of BMI-1 expression by primary tumor cells ( $p < 0.05$ ).

**C o n c l u s i o n .** The study clearly demonstrates the correlation of ROR1 and BMI-1 proteins with the clinical and morphological parameters of the primary tumor and the course of the disease in luminal subtypes of breast cancer.

**Keywords:** breast cancer, BMI-1, ROR1, immunohistochemistry.

**Citation example:** Tarakanova V.O., Krakhmal' N.V., Babyshkina N.N., Vtorushin S.V. Correlation of BMI-1 and ROR1 expression with clinical and morphologic parameters and the course of luminal breast cancer. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2024;8(1):88-99. DOI: 10.31549/2542-1174-2024-8-1-88-99

### ВВЕДЕНИЕ

Рак молочной железы (РМЖ) занимает лидирующие позиции в структуре онкологических заболеваний среди женщин. Несмотря на достигнутые успехи в лечении данного заболевания, остается актуальным поиск и изучение различных биологических маркеров, выступающих в качестве потенциальных кандидатов факторов прогноза и предикции ответа на проводимое лечение.

Рецепторная тирозинкиназа ROR1 является рецептором для субъединицы Wnt5a Wnt-сигнального пути. Частота ее экспрессии в нормальных клетках очень высока в процессе эмбриогенеза, но также повышается при многих злокачественных новообразованиях [1–3]. Описаны три основных сплайс-варианта ROR1: вариант 1 (v1; UniProt IDQ01973-1) кодирует трансмембранный белок, состоящий из 934 аминокис-

### INTRODUCTION

Breast cancer (BC) occupies a leading position in the structure of oncological diseases among women. Despite the advances in the treatment of this disease, the search for various biological markers that act as potential candidates for factors of prognosis and prediction of response to treatment and their studying remains relevant.

The receptor tyrosine kinase ROR1 is the Wnt5a protein receptor of the Wnt signaling pathway. The level of its expression in normal cells is very high during embryogenesis, but also increases in many malignant neoplasms [1–3]. Three major splice variants of ROR1 have been described: variant 1 (v1; UniProt IDQ01973-1) encodes a transmembrane protein consisting of 934 amino acids expressed on the cell surface; variant 2 (v2; UniProt IDQ01973-2) lacks the amino terminus of 549 amino acids; intracellular/secreted variant 3 (v3; UniProt IDQ01973-3),

лот, экспрессируемых на клеточной поверхности; вариант 2 (v2; UniProt IDQ01973-2) лишен амино-конца из 549 аминокислот; внутриклеточный/секретируемый вариант 3 (v3; UniProt IDQ01973-3), который предположительно кодирует амино-конец из 393 аминокислот [4].

Впервые экспрессию ROR1 во многих злокачественных новообразованиях, таких как В-клеточный хронический лейкоз, рак яичников, РМЖ, легких, обнаружили при помощи транскрипционного анализа [5, 6]. Иммуногистохимический метод исследования (ИГХ) как замороженных образцов опухолевой ткани, так и фиксированных формалином и залитых парафином блоков с применением антител, тропных к N-концевой области ROR1, также помог обнаружить экспрессию данной тирозинкиназы в солидных опухолях. Но в большинстве исследований удалось выявить экспрессию цитоплазматически расположенной ROR1, а не на поверхности клетки, как это ожидалось в начале исследования [1].

Экспрессия ROR1 изучалась в образцах здоровой ткани при помощи различных методов, включая транскриптомные техники, иммуноблоттинг и ИГХ. При помощи цитометрии было показано, что ROR1 присутствует на клеточной поверхности адипоцитов, дифференцированных *in vitro* из клеток-предшественников, и на поверхности нормальных В-клеток костного мозга [7]. Различные специфичные к ROR1 антитела использовались для обнаружения данного белка в клетках нормальных тканей при помощи ИГХ и иммуноблоттинга [8–10]. Даные исследования пришли к разным результатам, но были едины в одном: ROR1-v1 избирательно экспрессируется в опухолевых клетках, но не в здоровых.

Группа исследователей (A. Balakrishnan et al.) изучали эффективность изобретенного ими антитела 6D4 mAb, тропного к карбокси-концу ROR1, при проведении ИГХ. Они показали, что ROR1 гомогенно экспрессируется в тканях тройного негативного рака молочной железы, рака яичников и легкого. Также выявили некоторую экспрессию данного белка в здоровых тканях, таких как парашитовидные железы, островки поджелудочной железы, слизистая пищевода, желудка, двенадцатиперстной кишки [9].

Ряд исследований показали, что при раке молочной железы экспрессия ROR1 была связана с высоким уровнем пролиферации опухолевых клеток, ускользанием от апоптоза и склонностью к эпителиально-мезенхимальному переходу (ЭМП) [12].

which is proposed to encode the amino terminus of 393 amino acids [4].

For the first time, ROR1 expression in many malignant neoplasms, such as B-cell chronic leukemia, ovarian cancer, BC, lung cancer, was discovered using transcriptional analysis [5, 6]. Immunohistochemistry (IHC) of both frozen tumor tissue samples and formalin-fixed, paraffin-embedded blocks using antibodies to the N-terminal region of ROR1 also helped detect the expression of this tyrosine kinase in solid tumors. But most studies were able to detect the expression of ROR1 located in the cytoplasm, and not on the cell surface, as expected at the beginning of studying [1].

ROR1 expression has been studied in healthy tissue samples using a variety of methods, including transcriptomic techniques, immunoblotting, and IHC. Using cytometry, ROR1 has been shown to be present on the cell surface of adipocytes differentiated from progenitor cells *in vitro* and on the surface of normal bone marrow B cells [7]. Various ROR1-specific antibodies have been used to detect this protein in normal tissue cells using IHC and immunoblotting [4, 8–10]. These studies came to different results, but were unanimous in one thing: ROR1-v1 is selectively expressed in tumor cells, but not in healthy ones.

A group of researchers (Balakrishnan et al.) studied the effectiveness of their developed 6D4 monoclonal antibody which is tropic to the carboxy terminus of ROR1, by IHC. They showed that ROR1 is homogeneously expressed in the tissues of triple negative breast cancer, ovarian cancer, and lung adenocarcinomas. Some expression of this protein was also detected in normal tissues, including parathyroid, pancreatic islets, esophageal, gastric and duodenal mucosa [9].

A number of studies have shown that in breast cancer, ROR1 expression was associated with high levels of tumor cell proliferation, escape from apoptosis, and susceptibility to epithelial-mesenchymal transition (EMT) [10].

Pandey et al. showed that ROR1 expression was most often found in the triple negative subtype of breast cancer, the luminal A subtype was in second place, less often in HER2-positive breast cancer and the luminal B subtype. The researchers also showed that the high levels of expression of this protein were associated with worse survival without distant metastasis. An association has also been shown between ROR1 expression and the level of fibroblast growth factor receptor 1 (FGFR1) expression. The possibility has been noted that ROR1 maintains FGFR1 expression, which, in turn,

G. Pandey et al. показали, что экспрессия ROR1 чаще всего встречалась при тройном негативном подтипе рака молочной железы, на втором месте оказался люминальный А подтип, реже – при HER2-положительном РМЖ и люминальном В подтипе. Также исследователи показали, что высокие показатели экспрессии данного белка были связаны с худшей выживаемостью без отдаленного метастазирования. Также была показана связь между экспрессией ROR1 и уровнем экспрессии рецептора фактора роста фибробластов 1 (FGFR1). Была отмечена вероятность того, что ROR1 поддерживает экспрессию FGFR1, что, в свою очередь, определяет максимально злокачественное течение тройного негативного РМЖ [11].

M.K. Hasan et al. представили данные о том, что Wnt5a индуцирует ROR1, что приводит к рекрутированию кортактина. Кортактин играет важную роль в процессе межклеточной адгезии – следовательно, его рекрутирование способствует клеточной миграции и появлению отдаленных метастазов при РМЖ. Из этого можно сделать вывод, что экспрессия ROR1 в клетках РМЖ будет связана с высоким риском отдаленного метастазирования и худшим прогнозом [12].

При связывании ROR1 с белком Wnt5a Wnt-сигнального пути запускается каскад реакций, способных привести к активации белка BMI-1. Белок BMI-1 относится к семейству polycomb, играющему немаловажную роль в процессах запрограммированной клеточной гибели, старении клеток, способности восстанавливать ДНК, поддерживать рост и пролиферацию опухолевых клеток. В норме BMI-1 потенцирует нейрональные стволовые клетки и гемопоэтические клетки для участия в процессах дифференцировки и обновления [13].

В ряде исследований было показано, что BMI-1 запускается при активации PI3K/AKT-сигнального пути. И BMI-1, и AKT коактивируются в значительной части опухолей с высоким злокачественным потенциалом. AKT опосредует фосфорилирование белка BMI-1, усиливая тем самым его онкогенный потенциал. Этот процесс модулирует ответ на повреждение ДНК и влияет на стабильность генома, нарушая ее.

Другое независимое исследование показало, что фосфорилирование BMI-1 при помощи AKT также может модулировать его функцию через другой сигнальный путь – Ink4a/Arf. Фосфорилирование BMI-1 человека по Ser316 с помощью AKT нарушало его функцию, вызывая диссоциацию от локуса Ink4a/Arf, что приводило к сниже-

determines the great malignancy of triple negative BC [11].

Hasan et al. presented evidence that Wnt5a induces ROR1, which leads to the recruitment of cortactin. Cortactin plays an important role in the process of intercellular adhesion; therefore, its recruitment promotes cell migration and the appearance of distant metastases in breast cancer. From this we can conclude that ROR1 expression in breast cancer cells will be associated with a high risk of distant metastasis and a worse prognosis [12].

When ROR1 binds to the Wnt5a protein of the Wnt signaling pathway, a cascade of reactions is triggered that can lead to the activation of the BMI-1 protein. The BMI-1 protein belongs to the Polycomb group proteins, which plays a not unimportant part in programmed cell death, cell aging, DNA repair capacity, and maintaining the growth and proliferation of tumor cells. Normally, BMI-1 activates neural stem cells and hematopoietic cells to participate in differentiation and renewal [13].

A number of studies have shown that BMI-1 is triggered by activation of the PI3K/AKT signaling pathway. Both BMI-1 and AKT are co-activated in the majority of high-grade tumors. AKT mediates phosphorylation of the BMI-1 protein, thereby enhancing its malignant potential. This process modulates DNA damage response and affects genomic stability by disordering it.

Another independent study showed that phosphorylation of BMI-1 by AKT may also modulate its function via another signaling pathway, Ink4a/Arf. Phosphorylation of human BMI-1 via Ser316 by AKT impaired its function, causing dissociation from the Ink4a/Arf locus, resulting in decreased ubiquitylation of histone H2A and the inability of BMI-1 to promote cell proliferation and tumor growth [14]. Moreover, AKT-mediated phosphorylation of BMI-1 also inhibits its ability to promote self-renewal of hematopoietic stem and progenitor cells. These studies reveal the mechanism of increased p16Ink4a and p14Arf subunits observed in cancer cells with activated phosphoinositide 3-kinase (PI3K/AKT) signaling pathway and identify the crosstalk between phosphorylation events and the chromatin structure. Together, these data indicate context-dependent variability in the functional outcome of phosphorylated BMI-1.

A number of studies have shown that high levels of BMI-1 expression are observed in breast cancer, which, in turn, correlated with dramatic progression and poor prognosis. It was noted that this protein plays quite an important role in tumor invasion and metastasis by modulating the expression of EMT

нию убиквитинирования гистона H2A и неспособности BMI-1 стимулировать клеточную пролиферацию и рост опухоли [14]. Более того, АКТ-опосредованное фосфорилирование BMI-1 также ингибирует его возможность способствовать самообновлению гемопоэтических стволовых клеток и клеток-предшественников. Эти исследования раскрывают механизм повышенного содержания p16Ink4a и p14Arf субъединиц, наблюдаемого в раковых клетках с активированным сигнальным путем фосфоинозитид-3-киназы (PI3K/AKT), и определяют перекрестные помехи между событиями фосфорилирования и структурой хроматина. Вместе эти данные указывают на зависящую от контекста изменчивость функционального результата фосфорилированного BMI-1.

Ряд исследований показали, что при раке молочного железы наблюдаются высокие уровни экспрессии BMI-1, что, в свою очередь, коррелировало с агрессивным течением опухоли и неблагоприятным прогнозом. Было отмечено, что данный белок играет немаловажную роль в инвазии и метастазировании опухолей, модулируя экспрессию белков ЭМП. *In vitro* и *in vivo* белок BMI-1 показал важную роль в формировании высокой онкогенности клеточных линий РМЖ. Также коллаборация BMI-1 и HRAS приводит к крайне злокачественному фенотипу РМЖ, повышает процент отдаленного метастазирования в печень, селезенку, головной мозг [15].

J.Y. Liu et al. в своем исследовании приводят интересные данные о том, что стимулирующие рост опухоли эффекты, обусловленные активацией BMI-1, отличаются в клеточных линиях различных молекулярных подтипов РМЖ. Авторы показали, что при люминальном А подтипе РМЖ BMI-1 способствует пролиферации опухолевых клеток посредством ингибирования транскрипции CDKN2D, при тройном негативном подтипе это происходит за счет ингибирования транскрипции BRCA1 [16]. В люминальных клетках рака молочной железы подтипа А авторы сосредоточились на CDKN2D (p19INK4d), который принадлежит к семейству белков INK4, ингибиторов CDK4. Семейство INK4 состоит из CDKN2A, CDKN2B, CDKN2C и CDKN2D, которые связываются с CDK4 и CDK6 и специфически ингибируют активность киназы pRb комплексов циклин D-CDK4 и циклин D-CDK6, чтобы регулировать фазовый переход G1-S. Гены семейства INK4 действуют как опухолевые супрессоры в патогенезе многих злокачественных новообразований, включая лейкемию [17], и обеспечивают прямую

proteins. *In vitro* and *in vivo*, the BMI-1 protein showed a substantial role in the formation of high carcinogenicity of BC cell lines. Also, BMI-1 and HRAS co-expression leads to an extremely malignant phenotype of BC and increases distant metastasis to the liver, spleen, and brain [15].

Liu et al. provide data of interest that effects promoting tumor and caused by BMI-1 activation differ in cell lines of different molecular subtypes of BC. The authors showed that in the luminal A subtype of breast cancer, BMI-1 promotes tumor cells proliferation by inhibiting the transcription of CDKN2D; in the triple negative subtype, this occurs by inhibiting the transcription of BRCA1 [16]. In luminal A subtype breast cancer cells, the authors focused on CDKN2D (p19INK4d), which belongs to the INK4 family, CDK4 inhibitors. The INK4 family consists of CDKN2A, CDKN2B, CDKN2C, and CDKN2D, which bind to CDK4 and CDK6 and specifically inhibit the pRb kinase activity of the cyclin D-CDK4 and cyclin D-CDK6 complexes to regulate the G1-S phase transition. INK4 family genes act as tumor suppressors in the pathogenesis of many malignancies, including leukemia [17], and provide a direct correlation between tumorigenesis and loss of damping mechanisms. Wang et al. found that PML/RAR $\alpha$  can impair both proliferation and differentiation by suppressing the expression of CDKN2D, thereby promoting the development of acute promyelocytic leukemia [18]. However, the role of CDKN2D in breast cancer has not been widely studied. Liu et al. showed that BMI-1 may function by inhibiting CDKN2D, thereby suggesting that CDKN2D may serve as a target gene for BMI-1 in luminal A breast cancer. The researchers also determined mRNA levels of BMI-1 in normal tissue cells and tumor cells of the mammary gland. It was shown that BMI-1 levels were significantly higher in breast carcinomas [16]. Using immunofluorescence analysis, the expression of this protein in triple-negative BC and luminal A subtypes was studied. Both molecular subtypes of BC showed increased levels of BMI-1 expression, even though luminal A subtype tumors generally have more favorable prognosis [19]. These results confirmed the data of previous studies indicating significantly high levels of BMI1 expression in breast malignancies [15]. This study showed that BMI-1 expression was significantly upregulated in breast cancer tissues compared to normal tissues at both mRNA and protein levels. Loss-of-function experiments confirmed that BMI-1 expression downregulation could inhibit proliferation and migration of breast cancer cells *in vitro* and *in vivo*. These findings indicate that

связь между онкогенезом и потерей негативного контроля прогрессирования клеточного цикла. Y. Wang et al. обнаружили, что PML/RAR $\alpha$  может нарушать как пролиферацию, так и дифференцировку путем подавления экспрессии CDKN2D, тем самым способствуя патогенезу острого промиелоцитарного лейкоза [18]. Однако роль CDKN2D в развитии рака молочной железы широко не изучалась. J.Y. Liu et al. показали, что BMI-1 может функционировать, ингибируя CDKN2D, тем самым предполагая, что CDKN2D может служить геном-мишенью BMI-1 при луминальном подтипе А раке молочной железы. Также исследователи определили уровни мРНК BMI-1 в здоровых клетках молочной железы и в клетках опухолей. Было показано, что уровни BMI-1 были значительно выше при карциномах молочной железы [16]. С помощью иммунофлюоресцентного метода была изучена экспрессия данного белка при трижды негативном РМЖ и луминальном А подтипе. В обоих молекулярных подтипа РМЖ были выявлены повышенные уровни экспрессии BMI-1 даже несмотря на то, что опухоли луминального А подтипа обычно характеризуются более благоприятным прогнозом [19]. Эти результаты подтвердили данные предыдущих исследований, говорящих о статистически значимо высоких уровнях экспрессии белка при злокачественных новообразованиях молочной железы [15]. Данное исследование показало, что экспрессия BMI-1 была значительно повышена в тканях рака молочной железы по сравнению со здоровыми тканями как на уровне мРНК, так и на уровне определения самого белка. Анализы потери функции подтвердили, что снижение экспрессии BMI-1 может ингибировать пролиферацию и миграцию клеток рака молочной железы *in vitro* и *in vivo*. Эти данные показывают, что BMI-1 действует как онкоген в развитии рака молочной железы.

Исходя из существующих фундаментальных данных о роли белков BMI-1 и ROR1 при злокачественных новообразованиях, представляет несомненный интерес комплексное изучение данных факторов в отношении клинических и морфологических параметров заболевания у больных раком молочной железы.

## ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучить клинико-морфологические особенности заболевания в зависимости от экспрессии BMI-1 и ROR1 в первичной опухоли у больных с луминальным раком молочной железы на фоне терапии ингибиторами ароматазы.

BMI-1 acts as an oncogene in the breast cancer development.

Based on the current essential data on the role of BMI-1 and ROR1 proteins in malignant neoplasms, a comprehensive study of these factors in relation to the clinical and morphological parameters of the disease in patients with breast cancer is of undoubtedly interest.

## AIM OF THE RESEARCH

To study the clinical and morphological features of the disease depending on BMI-1 and ROR1 expression in the primary tumor in patients with luminal breast cancer during aromatase inhibitor therapy.

## MATERIALS AND METHODS

A study included 80 patients with T1-2N0-1M0 primary operable BC who were treated in the Department of Oncology of the Cancer Research Institute of the Tomsk National Research Medical Center (TNRMC). The mean age of the patients was  $62.1 \pm 8.1$  years. Inclusion criteria for the study were: histologically confirmed luminal HER2-negative BC, adjuvant treatment with aromatase inhibitors, and postmenopause. Exclusion criteria were: preoperative treatment, adjuvant chemotherapy, multiple primary malignant tumors. The study was approved by the local Ethics Committee of the Cancer Research Institute of the TNRMC. All patients underwent surgical treatment including mastectomy or lumpectomy, radiation therapy and adjuvant hormone therapy with aromatase inhibitors. Staging of BC was performed according to the TNM classification (7th edition). The follow-up was at least 3 years. A morphological study of the samples was carried out. The primary tumor tissue and resected axillary lymph nodes were examined. We used a Nikon ECLIPSE Ni light microscope. The diagnosis was made according to the WHO Classification of Tumors of the Breast, 5th Revision (2019). Analysis of ROR1 and BMI-1 expression in the primary tumor was performed on paraffin sections with IHC method using a Bond-MAX (Leica Biosystem) automated staining system. Antibodies to ROR1 (ROR1 antibody, polyclonal, 1:100, ThermoFisher) and BMI-1 (BMI-1 antibody, polyclonal, 1:100, ThermoFisher) were used. Proliferative activity of tumor species was assessed by Ki67 staining (clone SP6, Cell Marque). In each case, the presence and intensity of staining and the percentage of positive staining for ROR1 and BMI1 were assessed.

Statistical analysis of the data was carried out using Statistica 10.0 software. Normally distributed data were checked using the Kolmogorov-Smirnov

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование были включены 80 пациенток с T1-2No-1Mo стадиями первично-операбельного РМЖ, проходивших лечение в отделении общей онкологии НИИ онкологии Томского национального исследовательского медицинского центра (ТНИМЦ). Средний возраст больных составил  $62.1 \pm 8.1$  года. Критериями включения в исследование были гистологически подтвержденный люминальный HER2-негативный РМЖ, адъювантное лечение ингибиторами ароматазы, постменопауза. Критерии исключения: предоперационное лечение, адъювантная химиотерапия, первично-множественные злокачественные опухоли. Исследование было одобрено локальным этическим комитетом НИИ онкологии ТНИМЦ. Все пациентки получали оперативное лечение в объеме мастэктомии или секторальной резекции, лучевой терапии и адъювантной гормонотерапии ингибиторами ароматазы. Распространенность онкологического заболевания определялась согласно международной классификации TNM (7-е издание). Сроки наблюдения за больными составили не менее 3 лет. Проводили морфологическое исследование операционного материала. Изучалась ткань первичной опухоли и удаленные аксилярные лимфатические узлы. Исследование проводилось с помощью светового микроскопа Nikon ECLIPSE Ni. Диагноз устанавливался согласно «Классификации опухолей молочной железы, 5-й пересмотр» (ВОЗ, 2019). Анализ экспрессии белков ROR1 и BMI-1 в первичной опухоли проводили на парафиновых срезах иммуногистохимическим способом. Исследование выполнялось на автоматическом иммуногистостейнере Bond-MAX (Leica Biosystem). Применили антитела к ROR1 (ROR1 antibody, polyclonal, 1:100, ThermoFisher) и BMI-1 (BMI-1 antibody, polyclonal, 1:100, ThermoFisher). Пролиферативную активность опухоли оценивали по уровню экспрессии Ki67 (clone SP6, Cell Marque). В каждом случае оценивалось наличие и степень выраженности иммунного окрашивания, процент позитивно окрашенных опухолевых клеток.

Статистический анализ полученных данных проводился с использованием пакета программ Statistica 10.0. Нормальность распределения признаков в выборке проверяли с использованием теста Колмогорова – Смирнова. Для переменных с ненормальным распределением использован тест Манна – Уитни, представлены значения медианы (Me), 25-го и 75-го квартиля (Q1; Q3). Для выявления взаимосвязей между двумя количественными показателями оценивали ранговый

тест. Для non-normally distributed data, the Mann-Whitney test was used. The values are presented as a median (Me), 25th and 75th quartiles (Q1; Q3). To identify relationships between two quantitative variables, the Spearman's rank correlation coefficient was used. Differences between the variables were considered statistically significant at  $p < 0.05$ .

## RESULTS

In the study group, 70 patients had the luminal A subtype, 10 patients – the luminal B/HER2-negative subtype. In 67 patients, the primary tumor was presented by nonspecific invasive carcinoma; in 13 cases, invasive lobular cancer was diagnosed. Based on the results of immunohistochemical tests for the studied proteins, a retrospective comparison of the expression level of ROR1 and BMI-1 with the clinical and morphological parameters of the primary tumor was carried out: size, stage, grade, regional lymph node involvement and distant metastases. According to the results of immunohistochemistry, positive staining for BMI-1 was observed in 64% of cases, positive staining for ROR1 was less common and amounted to 24% of cases.

It was shown that in the group of patients with positive staining for BMI-1 in carcinoma cells, the size of the primary site was significantly larger compared to the group of patients with negative staining for BMI-1 (Fig. 1) ( $p < 0.05$ ).

The stage of cancer did not differ significantly depending on the level of expression of the proteins in carcinoma cells. However, it was shown that with increasing the tumor grade, the number of cases with ROR1 expression increases (Fig. 2) ( $p < 0.05$ ). The level of tumor proliferative activity, evaluated by Ki67, correlated with the expression of ROR1 ( $\rho = 0.312, p = 0.03$ ) and BMI-1 ( $\rho = 0.310, p < 0.031$ ).

Regional lymph node metastases in breast cancer are an important factor that both determines the prognosis of the disease and influences the treatment tactics of patients. In the study group of patients, regional lymph node involvement was found in 16 patients. According to the results of our study, in the group of patients with regional lymph node metastases, the expression of both markers was significantly higher (Table 1).

During the follow-up (60 months), in 68 cases there were no signs of disease progression; in 12 cases, distant hematogenous metastases were registered. In 10 cases, patients had axial skeletal metastases, in 2 cases – visceral metastases. According to the data obtained, the occurrence of distant metastases revealed during the follow-up in patients with luminal A and luminal B/Her2-negative subtypes

коэффициент корреляции Спирмена. Различия между исследуемыми признаками считались статистически значимым при уровне  $p < 0.05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ

В исследованной группе 70 пациенток имели люминальный А подтип, 10 пациенток – люминальный В/HER2-отрицательный молекулярный субтип. У 67 пациенток первичная опухоль была представлена инвазивной карциномой неспецифического типа, в 13 наблюдениях диагностирован инвазивный дольковый рак. На основе результатов проведенного ИГХ исследования изучаемых белков проводилось ретроспективное сопоставление уровня экспрессии ROR1 и BMI-1 с клинико-морфологическими параметрами первичной опухоли: размером первичной опухоли, стадией заболевания, степенью злокачественности (grade), статусом регионарных лимфатических узлов и фактом появления отдаленных метастазов. По результатам проведенного ИГХ исследования позитивная экспрессия BMI-1 наблюдалась в 64 % случаев, экспрессия ROR1 встречалась реже и составила в исследованной выборке 24 %.

Было показано, что в группе пациенток с позитивной экспрессией белка BMI-1 в клетках карциномы размер первичного опухолевого очага был достоверно больше в сравнении с группой больных, в опухоли которых не определялось иммунного окрашивания с антителом к BMI-1 (рис. 1) ( $p < 0.05$ ).

Стадия онкологического заболевания существенно не отличалась в зависимости от уровня

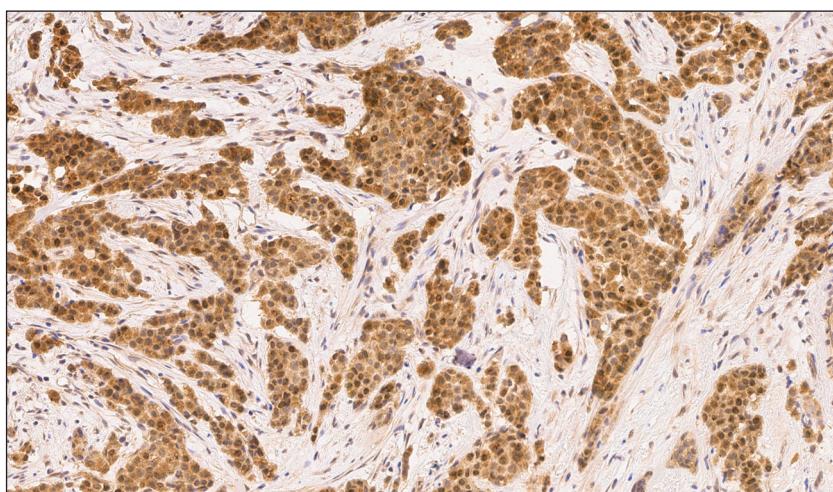
was associated with high levels of BMI-1 expression in primary tumor cells ( $p < 0.05$ ).

## DISCUSSION

Luminal breast cancer which accounts for approximately 70% of all breast cancers is characterized by the expression of estrogen and/or progesterone receptors. Two proteins that have been shown to play an important role in the pathogenesis of luminal breast cancer are BMI-1 and ROR1.

In breast cancer, ROR1 is specifically expressed in luminal subtypes, but not in normal breast tissue or triple-negative breast cancer tissue [11, 16]. Our study showed that positive staining for BMI-1 was more common, while ROR1 expression was less frequently recorded. However, a dependence on the size of the primary tumor was found only for the BMI-1 protein. At the same time, both markers showed a correlation with the level of proliferative activity of tumor cells. This is most likely due to the fact that two oncogenic proteins can interact through both independent and overlapping mechanisms to promote proliferation, survival, invasion and therapy resistance in tumor [10, 12].

The correlation we discovered between the expression of the studied markers and the frequency of regional and distant metastasis in patients with luminal BC is most likely explained by the functional properties of these proteins, which are of importance in relation to both lymphogenous and hematogenous dissemination. ROR1, in particular, has been shown to activate invasion, EMT, and metastasis in luminal breast cancer models [12]. It should be emphasized that all patients included in the study had fairly simi-

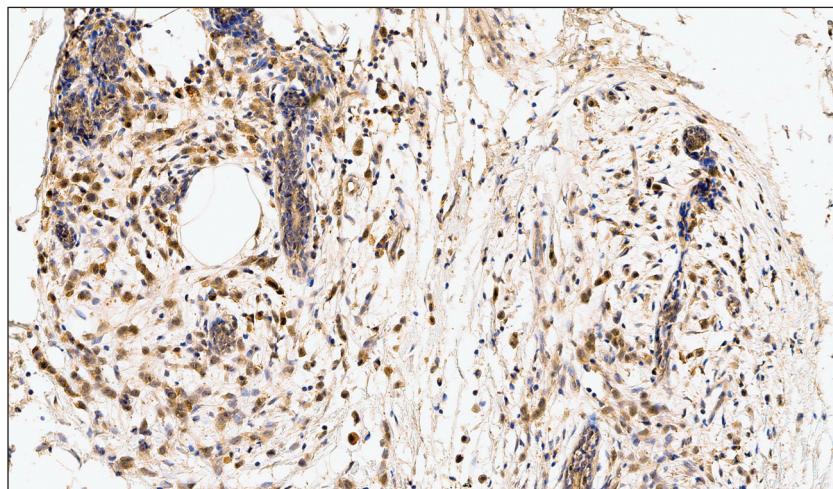


**Рис. 1.** Выраженная экспрессия BMI-1 в клетках рака молочной железы.

Инвазивная карцинома неспецифического типа. Иммуногистохимическое окрашивание. Увеличение (ув.)  $\times 200$

**Fig. 1.** High level expression of BMI-1 in breast cancer cells. Nonspecific invasive carcinoma.

Immunohistochemical staining. Magnification (magn.)  $\times 200$



**Рис. 2.** Умеренная экспрессия ROR1 в клетках рака молочной железы. Инвазивная дольковая карцинома, плеоморфный подтип. Иммуногистохимическое окрашивание. Ув.  $\times 200$

**Fig. 2.** Moderate level expression of ROR1 in breast cancer cells. Invasive pleomorphic lobular carcinoma. Immunohistochemical staining. Magn.  $\times 200$

экспрессии изучаемых белков в клетках карциномы. Однако было показано, что при нарастании степени злокачественности опухоли увеличивается число случаев с позитивной экспрессией фактора ROR1 (рис. 2) ( $p < 0.05$ ). Уровень пролиферативной активности опухоли, оцененный по маркеру Ki67, коррелировал с позитивной экспрессией ROR1 ( $\rho = 0.312$ ,  $p = 0.03$ ) и BMI-1 ( $\rho = 0.310$ ,  $p < 0.031$ ).

Метастатическое поражение регионарных лимфатических узлов при раке молочной железы является важным фактором, определяющим как прогноз заболевания, так и влияющим на тактику лечения пациентов. В исследуемой группе больных поражение регионарных лимфатических узлов опухолью было выявлено у 16 больных. По результатам нашего исследования было установлено, что в группе больных с наличием метастатического поражения регионарных лимфатических узлов экспрессия обоих показателей была достоверно выше (табл. 1).

За период наблюдения (60 мес) в 68 случаях признаков прогрессирования заболевания не

lar clinical characteristics and underwent the same treatment with aromatase inhibitors. It is possible that the disease progression during therapy with aromatase inhibitors is associated with the activation of mechanisms of tumor resistance to hormonal treatment, due to activation of the Wnt signaling pathway by ROR1 and BMI-1 proteins, and, possibly, transcriptional repression of CDKN2D [1, 3, 18].

The grade of breast carcinomas is an integral morphological indicator that reflects the degree of morphological and structural anaplasia of tumor during light microscopy. The correlation we have discovered between ROR-1 expression and the growth of carcinoma grade is consistent with the results of other studies [9].

Further studies are needed to fully elucidate the BMI-1/ROR-1 signaling axis and its potential as a therapeutic target in luminal breast cancer.

## CONCLUSION

The study clearly demonstrates the correlation of ROR1 and BMI-1 proteins with clinical and pathological parameters of the primary tumor and the

**Таблица 1.** Выраженность экспрессии (%), Me (Q1–Q3) белков BMI-1 и ROR1 в клетках первичной опухоли в зависимости от статуса лимфатических узлов у больных лимнинальным раком молочной железы

**Table 1.** Expression level (%), Me (Q1–Q3) of BMI-1 and ROR1 proteins in primary tumor cells depending on the status of lymph nodes in patients with luminal breast cancer

Статус лимфатических узлов Lymph node status	BMI-1	ROR1
N0 ( $n = 64$ )	14.0 (10–21)	0 (0–16)
N+ ( $n = 16$ )	27.0 (10–67)	18.0 (0–49)
$p$	0.024	0.033

отмечено, в 12 случаях зарегистрировано появление отдаленных гематогенных метастазов. В 10 случаях у пациенток отмечалось метастатическое поражение скелета, в 2 наблюдениях были верифицированы висцеральные метастазы. Согласно полученным данным, возникновение отдаленных метастазов, диагностированных на этапах динамического наблюдения у больных люминальным А и люминальным В/Her2-негативным подтипами, было сопряжено с высокими уровнем экспрессии ВМ1-1 клетками первичной опухоли ( $p < 0.05$ ).

## ОБСУЖДЕНИЕ

Люминальный рак молочной железы, на долю которого приходится около 70 % всех диагностируемых случаев рака молочной железы, характеризуется экспрессией эстрогеновых и/или прогестероновых рецепторов. Два белка, которые, как выяснилось, играют важную роль в патогенезе люминального рака молочной железы, – это BMI-1 и ROR1.

При раке молочной железы ROR1 специфично экспрессируется в люминальных подтипах, но не в нормальной ткани молочной железы или в ткани, пораженной тройным негативным раком молочной железы [11, 16]. В нашем исследовании было показано, что чаще наблюдается позитивное окрашивание BMI-1, в то время как экспрессия ROR1 регистрировалась реже. При этом зависимость от размера первичной опухоли обнаружена только в отношении белка BMI-1. В то же время оба маркера показали связь с уровнем пролиферативной активности опухолевых клеток. Вероятнее всего, это обусловлено тем, что два онкогенных белка могут взаимодействовать посредством как независимых, так и перекрывающихся механизмов, чтобы стимулировать пролиферацию, выживание, инвазию и устойчивость к терапии [10, 12].

Обнаруженная нами связь экспрессии изученных маркеров с частотой регионарного и отдаленного метастазирования у больных люминальным РМЖ, вероятнее всего, объясняется функциональными свойствами данных белков, имеющих важное значение как в отношении лимофагенной, так и гематогенной диссеминации. Было показано, что, в частности, ROR1 стимулирует инвазию, ЭМП и метастазирование в моделях люминального рака молочной железы [12]. При этом следует подчеркнуть, что все пациенты, включенные в исследование, имели достаточно схожие клинические характеристики и одинаковое лечение ингибиторами ароматазы. Не исключено, что введение в организм дополнительных белков, способных стимулировать инвазию и метастазирование, может привести к ухудшению прогноза и выживаемости пациентов.

course of the disease in luminal molecular subtypes of breast cancer. Further study of BMI-1 expression in luminal subtypes of breast cancer in conjunction with other molecular and biological characteristics will help to understand the mechanisms of aromatase inhibitor therapy failure in postmenopausal luminal breast cancer patients and personalize the prognosis for this group of patients.

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

чен, что прогрессирование болезни на фоне терапии ингибиторами ароматазы связано со стимуляцией механизмов гормональной резистентности опухоли, за счет активации белками ROR1 и BMI-1 Wnt-сигнального пути и, возможно, транскрипционной репрессии CDKN2D [1, 3, 18].

Степень гистологической злокачественности карцином молочной железы является интегральным морфологическим признаком, отражающим на светооптическом уровне степень морфологической и структурной анаплазии опухоли. Обнаруженная нами связь экспрессии белка ROR1 с нарастанием степени злокачественности карциномы согласуется с результатами других исследований [9].

Дальнейшие исследования оправданы для полного выяснения оси сигнализации BMI-1/ROR1 и ее потенциала в качестве терапевтической мишени при люминальном раке молочной железы.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное исследование отчетливо демонстрирует взаимосвязь протеинов ROR1 и BMI-1 с клинико-патологическими параметрами первичной опухоли и течением болезни при люминальных молекулярных подтипах рака молочной железы. Дальнейшее изучение экспрессии BMI-1 при люминальных подтипах РМЖ в совокупности с другими молекулярно-биологическими характеристиками поможет понять механизмы развития неэффективности терапии ингибиторами ароматазы, возникающей у больных люминальным раком молочной железы в постменопаузе, и индивидуализировать прогноз для данной группы пациенток.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Liu Y., Yang H., Chen T. et al. Silencing of receptor tyrosine kinase ROR1 inhibits tumor-cell proliferation via PI3K/AKT/mTOR signaling pathway in lung adenocarcinoma // *PLoS One*. 2015;10(5):e0127092. DOI: 10.1371/journal.pone.0127092.
2. Chien H.P., Ueng S.H., Chen S.C. et al. Expression of ROR1 has prognostic significance in triple negative breast cancer // *Virchows Archiv*. 2016;468(5):589-595. DOI: 10.1007/s00428-016-1911-3.
3. Zhang S., Cui B., Lai H. et al. Ovarian cancer stem cells express ROR1, which can be targeted for anti-cancer-stem-cell therapy // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 2014;111(48):17266-17271. DOI: 10.1073/pnas.1419599111.
4. Dave H., Anver M.R., Butcher D.O. et al. Restricted cell surface expression of receptor tyrosine kinase ROR1 in pediatric B-lineage acute lymphoblastic leukemia suggests targetability with therapeutic monoclonal antibodies // *PLoS One*. 2012;7(12):e52655. DOI: 10.1371/journal.pone.0052655.
5. Hamilton G., Rath B., Klameth L., Hochmair M. Receptor tyrosine kinase expression of circulating tumor cells in small cell lung cancer // *Oncoscience*. 2015;2(7):629-634. DOI: 10.18632/oncoscience.179.
6. Karachaliou N., Gimenez-Capitan A., Drozdowskyj A. et al. ROR1 as a novel therapeutic target for EGFR-mutant non-small-cell lung cancer patients with the EGFR T790M mutation // *Transl. Lung Cancer Res.* 2014;3(3):122-130. DOI: 10.3978/j.issn.2218-6751.2014.03.02.
7. Hudecek M., Schmitt T.M., Baskar S. et al. The B-cell tumor-associated antigen ROR1 can be targeted with T cells modified to express a ROR1-specific chimeric antigen receptor // *Blood*. 2010;116(22):4532-4541. DOI: 10.1182/blood-2010-05-283309.
8. Baskar S., Kwong K.Y., Hofer T. et al. Unique cell surface expression of receptor tyrosine kinase ROR1 in human B-cell chronic lymphocytic leukemia // *Clin. Cancer Res.* 2008;14(2):396-404. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-07-1823.
9. Balakrishnan A., Goodpaster T., Randolph-Habecker J. et al. Analysis of ROR1 protein expression in human cancer and normal tissues // *Clin. Cancer Res.* 2017;23(12):3061-3071. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-16-2083.
10. Li C., Wang S., Xing Z. et al. A ROR1-HER3-lncRNA signalling axis modulates the Hippo-YAP pathway to regulate bone metastasis // *Nat. Cell Biol.* 2017;19(2):106-119. DOI: 10.1038/ncb3464.
11. Pandey G., Borcherding N., Kolb R. et al. ROR1 potentiates FGFR signaling in basal-like breast cancer // *Cancers (Basel)*. 2019;11(5):718. DOI: 10.3390/cancers11050718.
12. Hasan M.K., Widhopf G.F. 2nd, Zhang S. et al. Wnt5a induces ROR1 to recruit cortactin to promote breast-cancer migration and metastasis // *NPJ Breast Cancer*. 2019;5:35. DOI: 10.1038/s41523-019-0131-9.
13. Bhattacharya R., Mustafi S.B., Street M. et al. Bmi-1: At the crossroads of physiological and pathological biology // *Genes Dis.* 2015;2(3):225-239. DOI: 10.1016/j.gendis.2015.04.001.
14. Liu Y., Liu F., Yu H. et al. Akt phosphorylates the transcriptional repressor Bmi1 to block its effects on the

## REFERENCES

1. Liu Y., Yang H., Chen T. et al. Silencing of receptor tyrosine kinase ROR1 inhibits tumor-cell proliferation via PI3K/AKT/mTOR signaling pathway in lung adenocarcinoma. *PLoS One*. 2015;10(5):e0127092. DOI: 10.1371/journal.pone.0127092.
2. Chien H.P., Ueng S.H., Chen S.C. et al. Expression of ROR1 has prognostic significance in triple negative breast cancer. *Virchows Archiv*. 2016;468(5):589-595. DOI: 10.1007/s00428-016-1911-3.
3. Zhang S., Cui B., Lai H. et al. Ovarian cancer stem cells express ROR1, which can be targeted for anti-cancer-stem-cell therapy. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 2014;111(48):17266-17271. DOI: 10.1073/pnas.1419599111.
4. Dave H., Anver M.R., Butcher D.O. et al. Restricted cell surface expression of receptor tyrosine kinase ROR1 in pediatric B-lineage acute lymphoblastic leukemia suggests targetability with therapeutic monoclonal antibodies. *PLoS One*. 2012;7(12):e52655. DOI: 10.1371/journal.pone.0052655.
5. Hamilton G., Rath B., Klameth L., Hochmair M. Receptor tyrosine kinase expression of circulating tumor cells in small cell lung cancer. *Oncoscience*. 2015;2(7):629-634. DOI: 10.18632/oncoscience.179.
6. Karachaliou N., Gimenez-Capitan A., Drozdowskyj A. et al. ROR1 as a novel therapeutic target for EGFR-mutant non-small-cell lung cancer patients with the EGFR T790M mutation. *Transl. Lung Cancer Res.* 2014;3(3):122-130. DOI: 10.3978/j.issn.2218-6751.2014.03.02.
7. Hudecek M., Schmitt T.M., Baskar S. et al. The B-cell tumor-associated antigen ROR1 can be targeted with T cells modified to express a ROR1-specific chimeric antigen receptor. *Blood*. 2010;116(22):4532-4541. DOI: 10.1182/blood-2010-05-283309.
8. Baskar S., Kwong K.Y., Hofer T. et al. Unique cell surface expression of receptor tyrosine kinase ROR1 in human B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Clin. Cancer Res.* 2008;14(2):396-404. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-07-1823.
9. Balakrishnan A., Goodpaster T., Randolph-Habecker J. et al. Analysis of ROR1 protein expression in human cancer and normal tissues. *Clin. Cancer Res.* 2017;23(12):3061-3071. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-16-2083.
10. Li C., Wang S., Xing Z. et al. A ROR1-HER3-lncRNA signalling axis modulates the Hippo-YAP pathway to regulate bone metastasis. *Nat. Cell Biol.* 2017;19(2):106-119. DOI: 10.1038/ncb3464.
11. Pandey G., Borcherding N., Kolb R. et al. ROR1 potentiates FGFR signaling in basal-like breast cancer. *Cancers (Basel)*. 2019;11(5):718. DOI: 10.3390/cancers11050718.
12. Hasan M.K., Widhopf G.F. 2nd, Zhang S. et al. Wnt5a induces ROR1 to recruit cortactin to promote breast-cancer migration and metastasis. *NPJ Breast Cancer*. 2019;5:35. DOI: 10.1038/s41523-019-0131-9.
13. Bhattacharya R., Mustafi S.B., Street M. et al. Bmi-1: At the crossroads of physiological and pathological biology. *Genes Dis.* 2015;2(3):225-239. DOI: 10.1016/j.gendis.2015.04.001.
14. Liu Y., Liu F., Yu H. et al. Akt phosphorylates the transcriptional repressor Bmi1 to block its effects on the

tumor-suppressing *INK4a-ARF* locus // *Sci Signal*. 2012;5(247):ra77. DOI: 10.1126/scisignal.2003199.

- 15. Guo B.H., Feng Y., Zhang R. et al. Bmi-1 promotes invasion and metastasis, and its elevated expression is correlated with an advanced stage of breast cancer // *Mol. Cancer*. 2011;10(1):10. DOI: 10.1186/1476-4598-10-10.
- 16. Liu J.Y., Jiang Y.N., Huang H. et al. BMI-1 promotes breast cancer proliferation and metastasis through different mechanisms in different subtypes // *Cancer Sci*. 2023;114(2):449-462. DOI: 10.1111/cas.15623.
- 17. Kim W.Y., Sharpless N.E. The regulation of *INK4/ARF* in cancer and aging // *Cell*. 2006;127(2):265-275. DOI: 10.1016/j.cell.2006.10.003.
- 18. Wang Y., Jin W., Jia X. et al. Transcriptional repression of CDKN2D by PML/RAR $\alpha$  contributes to the altered proliferation and differentiation block of acute promyelocytic leukemia cells // *Cell Death Dis*. 2014;5(10):e1431. DOI: 10.1038/cddis.2014.388.
- 19. Garcia-Recio S., Thennavan A., East M.P. et al. FGFR4 regulates tumor subtype differentiation in luminal breast cancer and metastatic disease // *J. Clin. Invest*. 2020;130(9):4871-4887. DOI: 10.1172/JCI130323.

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

**Тараканова Валерия Олеговна** – младший научный сотрудник НИИ онкологии Томского национального исследовательского медицинского центра Российской академии наук; ассистент кафедры онкологии ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Томск, Россия. SPIN-код: 9986-7494. Scopus Author ID: 869234. ORCID: 0000-0001-9472-017X.

**Крахмаль Надежда Валерьевна** – канд. мед. наук, доцент, старший научный сотрудник отделения общей и молекулярной патологии НИИ онкологии Томского национального исследовательского медицинского центра Российской академии наук; доцент кафедры патологической анатомии ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Томск, Россия. SPIN-код: 1543-6546. Researcher ID: S-3799-2016. Scopus Author ID: 56678622400. ORCID: 0000-0002-1909-1681.

**Бабышкина Наталья Николаевна** – д-р мед. наук, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной онкологии и иммунологии НИИ онкологии Томского национального исследовательского медицинского центра Российской академии наук; доцент кафедры биохимии и молекулярной биологии с курсом клинической лабораторной диагностики ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Томск, Россия. SPIN-код: 2738-9275. Scopus Author ID: 26641099700. Researcher ID: A-7526-2012. ORCID: 0000-0002-0562-3878.

**Вторушин Сергей Владимирович** – д-р мед. наук, руководитель отделения общей и молекулярной патологии НИИ онкологии Томского национального исследовательского медицинского центра Российской академии наук; профессор кафедры патологической анатомии ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Томск, Россия. SPIN-код: 2442-4720. Researcher ID: S-3789-2016. Scopus Author ID: 26654562300. ORCID: 0000-0002-1195-4008.

the tumor-suppressing *INK4a-ARF* locus. *Sci Signal*. 2012;5(247):ra77. DOI: 10.1126/scisignal.2003199.

- 15. Guo B.H., Feng Y., Zhang R. et al. Bmi-1 promotes invasion and metastasis, and its elevated expression is correlated with an advanced stage of breast cancer. *Mol. Cancer*. 2011;10(1):10. DOI: 10.1186/1476-4598-10-10.
- 16. Liu J.Y., Jiang Y.N., Huang H. et al. BMI-1 promotes breast cancer proliferation and metastasis through different mechanisms in different subtypes. *Cancer Sci*. 2023;114(2):449-462. DOI: 10.1111/cas.15623.
- 17. Kim W.Y., Sharpless N.E. The regulation of *INK4/ARF* in cancer and aging. *Cell*. 2006;127(2):265-275. DOI: 10.1016/j.cell.2006.10.003.
- 18. Wang Y., Jin W., Jia X. et al. Transcriptional repression of CDKN2D by PML/RAR $\alpha$  contributes to the altered proliferation and differentiation block of acute promyelocytic leukemia cells. *Cell Death Dis*. 2014;5(10):e1431. DOI: 10.1038/cddis.2014.388.
- 19. Garcia-Recio S., Thennavan A., East M.P. et al. FGFR4 regulates tumor subtype differentiation in luminal breast cancer and metastatic disease. *J. Clin. Invest*. 2020;130(9):4871-4887. DOI: 10.1172/JCI130323.

## ABOUT THE AUTHORS

**Valeria O. Tarakanova** – Junior Researcher, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences; Assistant, Department of Oncology, Siberian State Medical University, Tomsk, Russia. SPIN-code: 9986-7494. Scopus Author ID: 869234. ORCID: 0000-0001-9472-017X.

**Nadezhda V. Krakhmal'** – Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Senior Researcher, Department of General and Molecular Pathology, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences; Associate Professor, Department of Pathological Anatomy, Siberian State Medical University, Tomsk, Russia. SPIN-code: 1543-6546. Researcher ID: S-3799-2016. Scopus Author ID: 56678622400. ORCID: 0000-0002-1909-1681.

**Nataliya N. Babyshkina** – Dr. Sci. (Med.), Senior Researcher, Laboratory of Molecular Oncology and Immunology, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences; Associate Professor, Department of Biochemistry and Molecular Biology with a course of Laboratory Diagnostics, Siberian State Medical University, Tomsk, Russia. SPIN-code: 2738-9275. Scopus Author ID: 26641099700. Researcher ID: A-7526-2012. ORCID: 0000-0002-0562-3878.

**Sergey V. Vtorushin** – Dr. Sci. (Med.), Head, Department of General and Molecular Pathology, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences; Professor, Department of Pathological Anatomy, Siberian State Medical University, Tomsk, Russia. SPIN-code: 2442-4720. Researcher ID: S-3789-2016. Scopus Author ID: 26654562300. ORCID: 0000-0002-1195-4008.

## Состояние обмена липидов при хронической интоксикации тяжелыми металлами на фоне экспериментального атеросклероза

Р.И. Ибрагимов

Научно-исследовательский центр Азербайджанского медицинского университета, Баку, Азербайджан

### АННОТАЦИЯ

Введение. Данные литературы последних лет показывают, что воздействие тяжелых металлов является важным и недооцененным фактором риска, связанным с развитием атеросклероза и его последствий.

Цель. Изучение влияния хронической интоксикации солями различных тяжелых металлов (сульфат кадмия, нитрат никеля и нитрат кобальта) на показатели липидного обмена при экспериментальном атеросклерозе.

Материалы и методы. Эксперименты проводились на 110 белых беспородных крысах-самцах. Атеросклероз моделировался по И.В. Савицкому. После моделирования атеросклероза животные подвергались хроническому воздействию солей тяжелых металлов (сульфат кадмия – 1 мг/кг, нитрат никеля – 2 мг/кг и нитрат кобальта – 2 мг/кг) через питьевую воду в течение 60 сут в четырех опытных сериях. Группой сравнения служили животные в исходном состоянии. Для оценки состояния липидного обмена изучали уровень общего холестерина (ОХ), триглицеридов (ТГ), липопротеидов низкой плотности (ЛПНП), липопротеидов высокой плотности (ЛПВП) и значения коэффициента атерогенности (КА).

Результаты. После интоксикации различными тяжелыми металлами экспериментальных крыс с модифицированным атеросклерозом отмечается выраженное усугубление нарушений липидного обмена – значительное увеличение уровня ОХ, ТГ, ЛПНП и КА с одновременным снижением уровня ЛПВП в сыворотке крови. Максимальные изменения изученных показателей липидного обмена отмечаются к 60-м суткам после интоксикации на фоне экспериментального атеросклероза.

Заключение. Длительное воздействие тяжелых металлов (сульфата кадмия, нитрата никеля и нитрата кобальта) усугубляет нарушения липидного обмена, имеющие место при экспериментальном атеросклерозе. По степени выраженности патологических сдвигов в убывающем порядке следуют: сульфат кадмия → нитрат никеля → нитрат кобальта. Несмотря на то, что кобальт является одним из необходимых микроэлементов, его длительное поступление также приводит к усугублению нарушений липидного обмена при экспериментальном атеросклерозе.

**Ключевые слова:** экспериментальный атеросклероз, тяжелые металлы, обмен липидов.

**Образец цитирования:** Ибрагимов Р.И. Состояние обмена липидов при хронической интоксикации тяжелыми металлами на фоне экспериментального атеросклероза // Journal of Siberian Medical Sciences. 2024;8(1):100-112. DOI: 10.31549/2542-1174-2024-8-1-100-112

## Lipid metabolism during long-term exposure to heavy metals in experimental atherosclerosis

R.I. Ibragimov

Scientific Research Center, Azerbaijan Medical University, Baku, Azerbaijan

### ABSTRACT

**Introduction.** Recent literature shows that exposure to heavy metals is an important and underestimated risk factor related to the development of atherosclerosis and its consequences.

Поступила в редакцию 14.01.2024  
Прошла рецензирование 27.01.2024  
Принята к публикации 10.02.2024

Автор, ответственный за переписку  
Ибрагимов Рашад Ибрагим: Научно-исследовательский центр Азербайджанского медицинского университета. AZ 1022, Азербайджан, г. Баку, ул. Анвера Гасымзаде, 14.  
E-mail: iri-71@mail.ru

Received 14.01.2024  
Revised 27.01.2024  
Accepted 10.02.2024

*Corresponding author*  
Rashad I. Ibragimov: Scientific Research Center, Azerbaijan Medical University, 14, Anver Gasymzade str., Baku, AZ 1022, Azerbaijan.  
E-mail: iri-71@mail.ru

Aim. To study the effect of chronic intoxication with different heavy metal salts (cadmium sulfate, nickel nitrate, and cobalt nitrate) on lipid metabolism in experimental atherosclerosis.

Materials and methods. The experiments were conducted on 110 outbred male albino rats. Atherosclerosis was modeled according to I.V. Savitsky. After modeling atherosclerosis, the animals were chronically exposed to heavy metal salts (cadmium sulfate – 1 mg/kg, nickel nitrate – 2 mg/kg and cobalt nitrate – 2 mg/kg) via drinking water for 60 days in four experimental series. The comparison group consisted of intact animals. To assess lipid metabolism, total cholesterol (TCH), triglycerides (TG), low-density lipoproteins (LDL), high-density lipoproteins (HDL) and the values of the atherogenic coefficient (AC) were determined.

Results. After intoxication with various heavy metals of rats with modeled atherosclerosis, a marked aggravation of lipid metabolism disturbances – a significant increase in the level of TCH, TG, LDL and AC with a simultaneous decrease in the level of HDL in the blood serum is revealed. The maximal changes in the parameters of lipid metabolism are observed by the 60th day after intoxication in experimental atherosclerosis.

Conclusion. Long-term exposure to heavy metals (cadmium sulfate, nickel nitrate and cobalt nitrate) exacerbates lipid metabolism disorders occurring in experimental atherosclerosis. According to the severity of pathological changes, the following are in descending order: cadmium sulfate → nickel nitrate → cobalt nitrate. Despite the fact that cobalt is one of the essential microelements, long-term exposure to it also leads to an aggravation of lipid metabolism disorders in experimental atherosclerosis.

**Keywords:** experimental atherosclerosis, heavy metals, lipid metabolism.

**Citation example:** Ibragimov R.I. Lipid metabolism during chronic exposure to heavy metals in experimental atherosclerosis. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2024;8(1):100-112. DOI: 10.31549/2542-1174-2024-8-1-100-112

## ВВЕДЕНИЕ

Как известно, атеросклероз является патологической основой множества сердечно-сосудистых и цереброваскулярных заболеваний, распространенность которых в мире неуклонно растет. Долгосрочные последствия атеросклероза остаются основной причиной смертности в развитых и развивающихся странах [1–5]. Согласно статистическим данным от сердечно-сосудистых заболеваний только в 2019 г. умерли 18.6 млн чел. и 34.4 млн стали инвалидами [3]. Считается, что атеросклероз медленно развивается на всех этапах жизни человека, и в его патогенезе участвует множество факторов, включая генетические факторы и факторы окружающей среды [6].

Анализ литературы последних лет показывает, что воздействие тяжелых металлов является важным и недооцененным фактором риска, связанным с развитием атеросклероза и его последствий [7–11].

Исследование 2023 г. показало, что воздействие низких доз кадмия является фактором риска атеросклероза сосудов из-за повышения уровня фактора Виллебранда в плазме [12]. В клинических исследованиях показано, что воздействие кадмия связано с развитием субклинического атеросклероза в сонных и бедренных артериях в популяционной выборке женщин среднего возраста ( $n = 599$ ), у которых измерялся уровень кадмия в крови [13]. B. Fagerberg et al.

## INTRODUCTION

As is known, atherosclerosis is the pathological basis of many cardiovascular and cerebrovascular diseases, the prevalence of which is growing worldwide. The long-term effects of atherosclerosis remain the main cause of death in developed and developing countries [1–5]. According to statistics, 18.6 mln people died from cardiovascular diseases in 2019 alone and 34.4 mln became disabled [3]. It is believed that atherosclerosis develops slowly at all stages of human life, and various factors are involved in its pathogenesis, including genetic and environmental factors [6].

An analysis of the literature in recent years shows that exposure to heavy metals is an important and underestimated risk factor associated with the development of atherosclerosis and its consequences [7–11].

A study of 2023 revealed that exposure to low doses of cadmium is a risk factor for vascular atherosclerosis due to von Willebrand factor increase in plasma [12]. Clinical studies have shown that cadmium exposure is associated with the development of subclinical atherosclerosis in the carotid and femoral arteries in a population sample of middle-aged women ( $n = 599$ ), in whom blood cadmium was measured [13]. Fagerberg et al. has been shown that in a cohort of 64-year-old women who had never smoked, blood cadmium levels also correlate positively with plaque area, and the authors believe that cadmium is

показали, что в когорте 64-летних никогда не куривших женщин уровень кадмия в крови также положительно коррелирует с размерами атеросклеротических бляшек, и авторы считают, что кадмий является независимым фактором, связанным с развитием бляшек, и подчеркивают необходимость учета кадмия как проатерогенного поллютанта [14].

Вышеотмеченные факты диктуют необходимость дальнейших исследований влияния тяжелых металлов для улучшения понимания механизмов развития атеросклероза с целью разработки новых лечебно-диагностических стратегий лечения и профилактики при данной патологии.

## ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучение влияния хронической интоксикации солями различных тяжелых металлов (сульфат кадмия, нитрат никеля и нитрат кобальта) на показатели липидного обмена при экспериментальном атеросклерозе.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперименты проводились на 110 белых беспородных крысах-самцах массой 200–250 г в пяти сериях по 10 животных на каждый срок исследования (табл. 1). Группой сравнения являлись животные в исходном состоянии. Животные содержались в стандартных условиях вивария

an independent factor associated with plaque formation, and emphasize the need to consider cadmium as a pro-atherogenic pollutant [14].

The abovementioned necessitates further study on the influence of heavy metals to improve understanding of the mechanisms of atherosclerosis development in order to work out new therapeutic and diagnostic strategies for the treatment and prevention of this pathology.

## AIM OF THE RESEARCH

To study the effect of chronic intoxication with different heavy metal salts (cadmium sulfate, nickel nitrate, and cobalt nitrate) on lipid metabolism in experimental atherosclerosis.

## MATERIALS AND METHODS

The experiments were carried out on 110 outbred male albino rats weighing 200–250 g in five series of 10 animals for each time period (Table 1). The comparison group was presented by animals in the baseline condition. The animals were kept in standard vivarium conditions with natural light and free access to water and food. The experiments were conducted in strict compliance with the requirements of the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and Other Scientific Purposes (Strasbourg, 1986) [15] on the care of experimental animals, as well as their removal from the experiment and subsequent disposal. This

**Таблица 1.** Сводные данные по сериям экспериментов (количество животных)  
**Table 1.** Summary of the series of experiments (number of animals)

№ п/п	Серия Series	Интактное состояние Baseline	После модели- рования атеросклероза After atherosclerosis modeling	После интоксикации на фоне атеросклероза, сутки After intoxication following atherosclerosis modeling, day		
				15-е 15th	30-е 30th	60-е 60th
1	Интактное состояние (контроль) Intact animals (control)	10	–	–	–	–
2	Моделирование атеросклероза Atherosclerosis modeling	–	10	–	–	–
3	Хроническая интоксикация сульфатом кадмия после моделирования атеросклероза Chronic intoxication with cadmium sulfate after atherosclerosis modeling	–	–	10	10	10
4	Хроническая интоксикация нитратом никеля после моделирования атеросклероза Chronic intoxication with nickel nitrate after atherosclerosis modeling	–	–	10	10	10
5	Хроническая интоксикация нитратом кобальта после моделирования атеросклероза Chronic intoxication with cobalt nitrates after atherosclerosis modeling	–	–	10	10	10

при естественном освещении и свободном доступе к воде и пище. Эксперименты проводились со строгим соблюдением требований Европейской конвенции (Страсбург, 1986) [15] по содержанию, кормлению и уходу за подопытными животными, а также выводу их из эксперимента и последующей утилизации. Данное исследование одобрено Этическим комитетом Азербайджанского медицинского университета.

Модель атеросклероза создавалась по И.В. Савицкому с соавт. (2016) [16], на основе полиэтиологической теории развития атеросклероза. Моделирование проводилось на крысах-самцах, которые получали антитиреоидный препарат мерказолил в дозировке 25 мг/кг массы тела, иммуносупрессивный препарат метилпреднизолон в дозировке 0.17 мг/кг массы тела животного и 15% водный раствор этилового спирта в свободном доступе вместо воды на фоне атерогенной диеты в течение 2 нед.

После моделирования атеросклероза животные подвергались хроническому воздействию солей тяжелых металлов через питьевую воду в течение 60 дней. Маточный раствор соли тяжелого металла рассчитывался по формуле

$$A = X \cdot B \cdot C,$$

где X – коэффициент, равный 6.77;

B – средняя масса тела крысы;

C – среднесуточное потребление воды животными.

Для интоксикации использованы следующие водорастворимые соли тяжелых металлов: сульфат кадмия (1 мг/кг), нитрат никеля (2 мг/кг) и нитрат кобальта (2 мг/кг). По окончании эксперимента животных выводили из опыта путем декапитации на фоне тиопенталового наркоза с последующим взятием цельной крови для биохимических анализов.

Состояние липидного обмена оценивалось в исходном состоянии, по истечении 2 нед для подтверждения атеросклеротических изменений и соответственно на 15, 30 и 60-е сут после интоксикации на фоне экспериментального атеросклероза. Для этого у крыс забиралась кровь для определения общего холестерина (ОХ), липопротеидов высокой плотности (ЛПВП), липопротеидов низкой плотности (ЛПНП) и триглицеридов (ТГ). Показатели липидного обмена в сыворотке крови определяли энзиматическим методом с использованием стандартных наборов Human на биохимическом анализаторе BioScreen MS-2000 (США). Также рассчитывали коэффициент атерогенности (КА) по формуле

study was approved by the Ethics Committee of the Azerbaijan Medical University.

The model of atherosclerosis was created according to I.V. Savitsky et al. (2016) [16], based on the polyethiological theory of atherosclerosis development. The modeling was performed on male rats who received the antithyroid drug, mercazolil at a dose of 25 mg/kg body weight, the immunosuppressive drug, methylprednisolone at a dose of 0.17 mg/kg body weight, and a 15% aqueous ethanol solution in free access instead of water, in presence of atherogenic diet for 2 weeks.

After modeling atherosclerosis, the animals were chronically exposed to heavy metal salts through drinking water for 60 days. A stock solution of heavy metal salt was calculated using the formula

$$A = X \cdot B \cdot C,$$

where X – coefficient equal to 6.77;

B – mean body weight of a rat;

C – mean daily water consumption by animals.

The following water-soluble salts of heavy metals were used for intoxication: cadmium sulfate (1 mg/kg), nickel nitrate (2 mg/kg) and cobalt nitrate (2 mg/kg). At the end of the experiment, the animals were removed from the experiment by decapitation under anesthesia with thiopental, followed by taking whole blood for biochemistry.

Lipid metabolism was assessed at baseline, after 2 weeks to confirm atherosclerotic changes, and on the 15th, 30th and 60th days, respectively, after intoxication in experimental atherosclerosis. For these purposes, blood was taken from rats to determine total cholesterol (TCH), high-density lipoproteins (HDL), low-density lipoproteins (LDL) and triglycerides (TG). These parameters were determined by the enzymatic method using standard Human kits on a BioScreen MS-2000 chemistry analyzer (USA). Besides, the atherogenic coefficient (AC) was calculated using the formula

$$AC = TCH - LDL / HDL.$$

The statistical processing of the results was performed using Microsoft Excel spreadsheets and IBM SPSS Statistics software. As a parametric test was used the Student's *t*-test, and the Mann-Whitney and the Wilcoxon tests were used as nonparametric tests.

## RESULTS AND DISCUSSION

The results of the study of lipid metabolism parameters after modeling and, accordingly, after intoxication with heavy metal salts in experimental atherosclerosis are presented in Tables 2–4 and Fig. 1–3.

КА = ОХ – ЛПНП / ЛПВП.

Статистическую обработку полученных результатов проводили на персональном компьютере – в электронном табличном редакторе Microsoft Excel, а обработку результатов – с помощью программы IBM SPSS Statistics. Из параметрических критериев вычисляли критерий Стьюдента, а из непараметрических – критерий Манна – Уитни и критерий Вилкоксона.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследования показателей липидного обмена после моделирования и соответственно после интоксикации солями тяжелых металлов на фоне экспериментального атеросклероза представлены в табл. 2–4 и на рис. 1–3.

Как видно из табл. 2–4, после моделирования атеросклероза показатели липидного обмена в сыворотке крови подвергались изменениям. Содержание ОХ и ТГ в сыворотке крови по сравнению с исходным уровнем после моделирования атеросклероза повышалось в среднем на 29 и 10 % соответственно. Уровень ЛПНП возрастал в среднем на 60 %, с параллельным снижением содержания ЛПВП на 16 % ( $p < 0.05$ ). Указанные изменения сопровождались ростом КА более чем в 2 раза.

После начала интоксикации солями различных тяжелых металлов на фоне экспериментального атеросклероза показатели липидного обмена претерпевали еще более выраженные изменения, находящиеся в прямо пропорциональной зависимости от длительности интоксикации. Так, через 15 сут интоксикации сульфатом кадмия уровень ОХ, ТГ и ЛПНП возрастал в среднем на 38 % ( $p < 0.05$ ), 21 и 96 % ( $p < 0.01$ ) соответственно по сравнению с исходными данными (см. табл. 2). Содержание ЛПВП было меньше, чем исходно, на 21 %, а КА был повышен более чем в 4.2 раза. Спустя 30 и 60 сут после интоксикации сульфатом кадмия содержание ОХ было больше, чем у животных в исходном состоянии, на 44 % ( $p < 0.05$ ) и 54 % ( $p < 0.01$ ) соответственно, а уровень ТГ повышался на 37 и 42 % соответственно. Уровень ЛПНП на 30-е и 60-е сутки интоксикации вырос в среднем в 2.2 и 2.8 раза соответственно по сравнению с исходными данными. Параллельно регистрировалось снижение уровня ЛПВП на 35 % ( $p < 0.05$ ) и 37 % ( $p < 0.01$ ), а КА был выше, чем исходно, в 5.3 раза и 6 раз на 30-е и 60-е сутки исследования соответственно.

Интоксикация нитратом кобальта приводила к следующим изменениям липидного обмена

As can be seen from Table 2–4, after modeling atherosclerosis, parameters of lipid metabolism have changed. After atherosclerosis modeling, the content of TCH and TG in the blood serum increased by an average of 29 and 10%, respectively, compared with the baseline level. The LDL level increased by an average of 60%, with a simultaneous decrease in HDL content by 16% ( $p < 0.05$ ). These changes were accompanied by at least 2 times increase in AC.

After the beginning of intoxication phase with various heavy metal salts in experimental atherosclerosis, the parameters of lipid metabolism had undergone more pronounced changes, which are positively associated with the duration of intoxication. Thus, after 15 days of intoxication with cadmium sulfate, the level of TCH, TG and LDL increased by an average of 38% ( $p < 0.05$ ), 21 and 96% ( $p < 0.01$ ), respectively, compared with the baseline data (Table 2). The HDL content was 21% lower than at baseline, and AC was increased by more than 4.2 times. 30 and 60 days after intoxication with cadmium sulfate, the content of TCH was higher than in intact animals by 44% ( $p < 0.05$ ) and 54% ( $p < 0.01$ ), respectively, and the level of TG increased by 37 and 42%, respectively. The LDL level on the 30th and 60th days of intoxication increased by an average of 2.2 and 2.8 times, respectively, compared with the baseline data. Simultaneously, a decrease in the HDL level was recorded by 35% ( $p < 0.05$ ) and 37% ( $p < 0.01$ ), and AC was 5.3 and 6 times higher than at baseline on the 30th and 60th days of the intoxication study, respectively.

Intoxication with cobalt nitrate led to the following changes in lipid metabolism (Table 3). 15 days after intoxication start, the level of TCH and LDL increased by an average of 32% ( $p < 0.05$ ) and 67% ( $p < 0.01$ ), respectively, compared with the baseline data. The TG content did not change, but the HDL content was 26% lower than at baseline, and AC was increased by more than 3.7 times. 30 and 60 days after the beginning of intoxication, the content of TCH was higher than in the intact animals by 36% ( $p < 0.05$ ) and 42% ( $p < 0.01$ ), respectively, and the level of TG increased by 29 and 32%. The LDL level on the 30th and 60th days of intoxication increased by an average of 2 and 2.3 times, respectively, compared with the baseline values. The HDL content in these study periods decreased by 31% ( $p < 0.05$ ) and 36% ( $p < 0.01$ ), respectively, and AC was 4.3 and 5.2 times higher compared to the initial data.

Intoxication with nickel nitrate in experimental atherosclerosis led to the following changes in lipid metabolism (Table 4). On the 15th day of the intoxication study, the levels of TCH, TG and LDL increased

**Таблица 2.** Биохимические показатели липидного обмена в сыворотке крови крыс после интоксикации сульфатом кадмия на фоне экспериментального атеросклероза ( $n = 10$ ),  $M \pm m$  (min – max)

**Table 2.** Biochemical parameters of lipid metabolism in the blood serum of rats after intoxication with cadmium sulfate in experimental atherosclerosis ( $n = 10$ ),  $M \pm m$  (min – max)

Показатели Parameters	До моделирования Baseline, before modeling	После моделирования After modeling atherosclerosis	Сроки исследования после интоксикации, сут The time period after intoxication start, days		
			15-e / 15th	30-e / 30th	60-e / 60th
1	2	3	4	5	6
Общий холестерин, ммоль/л Total cholesterol, mmol/l	1.86 ± 0.16 (1.6–2.1)	2.39 ± 0.34 (1.95–2.88)	2.56 ± 0.26 (2.2–2.96)	2.68 ± 0.17 (2.4–2.9)	2.86 ± 0.18 (2.65–3.27)
критерий Стьюдента Student's t-test	–	$t = -4.314, p = 0.002$	$t = -6.255, p = 0.000$	$t = -9.717, p = 0.000$	$t = -14.125, p = 0.000$
критерий Манна – Уитни Mann-Whitney test	–	$T = 149.0, p = 0.000$	$T = 155.0, p = 0.000$	$T = 155.0, p = 0.000$	$T = 155.0, p = 0.000$
критерий Вилкоксона Wilcoxon test	–	$W = -55.0, p < 0.020$	$W = -55.0, p < 0.020$	$W = -55.0, p < 0.020$	$W = -55.0, p < 0.020$
Липопротеиды низкой плотности, ммоль/л Low-density lipoproteins, mmol/l	0.17 ± 0.026 (0.12–0.21)	0.27 ± 0.031 (0.22–0.31)	0.33 ± 0.027 (0.29–0.38)	0.37 ± 0.034 (0.33–0.42)	0.46 ± 0.013 (0.44–0.48)
критерий Стьюдента Student's t-test	–	$t = -6.776, p = 0.000$	$t = -12.434, p = 0.000$	$t = -16.474, p = 0.000$	$t = -27.216, p = 0.000$
критерий Манна – Уитни Mann-Whitney test	–	$T = 155.0, p = 0.000$	$T = 155.0, p = 0.000$	$T = 155.0, p = 0.000$	$T = 155.0, p = 0.000$
критерий Вилкоксона Wilcoxon test	–	$W = -55.0, p < 0.020$	$W = -55.0, p < 0.020$	$W = -55.0, p < 0.020$	$W = -55.0, p < 0.020$
Липопротеиды высокой плотности, ммоль/л High-density lipoproteins, mmol/l	1.33 ± 0.129 (1.16–1.55)	1.12 ± 0.096* (0.93–1.21)	0.97 ± 0.11*** (0.81–1.1)	0.86 ± 0.055*** (0.78–0.94)	0.83 ± 0.049*** (0.77–0.92)
критерий Стьюдента Student's t-test	–	$t = 3.693, p = 0.005$	$t = 6.725, p = 0.000$	$t = 11.086, p = 0.000$	$t = 11.965, p = 0.000$
критерий Манна – Уитни Mann-Whitney test	–	$T = 60.0, p = 0.000$	$T = 55.0, p = 0.000$	$T = 55.0, p = 0.000$	$T = 55.0, p = 0.000$
критерий Вилкоксона Wilcoxon test	–	$W = 55.0, p < 0.020$	$W = 55.0, p < 0.020$	$W = 55.0, p < 0.020$	$W = 55.0, p < 0.020$
Триглицериды, ммоль/л Triglycerides, mmol/l	0.43 ± 0.056 (0.35–0.51)	0.47 ± 0.066* (0.39–0.58)	0.52 ± 0.068** (0.38–0.61)	0.59 ± 0.057*** (0.48–0.69)	0.61 ± 0.043*** (0.55–0.68)
критерий Стьюдента Student's t-test	–	$t = -2.169, p = 0.058$	$t = -3.559, p = 0.006$	$t = -6.647, p = 0.000$	$t = -7.860, p = 0.000$
критерий Манна – Уитни Mann-Whitney test	–	$T = 123.0, p = 0.183$	$T = 138.0, p = 0.014$	$T = 152.5, p = 0.000$	$T = 155.0, p = 0.000$
критерий Вилкоксона Wilcoxon test	–	$W = -25.0, p < 0.046$	$W = -52.0, p < 0.020$	$W = -55.0, p < 0.020$	$W = -55.0, p < 0.020$

Окончание табл. 2 / Ending of Table 2

1	2	3	4	5	6
Коэффициент атерогенности	0.40 ± 0.113 (0.17-0.61)	1.167 ± 0.29*** (0.72-1.63)	1.67 ± 0.36*** (1.21-2.395)	2.13 ± 0.31*** (1.64-2.52)	2.44 ± 0.17*** (2.09-2.64)
Atherogenic coefficient					
критерий Стьюдента	$t = -7.346, p = 0.000$	$t = -11.017, p = 0.000$	$t = -16.820, p = 0.000$	$t = -26.872, p = 0.000$	
Student's <i>t</i> -test					
критерий Манна – Уитни	$T = 155.0, p = 0.000$	$T = 155.0, p = 0.000$	$T = 155.0, p = 0.000$	$T = 155.0, p = 0.000$	
Mann-Whitney test					
критерий Вилкоксона	$W = -55.0, p < 0.020$	$W = -55.0, p < 0.020$	$W = -55.0, p < 0.020$	$W = -55.0, p < 0.020$	
Wilcoxon test					

\* $p = 0.005$ ; \*\* $p = 0.002$ ; \*\*\* $p = 0.000$ .

**Таблица 3.** Биохимические показатели липидного обмена в сыворотке крови крыс после интоксикации нитратом кобальта на фоне экспериментального атеросклероза ( $n = 10$ ),  $M \pm m$  (min – max)  
**Table 3.** Biochemical parameters of lipid metabolism in the blood serum of rats after intoxication with cobalt nitrate in experimental atherosclerosis ( $n = 10$ ),  $M \pm m$  (min–max)

Показатели Parameters	До моделирования Baseline, before modeling	После моделирования After modeling atherosclerosis	Сроки исследования после интоксикации, сут The time period after intoxication start, days		
			15-e / 15th	30-e / 30th	60-e / 60th
1	2	3	4	5	6
Общий холестерин, ммоль/л	1.86 ± 0.16 (1.6-2.1)	2.39 ± 0.34 (1.95-2.88)	2.443 ± 0.14 (2.2-2.6)	2.52 ± 0.14 (2.3-2.74)	2.63 ± 0.19 (2.5-3.1)
Total cholesterol, mmol/l					
критерий Стьюдента	–	$t = -4.314, p = 0.002$	$t = -7.932, p = 0.000$	$t = -10.644, p = 0.000$	$t = -11.461, p = 0.000$
Student's <i>t</i> -test					
критерий Манна – Уитни	–	$T = 149.0, p = 0.000$	$T = 155.0, p = 0.000$	$T = 155.0, p = 0.000$	$T = 155.0, p = 0.000$
Mann-Whitney test					
критерий Вилкоксона	–	$W = -55.0, p < 0.020$	$W = -55.0, p < 0.020$	$W = -55.0, p < 0.020$	$W = -55.0, p < 0.020$
Wilcoxon test					
Липопротеиды низкой плотности, ммоль/л	0.17 ± 0.026 (0.12-0.21)	0.267 ± 0.031 (0.22-0.31)	0.279 ± 0.03446 (0.21-0.31)	0.337 ± 0.027 (0.3-0.38)	0.388 ± 0.029* (0.39-0.45)
Low-density lipoproteins, mmol/l					
критерий Стьюдента	–	$t = -6.776, p = 0.000$	$t = -7.410, p = 0.000$	$t = -14.601, p = 0.000$	$t = -29.982, p = 0.000$
Student's <i>t</i> -test					
критерий Манна – Уитни	–	$T = 155.0, p = 0.000$	$T = 154.5, p = 0.000$	$T = 155.0, p = 0.000$	$T = 155.0, p = 0.000$
Mann-Whitney test					
критерий Вилкоксона	–	$W = -55.0, p < 0.020$	$W = -55.0, p < 0.020$	$W = -55.0, p < 0.020$	$W = -55.0, p < 0.020$
Wilcoxon test					
Липопротеиды высокой плотности, ммоль/л	1.328 ± 0.128 (1.16-1.55)	1.109 ± 0.096 (0.93-1.21)	0.99 ± 0.073 (0.89-1.1)	0.92 ± 0.041 (0.85-0.97)	0.85 ± 0.036 (0.81-0.91)
High-density lipoproteins, mmol/l					
критерий Стьюдента	–	$t = 3.693, p = 0.005$	$t = 7.687, p = 0.000$	$t = 9.730, p = 0.000$	$t = 12.102, p = 0.000$
Student's <i>t</i> -test					

Окончание табл. 3 / Ending of Table 3

1	2	3	4	5	6
критерий Манна – Уитни	–	T = 60.0, $p = 0.000$	T = 55.0, $p = 0.000$	T = 55.0, $p = 0.000$	T = 55.0, $p = 0.000$
Mann-Whitney test					
критерий Вилкоксона	–	W = 55.0, $p < 0.020$	W = 55.0, $p < 0.020$	W = 55.0, $p < 0.020$	W = 55.0, $p < 0.020$
Wilcoxon test					
Триглицериды, ммоль/л	0.426 ± 0.056 (0.35-0.51)	0.47 ± 0.066 (0.39-0.58)	0.464 ± 0.066 (0.35-0.55)	0.551 ± 0.055* (0.48-0.69)	0.562 ± 0.049* (0.51-0.65)
Triglycerides, mmol/l					
критерий Стьюдента	–	t = -2.169, $p = 0.058$	t = -1.739, $p = 0.116$	t = -5.502, $p = 0.000$	t = -5.520, $p = 0.000$
Student's t-test					
критерий Манна – Уитни	–	T = 123.0, $p = 0.183$	T = 126.0, $p = 0.120$	T = 152.5, $p = 0.000$	T = 153.5, $p = 0.000$
Mann-Whitney test					
критерий Вилкоксона	–	W = -25.0, $p < 0.046$	W = -32.0, $p > 0.048$	W = -55.0, $p < 0.020$	W = -55.0, $p < 0.020$
Wilcoxon test					
Коэффициент атерогенности	0.4 ± 0.11 (0.17-0.61)	1.17 ± 0.29 (0.72-1.63)	1.49 ± 0.19 (1.16-1.78)	1.75 ± 0.17 (1.48-1.98)	2.09 ± 0.19 (1.75-2.41)
Atherogenic coefficient					
критерий Стьюдента	–	t = -7.348, $p = 0.000$	t = -16.307, $p = 0.000$	t = -20.561, $p = 0.000$	t = -27.942, $p = 0.000$
Student's t-test					
критерий Манна – Уитни	–	T = 155.0, $p = 0.000$	T = 155.0, $p = 0.000$	T = 155.0, $p = 0.000$	T = 155.0, $p = 0.000$
Mann-Whitney test					
критерий Вилкоксона	–	W = -55.0, $p < 0.020$	W = -55.0, $p < 0.020$	W = -55.0, $p < 0.020$	W = -55.0, $p < 0.020$
Wilcoxon test					

\* $p = 0.000$ .

**Таблица 4.** Биохимические показатели липидного обмена в сыворотке крови крыс после интоксикации нитратом никеля на фоне экспериментального атеросклероза ( $n = 10$ ),  $M \pm m$  (min – max)

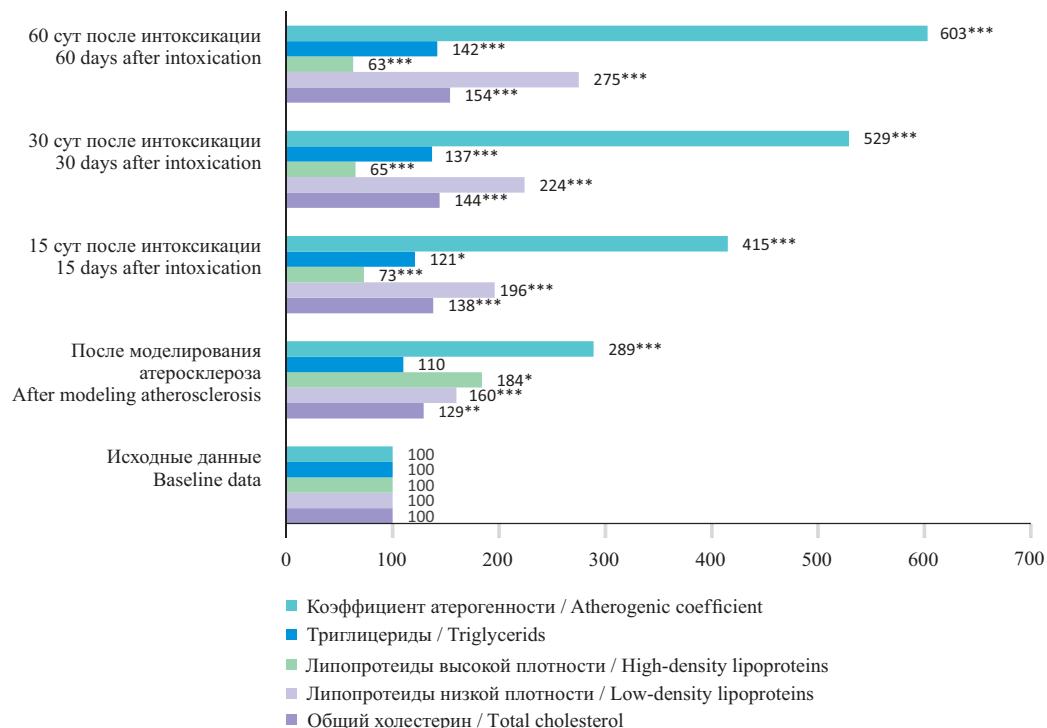
**Table 4.** Biochemical parameters of lipid metabolism in the blood serum of rats after intoxication with nickel nitrate in experimental atherosclerosis ( $n = 10$ ),  $M \pm m$  (min–max)

Показатели Parameters	До моделирования Baseline, before modeling	После моделирования After modeling atherosclerosis	Сроки исследования после интоксикации, сут The time period after intoxication start, days		
			15-e / 15th	30-e / 30th	60-e / 60th
1	2	3	4	5	6
Общий холестерин, ммоль/л	1.86 ± 0.16 (1.6-2.1)	2.397 ± 0.35 ** (1.95-2.88)	2.42 ± 0.21*** (2.1-2.7)	2.58 ± 0.16*** (2.35-2.8)	2.74 ± 0.2 *** (2.54-3.2)
Total cholesterol, mmol/l					
критерий Стьюдента	–	t = -4.314, $p = 0.002$	t = -6.906, $p = 0.000$	t = -10.722, $p = 0.000$	t = -11.287, $p = 0.000$
Student's t-test					
критерий Манна – Уитни	–	T = 149.0, $p = 0.000$	T = 154.5, $p = 0.000$	T = 155.0, $p = 0.000$	T = 155.0, $p = 0.000$
Mann-Whitney test					
критерий Вилкоксона	–	W = -55.0, $p < 0.020$	W = -55.0, $p < 0.020$	W = -55.0, $p < 0.020$	W = -55.0, $p < 0.020$
Wilcoxon test					

Окончание табл. 4 / Ending of Table 4

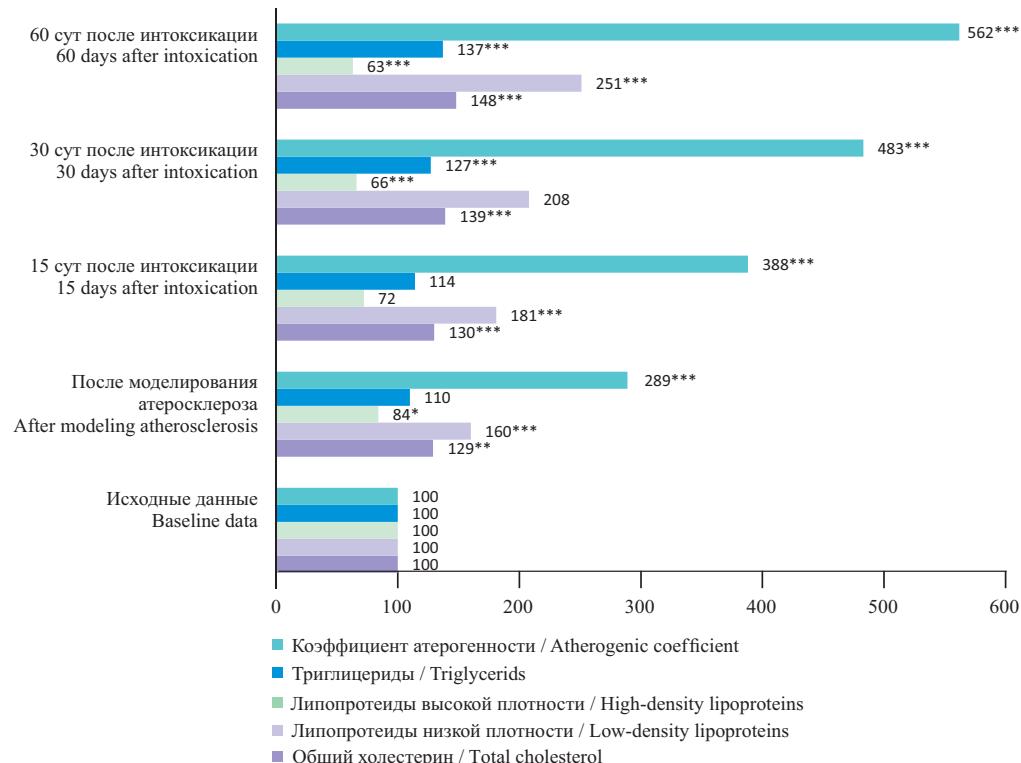
1	2	3	4	5	6
Липопротеиды низкой плотности, ммоль/л Low-density lipoproteins, mmol/l	0.17 ± 0.026 (0.12-0.21) Student's <i>t</i> -test	0.27 ± 0.031*** (0.22-0.31)	0.3 ± 0.019*** (0.26-0.33)	0.35 ± 0.03*** (0.31-0.4)	0.42 ± 0.019*** (0.39-0.45)
критерий Стьюдента	—	<i>t</i> = -6.776, <i>p</i> = 0.000	<i>t</i> = -11.478, <i>p</i> = 0.000	<i>t</i> = -18.203, <i>p</i> = 0.000	<i>t</i> = -23.955, <i>p</i> = 0.000
критерий Манна – Уитни Mann-Whitney test	—	T = 155.0, <i>p</i> = 0.000	T = 155.0, <i>p</i> = 0.000	T = 155.0, <i>p</i> = 0.000	T = 155.0, <i>p</i> = 0.000
критерий Вилкоксона Wilcoxon test	—	<i>W</i> = -55.0, <i>p</i> < 0.020	<i>W</i> = -55.0, <i>p</i> < 0.020	<i>W</i> = -55.0, <i>p</i> < 0.020	<i>W</i> = -55.0, <i>p</i> < 0.020
Липопротеиды высокой плотности, ммоль/л High-density lipoproteins, mmol/l	1.33 ± 0.129 (1.16-1.55) Student's <i>t</i> -test	1.11 ± 0.096* (0.93-1.21)	0.95 ± 0.111*** (0.8-1.1)	0.88 ± 0.05*** (0.8-0.93)	0.84 ± 0.039*** (0.8-0.9)
критерий Стьюдента	—	<i>t</i> = 3.693, <i>p</i> = 0.005	<i>t</i> = 7.290, <i>p</i> = 0.000	<i>t</i> = 10.226, <i>p</i> = 0.000	<i>t</i> = 12.630, <i>p</i> = 0.000
критерий Манна – Уитни Mann-Whitney test	—	T = 60.0, <i>p</i> = 0.000	T = 55.0, <i>p</i> = 0.000	T = 55.0, <i>p</i> = 0.000	T = 55.0, <i>p</i> = 0.000
критерий Вилкоксона Wilcoxon test	—	<i>W</i> = 55.0, <i>p</i> < 0.020	<i>W</i> = 55.0, <i>p</i> < 0.020	<i>W</i> = 55.0, <i>p</i> < 0.020	<i>W</i> = 55.0, <i>p</i> < 0.020
Триглицериды, ммоль/л Triglycerides, mmol/l	0.43 ± 0.056 (0.35-0.51) Student's <i>t</i> -test	0.47 ± 0.066 (0.39-0.58)	0.49 ± 0.062 (0.38-0.6)	0.54 ± 0.061*** (0.47-0.69)	0.58 ± 0.039*** (0.51-0.65)
критерий Стьюдента	—	<i>t</i> = -2.169, <i>p</i> = 0.058	<i>t</i> = -2.690, <i>p</i> = 0.025	<i>t</i> = -5.084, <i>p</i> = 0.000	<i>t</i> = -6.674, <i>p</i> = 0.000
критерий Манна – Уитни Mann-Whitney test	—	T = 123.0, <i>p</i> = 0.183	T = 129.5, <i>p</i> = 0.069	T = 149.5, <i>p</i> = 0.000	T = 154.5, <i>p</i> = 0.000
критерий Вилкоксона Wilcoxon test	—	<i>W</i> = -25.0, <i>p</i> < 0.046	<i>W</i> = -33.0, <i>p</i> < 0.024	<i>W</i> = -55.0, <i>p</i> < 0.020	<i>W</i> = -55.0, <i>p</i> < 0.020
Коэффициент атерогенности Atherogenic coefficient	0.4 ± 0.11 (0.17-0.61) Student's <i>t</i> -test	1.17 ± 0.29*** (0.72-1.63)	1.57 ± 0.27*** (1.16-2)	1.95 ± 0.27*** (1.61-2.41)	2.268 ± 0.23*** (1.82-2.56)
критерий Стьюдента	—	<i>t</i> = -7.348, <i>p</i> = 0.000	<i>t</i> = -13.376, <i>p</i> = 0.000	<i>t</i> = -18.240, <i>p</i> = 0.000	<i>t</i> = -23.913, <i>p</i> = 0.000
критерий Манна – Уитни Mann-Whitney test	—	T = 155.0, <i>p</i> = 0.000	T = 155.0, <i>p</i> = 0.000	T = 155.0, <i>p</i> = 0.000	T = 155.0, <i>p</i> = 0.000
критерий Вилкоксона Wilcoxon test	—	<i>W</i> = -55.0, <i>p</i> < 0.020	<i>W</i> = -55.0, <i>p</i> < 0.020	<i>W</i> = -55.0, <i>p</i> < 0.020	<i>W</i> = -55.0, <i>p</i> < 0.020

\**p* = 0.005; \*\**p* = 0.002; \*\*\**p* = 0.000.



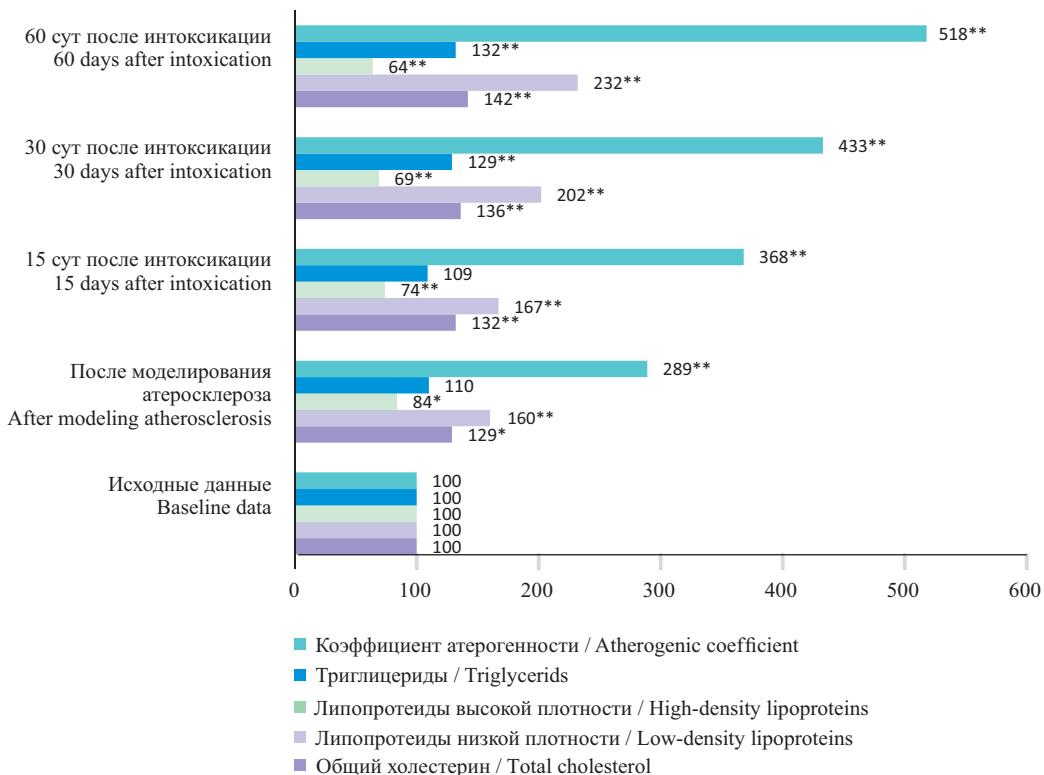
**Рис. 1.** Изменения показателей липидного обмена при интоксикации сульфатом кадмия на фоне экспериментального атеросклероза у крыс (\*  $p = 0.005$ ; \*\*  $p = 0.002$ ; \*\*\*  $p = 0.000$  в сравнении с исходными данными)

**Fig. 1.** Changes in the parameters of lipid metabolism during intoxication with cadmium sulfate in experimental atherosclerosis in rats (\*  $p = 0.005$ ; \*\*  $p = 0.002$ ; \*\*\*  $p = 0.000$  compared with the baseline data)



**Рис. 2.** Изменения показателей липидного обмена при интоксикации нитратом никеля на фоне экспериментального атеросклероза у крыс (\*  $p = 0.005$ ; \*\*  $p = 0.002$ ; \*\*\*  $p = 0.000$  в сравнении с исходными данными)

**Fig. 2.** Changes in the parameters of lipid metabolism during intoxication with nickel nitrate in experimental atherosclerosis in rats (\*  $p = 0.005$ ; \*\*  $p = 0.002$ ; \*\*\*  $p = 0.000$  compared with the baseline data)



**Рис. 3.** Изменения показателей липидного обмена при интоксикации нитратом кобальта на фоне экспериментального атеросклероза у крыс (\*  $p = 0.005$ ; \*\*  $p = 0.000$  в сравнении с исходными данными)

**Fig. 3.** Changes in the parameters of lipid metabolism during intoxication with cobalt nitrate in experimental atherosclerosis in rats (\*  $p = 0.005$ ; \*\*  $p = 0.000$  compared with the baseline data)

(см. табл. 3). Спустя 15 сут после интоксикации уровень ОХ и ЛПНП вырос в среднем на 32 % ( $p < 0.05$ ) и 67 % ( $p < 0.01$ ) соответственно по сравнению с исходными данными. Содержание ТГ не изменилось, однако содержание ЛПВП было меньше, чем исходно, на 26 %, а КА был повышен более чем в 3.7 раза. Спустя 30 и 60 сут после интоксикации содержание ОХ было больше, чем у животных в исходном состоянии, на 36 % ( $p < 0.05$ ) и 42 % ( $p < 0.01$ ) соответственно, а уровень ТГ повысился на 29 и 32 %. Уровень ЛПНП на 30-е и 60-е сутки интоксикации вырос в среднем в 2 и 2.3 раза соответственно по сравнению с исходными величинами. Содержание ЛПВП в указанные периоды исследования снижалось на 31 % ( $p < 0.05$ ) и 36 % ( $p < 0.01$ ) соответственно, а КА был выше в 4.3 и 5.2 раза по сравнению с исходными данными.

Интоксикация нитратом никеля на фоне экспериментального атеросклероза приводила к следующим изменениям показателей липидного обмена (см. табл. 4). На 15-е сутки исследования уровень ОХ, ТГ и ЛПНП увеличивался в среднем на 30 % ( $p < 0.05$ ), 14 и 81 % ( $p < 0.01$ ) соответственно по сравнению с исходными данными.

by an average of 30% ( $p < 0.05$ ), 14 and 81% ( $p < 0.01$ ), respectively, compared with the baseline data. The HDL content decreased by 28% compared to the baseline data, and AC was increased by more than 3.9 times. 30 and 60 days after intoxication with nickel nitrate, the content of TCH was higher than in intact animals by 39% ( $p < 0.05$ ) and 48% ( $p < 0.01$ ), respectively, and the level of TG increased by 27 and 37%. The LDL content 30 and 60 days after intoxication was higher than in intact animals by an average of 2.1 and 2.5 times. The HDL level on the 30th and 60th days of the intoxication study were reduced by 34% ( $p < 0.05$ ) and 37% ( $p < 0.01$ ), and AC was 4.8 and 5.6 times higher, respectively, compared to the baseline data.

Thus, the data obtained show that lipid metabolism disturbances present in atherosclerotic changes are aggravated by long-term chronic exposure to heavy metal salts, namely cadmium sulfate, nickel nitrate and cobalt nitrate. A marked increase in the level of TCH, TG, LDL and AC with a simultaneous decrease in the level of HDL in the blood serum are observed. The maximal changes in the parameters of lipid metabolism were noted by the 60th day after the beginning of intoxication in experimental athero-

Содержание ЛПВП уменьшалось по сравнению с исходными данными на 28 %, а КА был повышен более чем в 3.9 раза. Спустя 30 и 60 сут после интоксикации нитратом никеля содержание ОХ было больше, чем у животных исходно, на 39 % ( $p < 0.05$ ) и 48 % ( $p < 0.01$ ) соответственно, а уровень ТГ повышался на 27 и 37 %. Содержание ЛПНП через 30 и 60 сут после интоксикации было больше по сравнению с соответствующими величинами в исходном состоянии в среднем в 2.1 и 2.5 раза. Уровень ЛПВП на 30-е и 60-е сутки исследования был снижен на 34 % ( $p < 0.05$ ) и 37 % ( $p < 0.01$ ), а КА был выше в 4.8 и 5.6 раза соответственно по сравнению с исходными данными.

Таким образом, полученные данные показывают, что нарушения липидного обмена, имеющиеся при атеросклеротических изменениях, усугубляются при хроническом воздействии солей тяжелых металлов, а именно сульфата кадмия, нитрата никеля и нитрата кобальта. Отмечается выраженное увеличение уровня ОХ, ТГ, ЛПНП и КА с параллельным снижением уровня ЛПВП в сыворотке крови. Максимальные изменения показателей липидного обмена отмечаются к 60-м суткам после интоксикации на фоне экспериментального атеросклероза. Полученные результаты подчеркивают важную роль хронического отравления солями тяжелых металлов в процессе усугубления атеросклеротических процессов, что диктует необходимость разработки путей коррекции хронической интоксикации тяжелыми металлами, в особенности для пациентов с атеросклеротическими повреждениями сосудов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Kobiyama K., Ley K. Atherosclerosis // Circ. Res. 2018;123(10):1118-1120. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.118.313816.
2. Bułdak Ł. Cardiovascular diseases – a focus on atherosclerosis, its prophylaxis, complications and recent advancements in therapies // Int. J. Mol. Sci. 2022;23(9):4695. DOI: 10.3390/ijms23094695.
3. Roth G.A., Mensah G.A., Johnson C.O. et al. Global burden of cardiovascular diseases and risk factors, 1990-2019: update from the GBD 2019 study // J. Am. Col. Cardiol. 2020;76(25):2982-3021. DOI: 10.1016/j.jacc.2020.11.010.
4. Gao S., Wang X., Meng L.-B. et al. Recent progress of chronic stress in the development of atherosclerosis // Oxid. Med. Cell Longev. 2022:2022:4121173. DOI: 10.1155/2022/4121173.
5. Сумин А.Н., Медведева Ю.Д., Щеглова А.В., Барбаш Л.С. Предикторы неблагоприятных исходов у пациентов с облитерирующими атеросклерозом артерий нижних конечностей // Кардиология

sclerosis. The results obtained suggest the important role of chronic intoxication with heavy metal salts in exacerbation of atherosclerotic processes, which necessitates development of ways for correcting chronic intoxication with heavy metals, especially for patients with atherosclerotic lesions of blood vessels.

## CONCLUSION

Long-term exposure to heavy metals (cadmium sulfate, nickel nitrate, and cobalt nitrate) exacerbates lipid metabolism disturbances occurring in experimental atherosclerosis. According to the severity of pathological changes, the following are in descending order: cadmium sulfate → nickel nitrate → cobalt nitrate. Although cobalt is one of the essential micro-elements, its long-term exposure also leads to an aggravation of lipid metabolism disorders in experimental atherosclerosis.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Длительное воздействие тяжелых металлов (сульфата кадмия, нитрата никеля и нитрата кобальта) усугубляет нарушения липидного обмена, имеющие место при экспериментальном атеросклерозе. По степени выраженности патологических сдвигов в убывающем порядке следуют: сульфат кадмия → нитрат никеля → нитрат кобальта. Несмотря на то, что кобальт является одним из необходимых микроэлементов, его длительное поступление также приводит к усугублению нарушений липидного обмена при экспериментальном атеросклерозе.

## REFERENCES

1. Kobiyama K., Ley K. Atherosclerosis. Circ. Res. 2018;123(10):1118-1120. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.118.313816.
2. Bułdak Ł. Cardiovascular diseases – a focus on atherosclerosis, its prophylaxis, complications and recent advancements in therapies. Int. J. Mol. Sci. 2022;23(9):4695. DOI: 10.3390/ijms23094695.
3. Roth G.A., Mensah G.A., Johnson C.O. et al. Global burden of cardiovascular diseases and risk factors, 1990-2019: update from the GBD 2019 study. J. Am. Col. Cardiol. 2020;76(25):2982-3021. DOI: 10.1016/j.jacc.2020.11.010.
4. Gao S., Wang X., Meng L.-B. et al. Recent progress of chronic stress in the development of atherosclerosis. Oxid. Med. Cell Longev. 2022:2022:4121173. DOI: 10.1155/2022/4121173.
5. Сумин А.Н., Медведева Ю.Д., Щеглова А.В., Барбаш Л.С. Предикторы неблагоприятных исходов у пациентов с облитерирующими атеросклерозом артерий нижних конечностей // Кардиология

и сердечно-сосудистая хирургия. 2020;13(1):41-47. DOI: 10.17116/kardio20201301141.

6. Fan J., Watanabe T. Atherosclerosis: Known and unknown // *Pathol. Int.* 2022;72(3):151-160. DOI: 10.1111/pin.13202.
7. Tinkov A.A., Filippini T., Ajsuvakova O.P. et al. Cadmium and atherosclerosis: A review of toxicological mechanisms and a meta-analysis of epidemiologic studies // *Environ. Res.* 2018;162:240-260. DOI: 10.1016/j.envres.2018.01.008.
8. Asgary S., Movahedian A., Keshvari M. et al. Serum levels of lead, mercury and cadmium in relation to coronary artery disease in the elderly: A cross-sectional study // *Chemosphere.* 2017;180:540-554. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2017.03.069.
9. Fagerberg B., Barregard, L., Sallsten G. et al. Cadmium exposure and atherosclerotic carotid plaques – results from the Malmo diet and Cancer study // *Environ. Res.* 2015;136: 67-74. DOI: 10.1016/j.envres.2014.11.004.
10. Patwa J., Jeet S., Flora S. Heavy metal-induced cerebral small vessel disease: insights into molecular mechanisms and possible reversal strategies // *Int. J. Mol. Sci.* 2020;21(11):3862. DOI: 10.3390/ijms21113862.
11. Igharo O.G., Akinfenwa Y., Isara A.R. et al. Lipid profile and atherogenic indices in Nigerians occupationally exposed to e-waste: A cardiovascular risk assessment study // *Maedica (Bucur).* 2020;15(2):196-205. DOI: 10.26574/maedica.2020.15.2.196.
12. Wang X., Starodubtseva M.N., Kapron C.M., Liu J. Cadmium, von Willebrand factor and vascular aging // *NPJ Aging.* 2023;9(1):11. DOI: 10.1038/s41514-023-00107-3.
13. Bergström G., Fagerberg B., Sallsten G. et al. Is cadmium exposure associated with the burden, vulnerability and rupture of human atherosclerotic plaques? // *PLoS One.* 2015;10(3):e0121240. DOI: 10.1371/journal.pone.0121240.
14. Fagerberg B., Bergström G., Borén J., Barregard L. Cadmium exposure is accompanied by increased prevalence and future growth of atherosclerotic plaques in 64-year-old women // *J. Intern. Med.* 2012;272(6):601-610. DOI: 10.1111/j.1365-2796.2012.02578.x.
15. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and Other Scientific Purposes. Strasbourg, 1986. URL: <https://rm.coe.int/168007a67b>. (дата обращения: 30.01.2024)
16. Савицкий И.В., Слюсарь А.А., Миастковская И.В. Мультифакторное моделирование атеросклероза на крысах // Журнал образования, здоровья и спорта. 2016;6(3):233-240. DOI: 10.5281/zenodo.55402.
6. Fan J., Watanabe T. Atherosclerosis: Known and unknown. *Pathol. Int.* 2022;72(3):151-160. DOI: 10.1111/pin.13202.
7. Tinkov A.A., Filippini T., Ajsuvakova O.P. et al. Cadmium and atherosclerosis: A review of toxicological mechanisms and a meta-analysis of epidemiologic studies. *Environ. Res.* 2018;162:240-260. DOI: 10.1016/j.envres.2018.01.008.
8. Asgary S., Movahedian A., Keshvari M. et al. Serum levels of lead, mercury and cadmium in relation to coronary artery disease in the elderly: A cross-sectional study. *Chemosphere.* 2017;180:540-554. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2017.03.069.
9. Fagerberg B., Barregard, L., Sallsten G. et al. Cadmium exposure and atherosclerotic carotid plaques – results from the Malmo diet and Cancer study. *Environ. Res.* 2015;136: 67-74. DOI: 10.1016/j.envres.2014.11.004.
10. Patwa J., Jeet S., Flora S. Heavy metal-induced cerebral small vessel disease: insights into molecular mechanisms and possible reversal strategies. *Int. J. Mol. Sci.* 2020;21(11):3862. DOI: 10.3390/ijms21113862.
11. Igharo O.G., Akinfenwa Y., Isara A.R. et al. Lipid profile and atherogenic indices in Nigerians occupationally exposed to e-waste: A cardiovascular risk assessment study. *Maedica (Bucur).* 2020;15(2):196-205. DOI: 10.26574/maedica.2020.15.2.196.
12. Wang X., Starodubtseva M.N., Kapron C.M., Liu J. Cadmium, von Willebrand factor and vascular aging. *NPJ Aging.* 2023;9(1):11. DOI: 10.1038/s41514-023-00107-3.
13. Bergström G., Fagerberg B., Sallsten G. et al. Is cadmium exposure associated with the burden, vulnerability and rupture of human atherosclerotic plaques? *PLoS One.* 2015;10(3):e0121240. DOI: 10.1371/journal.pone.0121240.
14. Fagerberg B., Bergström G., Borén J., Barregard L. Cadmium exposure is accompanied by increased prevalence and future growth of atherosclerotic plaques in 64-year-old women. *J. Intern. Med.* 2012;272(6):601-610. DOI: 10.1111/j.1365-2796.2012.02578.x.
15. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and Other Scientific Purposes. Strasbourg, 1986. URL: <https://rm.coe.int/168007a67b>. (accessed 30.01.2024)
16. Savitskiy I.V., Sliusar A.A., Miastkovskaja I.V. Multi-factorial modeling of atherosclerosis in rats. *Journal of Education, Health and Sport.* 2016;6(3):233-240. DOI: 10.5281/zenodo.55402. (In Russ.)

## ABOUT THE AUTHORS

**Rashad I. Ibragimov** – Cand. Sci. (Pharmaceut.), Senior Researcher, Department of Pharmacology, Scientific Research Center, Azerbaijan Medical University, Baku, Azerbaijan.

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРЕ

**Ибрагимов Рашад Ибрагим** – канд. фармацевт. наук, старший научный сотрудник отдела фармакологии Научно-исследовательского центра Азербайджанского медицинского университета, Баку, Азербайджан.

## Молекулярно-генетические механизмы и значение deregуляции p53 при диффузной В-крупноклеточной лимфоме

Т.И. Постелова<sup>1</sup>, Е.Н. Воропаева<sup>1,2</sup>, В.Н. Максимов<sup>1,2</sup>, Н.В. Скворцова<sup>1</sup>, М.И. Воевода<sup>3</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия

<sup>2</sup>НИИ терапии и профилактической медицины – филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», Новосибирск, Россия

<sup>3</sup>ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины», Новосибирск, Россия

### АННОТАЦИЯ

Исследования, направленные на изучение роли изменчивости гена *TP53* в опухолевой прогрессии диффузной В-крупноклеточной лимфомы (ДВКЛ), являются одними из наиболее востребованных как в области фундаментальной, так и прикладной онкогематологии. Вместе с тем до последнего времени знания о конкретных механизмах нарушения функции данного гена и их клиническом значении при ДВКЛ в значительной степени носили ограниченный характер.

Данная статья приурочена к 300-летию Российской академии наук и описывает основные научные результаты исследований молекулярно-генетических механизмов и значения deregуляции p53 при ДВКЛ, на протяжении многих лет проводимых совместно Новосибирским государственным медицинским университетом и Научно-исследовательским институтом терапии и профилактической медицины – филиалом Института цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук.

Выполнено комплексное изучение изменчивости *TP53*, обусловленной функционально значимыми полиморфизмами и гаплотипной структурой, соматическими мутациями, метилированием промотора, а также аллельным дисбалансом. Установлен «двуухдарный» механизм нарушения функции данного антионкогена при формировании лимфомы. Показана существующая в настоящее время недооценка частоты аберраций в *TP53* при ДВКЛ вследствие игнорирования синонимичных мутаций и изменений в некодирующих участках гена. Доказана глубокая вовлеченность *TP53* в процессы предрасположенности к развитию, инициализации, прогрессии и ответу ДВКЛ на терапию.

Полученные результаты позволяют предполагать, что оценка функции гена *TP53* и понимание конкретных механизмов его инактивации в каждом из диагностируемых случаев ДВКЛ в скором времени может иметь прямой выход на персонализированный подбор терапии.

**Ключевые слова:** ДВКЛ, ген *TP53*, мутации, метилирование промотора, потеря гетерозиготности, гаплотипы, генетический полиморфизм, прогноз.

**Образец цитирования:** Постелова Т.И., Воропаева Е.Н., Максимов В.Н., Скворцова Н.В., Воевода М.И. Молекулярно-генетические механизмы и значение deregуляции p53 при диффузной В-крупноклеточной лимфоме // Journal of Siberian Medical Sciences. 2024;8(1):113-127. DOI: 10.31549/2542-1174-2024-8-1-113-127

Поступила в редакцию 13.02.2024  
Прошла рецензирование 28.02.2024  
Принята к публикации 14.03.2024

Автор, ответственный за переписку  
Воропаева Елена Николаевна: ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России. 630091, г. Новосибирск, Красный просп., 52.  
E-mail: vena.81@mail.ru

Received 13.02.2024  
Revised 28.02.2024  
Accepted 14.03.2024

Corresponding author  
Elena N. Voropaeva: Novosibirsk State Medical University, 52, Krasny prosp., Novosibirsk, 630091, Russia.  
E-mail: vena.81@mail.ru

## Molecular-genetic mechanisms and significance of p53 deregulation in diffuse large B-cell lymphoma

Т.И. Пospelova<sup>1</sup>, Е.Н. Voropaeva<sup>1,2</sup>, В.Н. Maksimov<sup>1,2</sup>, Н.В. Skvortsova<sup>1</sup>, М.И. Voevoda<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia

<sup>2</sup>Research Institute of Internal and Preventive Medicine – the Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia

<sup>3</sup>Federal Research Center for Fundamental and Translational Medicine, Novosibirsk, Russia

### ABSTRACT

Researches aimed at studying the role of *TP53* gene variability in the tumor progression of diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) are among the most in-demand in both the fields of fundamental and applied oncohematology. However, until recently, the knowledge about the specific mechanisms of dysfunction of this gene and their clinical significance in DLBCL was largely limited.

This article is dedicated to the 300th anniversary of the Russian Academy of Sciences and describes the main scientific results of research of the molecular genetic mechanisms and the significance of p53 deregulation in DLBCL, conducted jointly by Novosibirsk State Medical University and the Research Institute of Therapy and Preventive Medicine – the Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences for many years.

A comprehensive study of *TP53* variability due to functionally significant polymorphisms and haplotype structure, somatic mutations, promoter methylation, as well as allelic imbalance was carried out. A two-hit mechanism for dysfunction of this anti-oncogene in the formation of lymphoma has been established. The current underestimation of the frequency of aberrations in *TP53* in DLBCL is shown due to ignoring synonymous mutations and changes in non-coding regions of the gene. The deep involvement of *TP53* in the processes of predisposition to development, initiation, progression and response of DLBCL to therapy has been proven.

The results obtained suggest that assessment of the function of the *TP53* gene and understanding the specific mechanisms of its inactivation in each of the diagnosed cases of DLBCL may soon have direct access to personalized selection of therapy.

**Keywords:** DLBCL, *TP53* gene, mutations, promoter methylation, loss of heterozygosity, haplotypes, genetic polymorphism, prognosis.

**Citation example:** Pospelova T.I., Voropaeva E.N., Maksimov V.N., Skvortsova N.V., Voevoda M.I. Molecular-genetic mechanisms and significance of p53 deregulation in diffuse large B-cell lymphoma. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2024;8(1):113-127. DOI: 10.31549/2542-1174-2024-8-1-113-127

### ВВЕДЕНИЕ

Диффузная В-крупноклеточная лимфома (ДВККЛ) представляет собой гетерогенную группу заболеваний, имеющих общие звенья патогенеза, но при этом различные клинические и иммуногистохимические особенности, чувствительность к терапии и прогноз. Это приводит к необходимости прогнозирования течения заболевания в каждом конкретном случае лимфомы, которое трудно представить без научно обоснованного «предвидения» развития опухолевого процесса.

Долгие десятилетия прогноз ДВККЛ основывался на оценке комплекса следующих факторов [1]:

- биологические свойства опухоли (вариант опухоли, ее распространенность, в том числе стадия и конкретная локализация очагов пораже-

### INTRODUCTION

Diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) is a heterogeneous group of diseases that have common components of pathogenesis, but different clinical and immunohistochemical features, response to therapy and prognosis. This leads to the need to predict the course of the disease in each specific case of lymphoma which is difficult to imagine without a scientifically based “foreseeing” of the tumor development process.

For many decades, the prognosis of DLBCL was based on assessment of the following factors [1]:

- biological properties of the tumor (lymphoma subtype, its spread, including stage and specific site of involvement, duration of the disease before treatment, rate of progression, etc.);
- characteristics of a patient (age, heredity, somatic comorbidities, socio-economic status, immunoreactivity, ethnicity);

ния, длительность заболевания до лечения, скорость прогрессирования и т.д.);

- особенности организма больного (возраст, наследственность, сопутствующая соматическая отягощенность, социально-экономический статус, иммунореактивность, этническая принадлежность);
- методы терапевтического воздействия (выбранная программа терапии, соблюдение дозировок и сроков введения, комбинированные и комплексные методы лечения, их периодичность и последовательность).

Следует заключить, что в случае общепризнанного подхода речь идет о групповом прогнозе при ДВККЛ, т.е. о возможности предположить исход заболевания у группы больных, объединенных по совокупности нескольких признаков. Вместе с тем в настоящее время в онкогематологии в связи с началом эры таргетной терапии все большее значение приобретает необходимость разработки методологии индивидуального прогнозирования, которое представляет собой сравнительно новое направление в медицине и диктует необходимость изучения генетических программ как опухоли, так и человека – ее носителя. Это может обеспечить предсказуемость течения ДВККЛ и результатов ее лечения [2].

ДВККЛ, как и любая опухоль, представляет собой комплексный патологический процесс и имеет свои проявления на молекулярном, клеточном, тканевом, органном и организменном уровнях. При этом повреждения на молекулярном уровне, бесспорно, носят первичный характер. По этой причине в последние годы молекулярные основы лимфомогенеза являются наиболее активно развивающейся частью онкологии, быстро впитывающей в себя новые методические подходы в ДНК-диагностике.

В области современной онкогематологии многие годы высокую актуальность сохраняют следующие научные направления:

- разработка способов оценки генетической предрасположенности к опухолевым заболеваниям системы крови;
- исследование механизмов регуляции опухолевого роста;
- поиск новых методов оценки прогноза течения гемобластозов и их чувствительности к стандартным терапевтическим воздействиям;
- экспериментальное обоснование новых патогенетических подходов к лечению онкогематологических больных.

Удивительным образом ген *TP53*, являющийся «геном на перекрестке механизмов онко-

- methods of therapy (selected therapy program, adherence to dosages and timing of administration, combined and integrative treatment, their interval and order).

It should be concluded that in the case of a conventional approach we are talking about a group-specific prognosis for DLBCL, i.e. about the possibility of predicting the outcome of the disease in a group of patients jointed by a combination of several signs. At the same time, currently in oncohematology, in connection with the beginning of the era of targeted therapy, the need to develop a methodology for individual prediction is becoming increasingly important which is a relatively new direction in the field of medicine and necessitates studying the genetic profile of both the tumor and the person – its carrier. This can provide predictability of the course of DLBCL and the results of its treatment [2].

DLBCL, like any tumor, is a complex pathological process and has its manifestations at the molecular, cellular, tissue, organ and organism levels. In this case, abnormalities on the molecular level are undoubtedly primary. For this reason, in recent years, the molecular basis of lymphomagenesis has been the most actively developing part of oncology, quickly absorbing new approaches in DNA diagnostics.

In the field of modern oncohematology, the following research areas remain highly relevant for many years:

- development of methods for assessing genetic predisposition to hematologic neoplasms;
- study of tumor growth regulation mechanisms;
- search for new methods for assessing the prognosis of hemoblastosis and their response to conventional therapies;
- experimental substantiation of new pathogenetic approaches to the treatment of oncohematological patients.

In a sudden way, the *TP53* gene, which is a “gene at the crossroads of oncogenesis mechanisms,” is interesting as an object of study in patients with DLBCL in all abovementioned areas. A change in the function of the p53 protein it encodes is one of the most universal molecular changes in the cells of various neoplasms [3].

There is evidence that the dysfunction of this protein plays an important role in the generation of tumors of lymphoid tissue and their further progression [4]. In B lymphocytes with inactivated p53, there is an increase in genetic instability which is a promoter of further tumor progression and the evasion of malignant cells from the immune system, as well as therapeutic effects.

генеза», интересен в качестве объекта исследования у больных ДВККЛ во всех перечисленных направлениях. Изменение функции кодируемого им белка p53 – одно из наиболее универсальных молекулярных изменений в клетках различных новообразований [3].

Имеются сведения о том, что дисфункция данного белка играет важную роль в возникновении опухолей лимфоидной ткани и их дальнейшей прогрессии [4]. В В-лимфоцитах с инактивированным p53 отмечается нарастание генетической нестабильности, являющейся промотором дальнейшей опухолевой прогрессии и ускользания злокачественных клеток от иммунной системы, а также терапевтического воздействия.

Однако, учитывая то, что результирующее действие данного гена во многом зависит от типа клетки, в которой проявляется его активность, невозможен механический перенос общих знаний об участии *TP53* в онкогенезе на ДВККЛ. Более того, индивидуальный генетический фон и многие другие факторы также могут влиять на фенотип, индуцированный специфическими генетическими аберрациями [5]. В контексте описанных проблем изучение *TP53* при ДВККЛ заслуживает особого внимания.

Данная статья приурочена к 300-летию Российской академии наук и описывает основные научные результаты исследований молекулярно-генетических механизмов и значения дерегуляции p53 при ДВККЛ, на протяжении многих лет проводимых совместно Новосибирским государственным медицинским университетом и Научно-исследовательским институтом терапии и профилактической медицины – филиалом ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук» [6].

## ИСХОДНОЕ СОСТОЯНИЕ ИЗУЧАЕМОЙ ПРОБЛЕМЫ

Исследования, направленные на поиск молекулярно-биологических механизмов участия изменчивости гена *TP53* в опухолевой прогрессии ДВККЛ, являются одними из наиболее востребованных как в области фундаментальной, так и прикладной онкогематологии. К представляющим интерес молекулярно-генетическим событиям, важным для опухолевого роста и прогрессии лимфомы, следует отнести наследуемые (полиморфизм) и соматические (мутации) варианты нуклеотидной последовательности в кодирующих и регуляторных областях гена, делеции *TP53*, эпигенетическую модуляцию его экспрессии.

However, taking into account that the resulting effect of this gene largely depends on the type of cell in which its activity is manifested, a mechanical transfer of general knowledge about the involvement of *TP53* in tumorigenesis to DLBCL is not possible. Moreover, the individual genetic background and many other factors can also influence the phenotype induced by specific genetic aberrations [5]. In the context of the described problems, the study of *TP53* in DLBCL deserves a special attention.

This article is dedicated to the 300th anniversary of the Russian Academy of Sciences and describes the main scientific results of studies on molecular genetic mechanisms, and the significance of p53 deregulation in DLBCL, conducted jointly by Novosibirsk State Medical University and the Research Institute of Therapy and Preventive Medicine – the Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Science for many years [6].

## INITIAL STATE OF THE PROBLEM UNDER STUDY

Investigations aimed at searching for molecular and biological mechanisms of the involvement of *TP53* gene variability in the tumor progression of DLBCL are among the most highly-demanded in both the field of fundamental and applied oncohematology. Molecular genetic events of interest that are important for lymphoma growth and progression include inherited (polymorphism) and somatic (mutations) variants of the nucleotide sequence in the coding and regulatory regions of the gene, *TP53* deletions, and epigenetic modulation of its expression [6]. However, until recently, knowledge about the specific mechanisms of this gene dysfunction, and their clinical significance in DLBCL was largely limited (Table 1). There are a number of reasons for this.

Firstly, in hematological neoplasms, mutations in *TP53*, which are the most studied variants of aberrations, are less common than in other neoplasms [7] which initially led to less attention from researchers to other aspects of the variability of this gene in DLBCL.

Secondly, surrogate markers of p53 dysfunction have proven to be dramatically unreliable and challenging biomarkers for clinical use [8]. It is known, for example, that overexpression of the p53 protein in tumor tissue does not always predict poor survival of DLBCL patients receiving the modern monoclonal antibody therapy.

Finally, despite its potential value, the study of *TP53* gene abnormalities is not included in the man-

**Таблица 1.** Возможные молекулярные механизмы формирования недостаточности функции гена *TP53*  
**Table 1.** Possible molecular mechanisms of the *TP53* gene dysfunction formation

Тип нарушения Type	Эффект Effect	Степень изученности при ДВКЛ Level of knowledge on DLBCL
Генетический полиморфизм Genetic polymorphism	Дефицит функции или стабильности белка p53 Dysfunction and instability of the p53 protein	Отсутствие данных о гаплотипах Lack of data on haplotypes
Мутации в кодирующей последовательности гена Mutations in the coding sequence of the gene	Потеря опухоль-супрессорных функций, приобретение проонкогенных свойств, доминантно-негативный эффект Loss of tumor-suppressive properties, acquisition of pro-oncogenic properties, dominant-negative effect	В последней версии IARC <i>TP53</i> mutation database информации о российской популяции не представлено The latest version of the IARC <i>TP53</i> mutation database does not provide information on the Russian population
Мутации в инtronных последовательностях гена Mutations in intronic sequences of the gene	Нарушение альтернативного спlicingа м-РНК Alteration of alternative mRNA splicing	Недооценка изменений в некодирующих участках <i>TP53</i> Underestimation of changes in non-coding regions of <i>TP53</i>
Мутации в 5'- и 3'-НТП гена Mutations in the 5' and 3' UTRs	Снижение эффективности трансляции белка, нарушение посттрансляционных модификаций Reduced efficiency of protein translation, disturbance of post-translational modifications	Недооценка изменений в нетранслируемых участках гена <i>TP53</i> Underestimation of changes in the UTRs of the <i>TP53</i> gene
Потеря гетерозиготности Loss of heterozygosity	Возникновение алельного дисбаланса, фенотипическая манифестация рецессивных мутаций гена Allelic imbalance, phenotypic manifestation of recessive gene mutations	Широкий разброс частоты возникновения в зависимости от популяционной выборки Wide prevalence depending on population sample
Метилирование промотора Promoter methylation	Снижение экспрессии, вплоть до «выключения» гена Reduced expression, up to gene silencing	Аспект практически не освещен в литературе This aspect is practically not covered in the literature

П р и м е ч а н и е . ДВКЛ – диффузная В-крупноклеточная лимфома; IARC – International Agency for Research on Cancer (Международное агентство по изучению рака); НТП – нетранслируемые последовательности; м-РНК – матричная РНК.

Н о т е . DLBCL – diffuse large B-cell lymphoma; IARC – International Agency for Research on Cancer; UTRs – untranslated regions; mRNA – messenger RNA.

ции [6]. Вместе с тем до последнего времени знания о конкретных механизмах нарушения функции данного гена и их клиническом значении при ДВКЛ в значительной степени носили ограниченный характер (табл. 1). Для этого имеется ряд причин.

Во-первых, при опухолях системы крови мутации в *TP53*, которые являются наиболее изученными вариантами аберраций, встречаются реже, чем при других новообразованиях [7], что исходно обусловило меньшее внимание исследователей к другим аспектам изменчивости данного гена при ДВКЛ.

Во-вторых, суррогатные маркеры нарушения функции p53, с точки зрения клинического применения, оказались чрезвычайно ненадежными и сложными биомаркерами [8]. Известно, например, что избыточная экспрессия белка p53 в опухолевой ткани не всегда предсказывает ухудшение выживаемости пациентов с ДВКЛ в условиях современной терапии заболевания с применением моноклональных антител.

datory range of examinations for lymphomas, which significantly slows down the process of accumulating knowledge on the problem.

In this regard, the aim of our research was, based on a comprehensive study of the variability of the *TP53* gene, caused by functionally significant polymorphisms and haplotype structure, somatic mutations, promoter methylation, as well as allelic imbalance, to describe the possible mechanisms of formation of p53 dysfunction in DLBCL, and to evaluate their contribution to lymphoma progression.

## GENETIC POLYMORPHISM AND HAPLOTYPE GENE STRUCTURE

We have performed genotyping of functionally significant markers of the *TP53* gene – rs1042522, rs17878362 and rs1625895 – using PCR-RFLP (polymerase chain reaction – restriction fragment length polymorphism) in healthy tissue (peripheral blood) of patients with DLBCL and controls, the third generation of ethnic Russians. During the investiga-

Наконец, несмотря на потенциальную ценность, изучение аномалий гена *TP53* не входит в обязательный спектр обследования при лимфомах, что значительно замедляет процесс накопления объема знаний по проблеме.

В связи с этим целью наших исследований было на основе комплексного изучения изменчивости гена *TP53*, обусловленной функционально значимыми полиморфизмами и гаплотипной структурой, соматическими мутациями, метилированием промотора, а также аллельным дисбалансом, описать возможные механизмы формирования дефицита функции p53 при ДВКЛ и оценить их вклад в опухолевую прогрессию заболевания.

## ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ И ГАПЛОТИПНАЯ СТРУКТУРА ГЕНА

Нами выполнялось генотипирование функционально-значимых маркеров гена *TP53* – rs1042522, rs17878362 и rs1625895 – методом ПЦР-ПДРФ (полимеразная цепная реакция – полиморфизм длин рестрикционных фрагментов) в здоровой ткани (периферической крови) пациентов с ДВКЛ и лиц контрольной выборки, имеющих русскую национальность в трех поколениях. В ходе исследования данных об ассоциации отдельных изучаемых полиморфизмов с предрасположенностью к развитию ДВКЛ получено не было [9].

В связи с тем, что предрасположенность или устойчивость к болезни может определяться сочетанием большого числа малых эффектов [10], и анализ неравновесия по сцеплению (linkage disequilibrium – LD) в геноме в конкретных популяциях является более продуктивным подходом, позволяющим идентифицировать генетические функциональные варианты, лежащие в основе предрасположенности к многофакторным заболеваниям, было оценено LD между rs1042522, rs1625895 и rs17878362.

Полученные данные свидетельствовали, что сила неравновесия по сцеплению была умеренной между rs17878362 и rs1042522, а также rs1625895 и rs17878362, а между rs1625895 и rs1042522 – неравновесие по сцеплению выраженное. При этом LD в группе больных ДВКЛ значимо выше, чем в группе контроля (рис. 1). Последнее свидетельствует о том, что ген-кандидат может играть определенную роль в формировании предрасположенности к болезни [11].

В ходе дальнейшего гаплотипирования гена *TP53* были определены сцепленные аллели

tion, no data were obtained on the association of individual polymorphisms studied with predisposition to DLBCL [9].

Due to the fact that susceptibility or resistance to a disease can be determined by a combination of a large number of small effects [10], the analysis of linkage disequilibrium (LD) in a genome in specific populations is a more productive approach that allows us to identify genetic functional variants underlying the predisposition to multifactorial diseases, the LD between rs1042522, rs1625895 and rs17878362 was assessed.

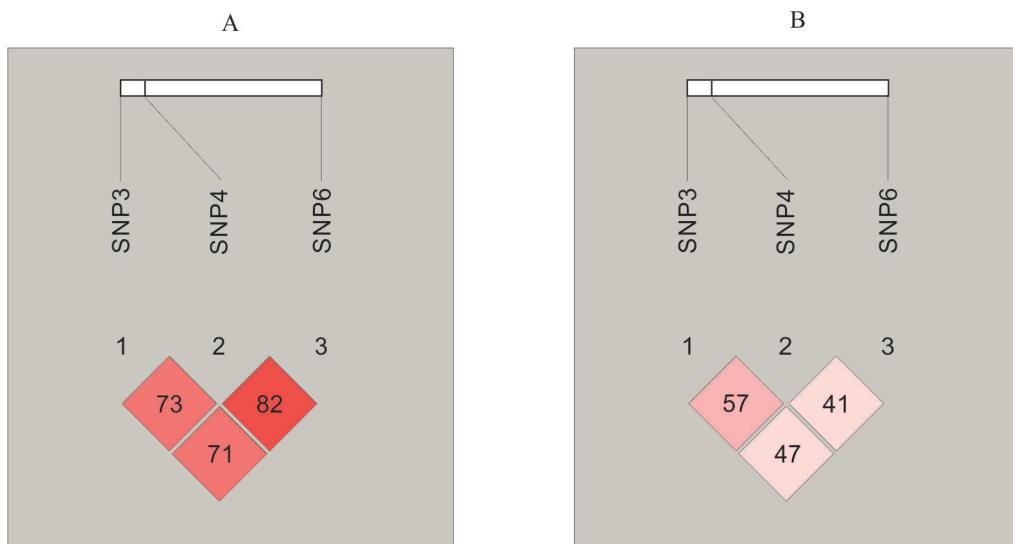
The data obtained indicated that the linkage disequilibrium was moderate between rs17878362 and rs1042522, as well as rs1625895 and rs17878362, and between rs1625895 and rs1042522 the linkage disequilibrium was pronounced. Moreover, LD in the group of patients with DLBCL is significantly higher than in the control group (Fig. 1). The latter suggests that the candidate gene may play a role in the formation of susceptibility to the disease [11].

During further haplotyping of the *TP53* gene, linked rs17878362-rs1042522-rs1625895 alleles within the same chromosome were identified. An analysis of haplotype sequences makes it possible to evaluate at a deeper level the functional interaction of polymorphic loci (by additive, potentiating, antagonistic type) and their resulting impact on the biological functions of the protein. Significant differences in the frequency of three haplotypes were obtained: an increase in the frequency of the wArgG haplotype ( $p = 0.025$ ), as well as a decrease in the frequency of the wProG ( $p = 0.025$ ) and dupProG ( $p = 0.041$ ) haplotypes in the group of patients with DLBCL in comparison with the controls. Moreover, for the wArgG haplotype, an association with the risk of DLBCL was noted only in the homozygous state, in contrast to the wProG or dupProG haplotypes, which have a protective effect in combination with any other haplotypes in the diplotype. Previously, other authors have also shown the difference in the effects of the triple *TP53* haplotype depending on the homozygous or heterozygous state [12].

Thus, the inherited genetic polymorphism of *TP53* may be the basis of predisposition to DLBCL, but more severe aberrations in this gene, arising in B lymphocytes *de novo*, directly contribute to tumor initiation and progression.

## MUTATIONS IN THE CODING AND INTRONIC SEQUENCES OF THE GENE

We analyzed the sequence of exons and adjacent intronic regions of the *TP53* gene in DNA samples



**Рис. 1.** Диаграммы анализа неравновесия по сцеплению между rs1042522, rs1625895 и rs17878362 в группе пациентов с ДВККЛ (А) и контрольной выборке (В) (SNP3 – rs17878362, SNP4 – rs1042522, SNP6 – rs1625895; цифровые обозначения в блоках отражают показатель D' – вероятность кроссинговера между анализируемыми локусами: чем темнее цвет блока, тем выше степень неравновесия по сцеплению)

**Fig. 1.** Diagrams of linkage disequilibrium analysis between rs1042522, rs1625895 and rs17878362 in the group of patients with DLBCL (A) and the controls (B) (SNP3 – rs17878362, SNP4 – rs1042522, SNP6 – rs1625895; digits in the blocks reflect the D' indicator – probability of crossing-over between analyzed loci: the darker the color of the block, the higher the degree of linkage disequilibrium)

rs17878362-rs1042522-rs1625895 в пределах одной хромосомы. Анализ гаплотипных последовательностей дает возможность на более глубоком уровне оценить функциональное взаимодействие полиморфных локусов (по аддитивному, потенцирующему, антагонистическому типу) и их результирующее влияние на биологические функции белка. Получены значимые различия в частоте трех гаплотипов: повышение частоты гаплотипа wArgG ( $p = 0.025$ ), а также снижение частот гаплотипов wProG ( $p = 0.025$ ) и dupProG ( $p = 0.041$ ) в группе больных ДВККЛ в сравнении с контрольной выборкой. При этом для гаплотипа wArgG отмечена ассоциация с риском развития ДВККЛ только в гомозиготном состоянии, в отличие от гаплотипов wProG или dupProG, имеющих протективный эффект в сочетании с любыми другими гаплотипами в составе диплотипа. Ранее другими авторами также отмечалось различие в эффектах изучаемого тройного гаплотипа *TP53* в зависимости от гомозиготного или гетерозиготного состояния [12].

Таким образом, наследуемый генетический полиморфизм *TP53* может являться основой предрасположенности к развитию ДВККЛ, но более грубые aberrации в данном гене, возникающие в В-лимфоцитах *de novo*, непосредственно способствуют инициации и прогрессии опухоли.

from tumor tissue of patients with DLBCL [13]. We used the IARC (International Agency for Research on Cancer) protocol for direct Sanger's sequencing, which was developed for the *TP53* gene by IARC specialists and is used by most researchers around the world.

Almost a quarter (24.3%) of DLBCL patients had aberrations in the coding sequences of the gene, which is consistent with literature data [14, 15]. The distribution of mutation types was as follows: 3% – mutations leading to alteration of RNA splicing; 33% – intronic mutations with an unknown effect; 37% – missense mutations; 6% – nonsense mutations and 3% – mutations leading to the reading-frame shift in the *TP53* gene. Also noteworthy was the verification of a large percentage of synonymous substitutions (18%). In the sample studied, cases of multiple mutations in the gene were also identified (6.8%).

All mutations identified in the *TP53* coding sequence were located in highly conserved regions of the DNA-binding domain (exons 5–8) and led to transcript-dependent dysfunctions of p53 (Fig. 2).

We compared the spectrum of mutations identified in the study group with the data presented in the IARC *TP53* mutation database [16]. The IARC *TP53* mutation database was developed in 1990 and is still the most reliable database of somatic and germline

## МУТАЦИИ В КОДИРУЮЩЕЙ ЧАСТИ И ИНТРОННЫХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЯХ ГЕНА

Нами проводился анализ последовательности экзонов и примыкающих участков инtronов гена *TP53* в образцах ДНК из опухолевой ткани больных ДВККЛ [13]. В качестве метода использовался IARC (International Agency for Research on Cancer) protocol для прямого секвенирования по Сенгеру, который был разработан для гена *TP53* специалистами IARC и используется большинством исследователей по всему миру.

Практически четверть (24.3 %) больных ДВККЛ имели аберрации в кодирующих последовательностях гена, что согласуется с данными литературы [14, 15]. Распределение типов мутаций было следующее: 3 % – мутации, приводящие к нарушению сплайсинга молекулы РНК; 33 % – инtronные мутации с неизвестным эффектом; 37 % – мутации миссенс типа; 6 % – мутации нонсенс типа и 3 % – мутации, приводящие к сдвигу рамки считывания в гене *TP53*. Также обращала на себя внимание верификация большого процента синонимичных замен (18 %). В обследуемой выборке были выявлены также случаи множественных мутаций в гене (6.8 %).

Все выявленные в кодирующей последовательности *TP53* мутации были расположены в высококонсервативных участках ДНК-связывающего домена (экзоны 5–8) и с высокой долей вероятности приводили к нарушению транскрипционно-зависимых функций p53 (рис. 2).

Нами выполнено сравнение спектра выявленных в группе исследования мутаций с данными, представленными в IARC *TP53* mutation database [16]. Ресурс IARC *TP53* mutation database был создан в 1990 г. и до настоящего времени является самой авторитетной базой соматических мутаций и мутаций зародышевой линии гена *TP53*. Информации о российской популяции в текущей версии IARC *TP53* mutation database не представлено.

Установлено, что спектр выявленных однокарбонатных замен в гене *TP53* в группе обследования в целом соответствовал данным, представленным в IARC *TP53* mutation database при ДВККЛ. Вместе с тем наблюдалось различие в локализации «горячих точек» мутаций. Согласно IARC *TP53* mutation database «горячими точками» в гене *TP53* при ДВККЛ являются кодоны 248, 273, 175, 245, 281, 244, 305, 249 и 297 (в порядке убывания частоты мута-

ций в гене *TP53*). Информация о российской популяции не представлена в текущей версии базы данных IARC *TP53*.

Было установлено, что спектр выявленных однокарбонатных замен в гене *TP53* в группе обследования в целом соответствовал данным, представленным в IARC *TP53* mutation database при ДВККЛ. Вместе с тем наблюдалось различие в локализации «горячих точек» мутаций в гене *TP53*. Согласно IARC *TP53* mutation database «горячими точками» в гене *TP53* при ДВККЛ являются кодоны 248, 273, 175, 245, 281, 244, 305, 249 и 297 (в порядке убывания частоты мутаций в гене *TP53*). Информация о российской популяции не представлена в текущей версии базы данных IARC *TP53*.

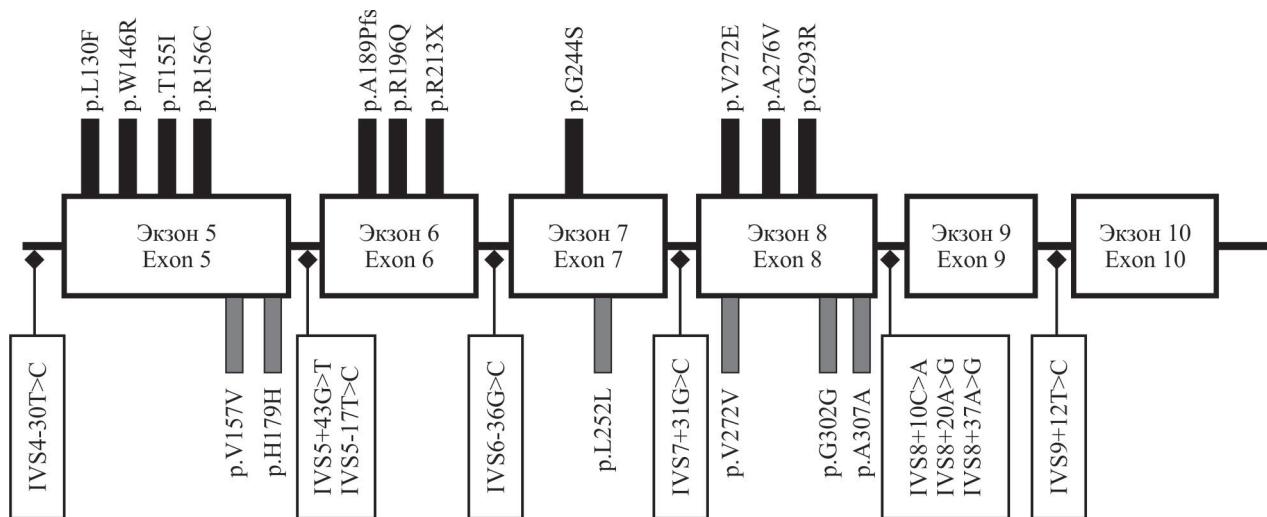
Таким образом, спектр мутаций в гене *TP53* для определенного типа онкологии может значительно отличаться от спектра мутаций в гене *TP53* для других типов онкологии, что подтверждается данными, представленными в IARC *TP53* mutation database. Для примера, в базе данных IARC *TP53* для ДВККЛ, горячими точками мутаций являются кодоны 248, 273, 175, 245, 281, 244, 305, 249 и 297 (в порядке убывания частоты мутаций в гене *TP53*). Информация о российской популяции не представлена в текущей версии базы данных IARC *TP53*.

## BLOCKING THE POLYADENYLATION SIGNAL OF THE GENE

Одной из вариантов нуклеотидной последовательности 3' не-кодирующей области гена *TP53* (rs78378222) является мутация, приводящая к блокированию сигнала полигидроксилации и изменению 3' концевой обработки мРНК. Экспериментальные данные показывают, что редкая мутация rs78378222 в сравнении с распространенной мутацией приводит к значительной снижению экспрессии гена *TP53* и снижению уровня апоптоза в клетках под воздействием генотоксических факторов [18].

Генотипирование, проведенное нами, показало, что частота мутации rs78378222 в опухолевых тканях пациентов с ДВККЛ составляет 9.8%, 4.3% пациентов имеют гетерозиготный генотип, а 5.5% – гомозиготный генотип. Поскольку в крови пациентов с ДВККЛ не было обнаружено гомозиготного генотипа, результаты, полученные нами, указывают на потерю гетерозиготности в опухолевой ткани у некоторых пациентов.

Таким образом, мутация rs78378222 является уникальным аллельным вариантом гена *TP53*, приводящим к неоднозначному снижению функции белка p53. Следовательно, гетерозиготные носители этого маркера, вероятно, теряют функцию гена *TP53*.



**Рис. 2.** Распределение мутаций в инtronных и кодирующих участках гена *TP53*: горизонтальные рамки соответствуют экзонам; черные столбики – миссенс, нонсенс мутации и мутации, приводящие к сдвигу рамки считывания; серые столбики – сеймсенс мутации; в вертикальных рамках – инtronные мутации  
**Fig. 2.** Distribution of mutations in intronic and coding regions of the *TP53* gene: horizontal frames correspond to exons; black bars – missense, nonsense mutations, and mutations leading to reading-frame shift; gray bars – same-sens mutations; in vertical frames – intronic mutations

ций). В обследованной выборке пациентов из данного перечня выявлена лишь мутация в кодоне 244 (p.G244S). Вместе с тем неоднократно встречались другие мутации в кодирующему последовательности – p.W146R, p.T155I, p.V272E, p.R213X [17].

Таким образом, показано, что частота и спектр мутаций в гене *TP53* при одном и том же типе онкологической патологии также могут значительно меняться в зависимости от исследуемой выборки; на примере ДВККЛ подтверждена уникальная особенность гена *TP53* по сравнению с другими генами-онкосупрессорами – преимущественная инактивация его в результате миссенс-замен, а не нонсенс-мутаций [6].

## РАЗРУШЕНИЕ СИГНАЛА ПОЛИАДЕНИРОВАНИЯ ГЕНА

Один из вариантов нуклеотидной последовательности 3'-некодирующй части *TP53* (rs78378222) приводит к разрушению сигнала полиаденилирования и нарушению процессинга 3'-конца матричной РНК гена. Экспериментальные данные показывают, что редкий аллель rs78378222, в сравнении с частым аллелем, обеспечивает значительно меньший уровень экспрессии *TP53* и приводит к снижению уровня индукции апоптоза в клетках под действием генотоксических факторов [18].

Выполненное нами генотипирование показало, что частота rs78378222 в образцах опухоле-

common allele will contribute to a significant increase in the malignant potential of DLBCL cells.

## GENE PROMOTER METHYLATION

An interesting fact is that the *TP53* gene is one of the few antioncogenes that does not contain classical CpG islands in the promoter region. Instead of these islands, the proximal promoter in exon 1 of the gene contains only a few CpG dinucleotides. Studies *in vitro* have shown that their methylation leads to a decrease in p53 expression.

We detected methylation of the *TP53* gene in the sample of patients with DLBCL examined using methylation-specific PCR. The frequency of methylation was only 5.8% and did not differ significantly in the subgroups with mutant and normal gene structure, which may indicate a minor role of this mechanism in the inactivation of *TP53* in DLBCL [9].

## LOSS OF HETEROZYGOSITY IN THE GENE

A conventional microsatellite analysis using PCR analysis was used as a method for diagnosing of loss of heterozygosity (LOH) in the *TP53* gene. Microsatellites are di-, tri- and tetranucleotide sequences multiply repeated throughout the genome [19]. Microsatellite instability is the appearance in tumor cells of additional aberrant microsatellite alleles that differ in length from the alleles in normal tissues of the same patient.

вой ткани больных ДВККЛ составляет 9.8 %, при этом гетерозиготный генотип имели 4.3 %, а гомозиготный мажорный – 5.5 % обследованных. Поскольку случаи обнаружения мажорного гомозиготного генотипа rs78378222 в крови больных ДВККЛ выявлено не было, полученные результаты свидетельствуют о потере гетерозиготности в данном локусе в опухолевой ткани у части больных.

Таким образом, rs78378222 представляет собой уникальный аллельный вариант *TP53* с недвусмысленным снижением функции p53. Логично предположить, что у гетерозиготных носителей маркера потеря частого аллеля будет способствовать значительному приросту злокачественного потенциала клеток ДВККЛ.

### МЕТИЛИРОВАНИЕ ПРОМОТОРА ГЕНА

Интересен тот факт, что ген *TP53* является одним из немногих антионкогенов, который не содержит классических CpG-островков в промоторном регионе. Вместо них проксимальный промотор в экзоне 1 гена содержит лишь несколько CpG-динуклеотидов. Исследования *in vitro* показали, что их метилирование приводит к снижению экспрессии p53.

Выявление метилирования гена *TP53* в обследованной выборке пациентов с ДВККЛ нами проводилось методом метил-специфической ПЦР. Частота метилирования составила всего 5.8 % и значимо не различалась в подгруппах с мутантной и нормальной структурой гена, что может свидетельствовать о малой роли данного механизма в инактивации *TP53* при ДВККЛ [9].

### ПОТЕРЯ ГЕТЕРОЗИГОТНОСТИ В ГЕНЕ

В качестве метода диагностики потери гетерозиготности (ПГ) в гене *TP53* применялся традиционный микросателлитный анализ методом ПЦР. Микросателлиты – это многократно повторяющиеся ди-, три- и тетрануклеотидные последовательности, разбросанные по всему геному [19]. Микросателлитная нестабильность – появление в опухолевых клетках дополнительных аберрантных аллелей микросателлитов, которые отличаются по длине от аллелей в нормальных тканях того же больного.

Нами анализировался маркер D17S796, расположенный вблизи *TP53* и представляющий собой динуклеотидный мотив (CAx23). Частота гетерозиготности по D17S796 достигает более 80 %, что делает его удобным и широко используемым для

We analyzed the D17S796 marker, located near *TP53* and representing a dinucleotide motif (CAx23). The frequency of heterozygosity for D17S796 reaches more than 80%, which makes it convenient and widely used for searching LOH in the *TP53* gene. Let us recall that when analyzing the rs78378222 marker, LOH was also identified. Taking into account both markers, the cumulative LOH rate in the *TP53* gene in the study sample was 13.5% [9, 18].

All cases of LOH were combined either with somatic mutations in the coding sequence occurring in the tumor tissue or with the heterozygous/homozygous minor rs78378222 genotype. In the only case of LOH in a DLBCL patient without these changes, gene promoter methylation occurred.

The biological meaning of this phenomenon should be interpreted in the context of the Knudson model of carcinogenesis [9]. *TP53* dysfunction in DLBCL can be formed not only according to the classical two-hit mechanism when tumor development requires sequential changes in two anti-oncogene's alleles: one in the germline, and the second – due to somatic aberrations, but also according to a similar two-hit mechanism with knockdown of two anti-oncogene's alleles due to sequential somatic aberrations (mutations, promoter methylation or LOH in various combinations) (Fig. 3).

### CLINICAL SIGNIFICANCE OF *TP53* DYSFUNCTION

The study showed an association of the analyzed functionally significant markers of the *TP53* gene with greater severity of tumor intoxication symptoms and paraclinical activity of DLBCL, as well as a greater tumor volume and spread at the time of the disease diagnosis [6]. A correlation analysis indicates the presence of a positive correlation between the frequent homozygous G/G rs1625895 and Arg/Arg rs1042522 genotypes and an unfavorable prognosis according to the international prognostic index ( $r = 0.216, p = 0.001$  and  $r = 0.216, p = 0.006$ , respectively). Moreover, in patients who are carriers of the wArgG haplotype in the homozygous state (wArgG/wArgG diplototype), compared with other patients, the risk of non-responding to therapy was 4.6 times higher, the risk of not surviving to a 5-year time point was 4.9 times higher ( $p = 0.037$ ), including progression and relapse free – 5.5 times ( $p = 0.082$ ).

поиска ПГ в гене *TP53*. Напомним, что при анализе маркера rs78378222 также были выявлены ПГ. Суммарно с учетом обоих маркеров частота ПГ в гене *TP53* в исследуемой выборке составила 13.5 % [9, 18].

Все случаи ПГ сочетались либо с соматическими мутациями в кодирующей последовательности, возникающими в опухолевой ткани, либо с гетерозиготным/гомозиготным минорным генотипом rs78378222. В единственном случае ПГ у больного ДВККЛ без данных изменений имело место метилирование промотора гена.

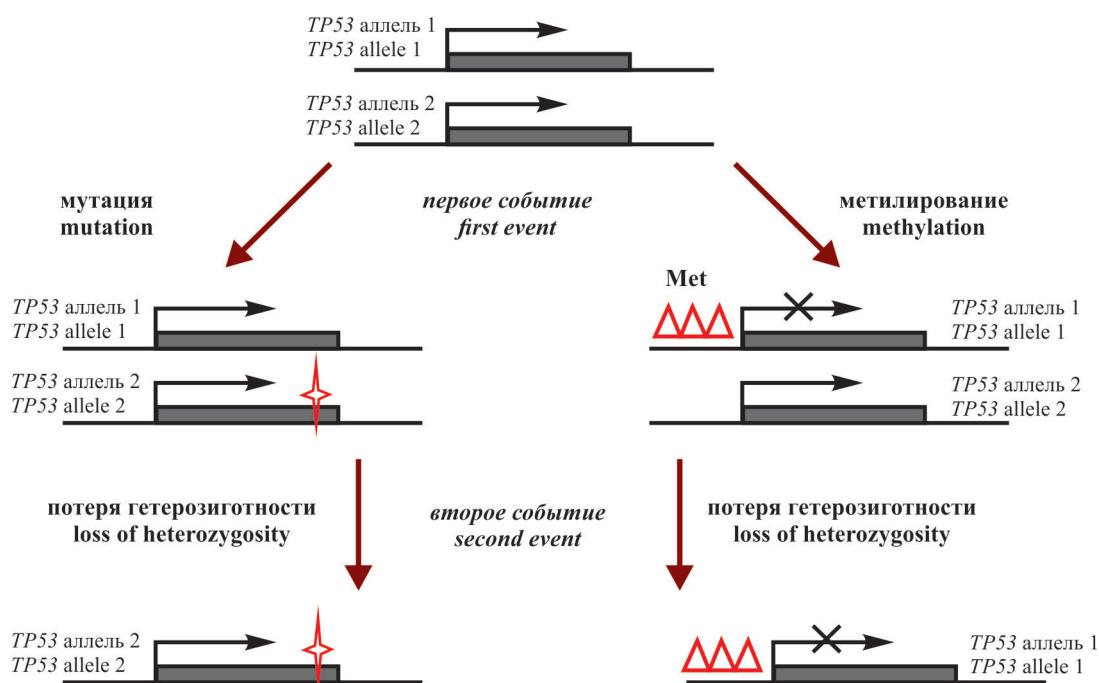
Биологический смысл данного явления следует трактовать в контексте модели канцерогенеза Кнудсона [9]. Недостаточность функции гена *TP53* при ДВККЛ может формироваться не только по классическому «двуударному» механизму, когда для развития опухоли необходимы последовательные изменения двух аллелей антионкогена: одного – в зародышевой линии, а второго за счет соматических аберраций, но и по аналогичному ему двухударному принципу с выключением двух аллелей антионкогена за счет последовательно возникающих соматических аберраций (мутаций, метилирования промотора или ПГ в различных сочетаниях) (рис. 3).

Molecular genetic aberrations in the *TP53* gene of DLBCL tumor tissue that occur *de novo*, namely functionally significant mutations in the DNA-binding domain of the gene and rs78378222 in combination with the loss of an intact allele, were associated with a more aggressive course of the tumor and a poor response to therapy (Table 2). Remission in the subgroup of patients with these aberrations was achieved only in half of the cases (50.0%), while in the subgroup of patients without aberrations in the *TP53* gene – in 3/4 of the cases (74.5%,  $p = 0.083$ ) [20].

## CONCLUSION

The *TP53* role in oncogenesis discovery proceeded simultaneously with the study of the basic mechanisms of recognition and transmission of signals inside the cell, as well as genome reparation, regulation of cell division and apoptosis, coordination of metabolic processes and immune identification. The function of the *TP53* gene and the p53 protein it encodes is associated with each of the above-mentioned processes, and these relationships are maintained at many levels, generating a single regulatory network [6].

In our studies, attention was focused on changes in *TP53* which can be registered both in healthy human tissue (inherited polymorphisms of the gene



**Рис. 3.** Двуударный механизм формирования дефицита функции гена *TP53* при ДВККЛ  
**Fig. 3.** Two-hit mechanism for the formation of *TP53* dysfunction in DLBCL

## КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ НАРУШЕНИЯ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ ГЕНА

В ходе исследования показано наличие ассоциации анализируемых функционально значимых маркеров гена *TP53* с большей выраженностью симптомов опухолевой интоксикации и параклинической активности ДВККЛ, а также большим объемом и распространенностью опухолевого процесса на момент диагностики заболевания [6]. Данные корреляционного анализа свидетельствуют о наличии статистически значимой корреляционной связи между частыми гомозиготными генотипами G/G rs1625895 и Arg/Arg rs1042522 и неблагоприятным прогнозом по международному прогностическому индексу ( $r = 0.216$ ,  $p = 0.001$  и  $r = 0.216$ ,  $p = 0.006$  соответственно). При этом у больных – носителей гаплотипа wArgG в гомозиготном состоянии (диплотип wArgG/wArgG) в сравнении с другими пациентами риск не ответить на проводимую терапию был выше в 4.6 раза, риск не дожить до 5-летнего рубежа – в 4.9 раза ( $p = 0.037$ ), в том числе без прогрессии и рецидива – в 5.5 раза ( $p = 0.082$ ).

Молекулярно-генетические нарушения в гене *TP53* опухолевой ткани ДВККЛ, возникающие *de novo*, а именно функционально значимые мутации в ДНК-связывающем домене гена и rs78378222 в сочетании с потерей нормального аллеля, были ассоциированы с более агрессивным течением опухоли и плохим ответом на терапию (табл. 2). Ремиссия в подгруппе пациентов с указанными аберрациями была достигнута лишь в половине случаев (50.0 %), тогда как в подгруппе больных без аберраций в гене *TP53* – в 3/4 случаев (74.5 %,  $p = 0.083$ ) [20].

**Таблица 2.** Риск развития неблагоприятного течения ДВККЛ при выявлении в опухолевой ткани функционально значимых мутаций в гене *TP53* и генотипа C/C rs78378222

**Table 2.** Risk of an unfavorable course of DLBCL in functionally significant mutations in the *TP53* gene and genotype C/C rs78378222 in tumor tissue

Показатель / Parameter	ОШ (95% ДИ) / OR (95% CI)	<i>p</i>
В-симптомы / B-symptoms	6.69 (1.30–23.86)	0.030
Стадия заболевания III–IV / Disease stage III–IV	1.39 (1.17–1.65)	0.010
Экстранодальные поражения / Extranodal lesions	3.26 (1.02–11.85)	0.035
Наличие поражения опухолью размером более 7 см Malignant lesion larger than 7 cm	5.27 (1.48–16.55)	0.006
Поражение костного мозга / Bone marrow involvement	4.41 (1.22–15.00)	0.019
МПИ 3–5 / IPI 3–5	4.40 (1.06–14.52)	0.019
Развитие тромбоцитопении / Thrombocytopenia	54.00 (5.37–245.8)	<0.000
Развитие анемии / Anemia	26.5 (4.22–108.4)	<0.000
Общая выживаемость / Overall survival	3.84 (1.07–12.17)	0.012

Примечание. ДВККЛ – диффузная В-крупноклеточная лимфома; ОШ – отношение шансов; ДИ – доверительный интервал; МПИ – международный прогностический индекс.

Note. DLBCL – diffuse large B-cell lymphoma; OR – odds ratio; CI – confidence interval; IPI – international prognostic index.

and their combinations as part of haplotypes) and predispose to tumor development, and generate in lymphocytes *de novo* at various stages of tumor progression, and be recorded in DLBCL tumor tissue (mutations, allelic imbalance and gene promoter methylation) [21].

The data obtained show that a comprehensive analysis of the *TP53* gene status is more informative and demonstrates the presence of a large percentage of combined gene aberrations in patients with DLBCL. It has been established that in at least a third of cases, the formation of DLBCL is accompanied by the processes of acquisition, fixation and accumulation of sequential genetic aberrations in the *TP53* gene which contribute to malignant transformation of B lymphocytes.

The results obtained are valuable not only from a fundamental but also from a practical point of view. Thus, it has been shown that the status of the *TP53* gene in DLBCL particularly is the biological basis of the clinical parameters included in the IPI, and the preserved function of *TP53* is crucial for slowing the rate of tumor progression and achieving a favorable outcome of the disease in modern therapy for DLBCL including the monoclonal anti-CD20 antibody drug, rituximab.

**Financing.** The work was carried out at the expense of the State Assignment on the budget project No. FWNR-2024-0004.

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

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Раскрытие роли *TP53* в онкогенезе шло параллельно с изучением базовых механизмов распознавания и проведения сигналов внутри клетки, reparации генома, регуляции клеточного деления и апоптоза, координации метаболических процессов и иммунологического распознавания. Функция гена *TP53* и кодируемого им белка p53 связана с каждым из перечисленных процессов, причем эти связи поддерживаются на многих уровнях, образуя единую регуляторную сеть [6].

В проводимых нами исследованиях внимание было сосредоточено на изменениях в *TP53*, которые могут регистрироваться как в здоровой ткани человека (наследуемые полиморфизмы гена и их сочетания в составе гаплотипов) и предрасполагать к развитию опухоли, так и возникать в лимфоцитах *de novo* на различных этапах опухолевой прогрессии и регистрироваться в опухолевой ткани ДВКЛ (мутации, аллельный дисбаланс и метилирование промотора гена) [21].

Полученные нами данные свидетельствуют о большей информативности комплексного анализа статуса гена *TP53* и демонстрируют наличие у больных ДВКЛ большого процента сочетан-

ных повреждений гена. Установлено, что по крайней мере в трети случаев формирование ДВКЛ сопровождается процессами приобретения, закрепления и накопления последовательных генетических аберраций в гене *TP53*, способствующих преобразованию нормальных В-лимфоцитов в злокачественные.

Полученные результаты имеют ценность не только с фундаментальной, но и с практической точки зрения. Так, показано, что именно статус гена *TP53* при ДВКЛ является биологической основой клинических параметров, включенных в МПИ, а сохранная функция *TP53* имеет решающее значение для замедления темпов прогрессирования опухоли и достижения благоприятного исхода заболевания при современной терапии ДВКЛ с включением препарата моноклонального анти-CD20 антитела – ритуксимаба.

**Финансирование.** Работа выполнена за счет средств Государственного задания по бюджетной теме № FWNR-2024-0004.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Wight J.C., Chong G., Grigg A.P., Hawkes E.A. Prognostication of diffuse large B-cell lymphoma in the molecular era: moving beyond the IPI // *Blood Rev.* 2018;32(5):400-415. DOI: 10.1016/j.blre.2018.03.005.
2. He J., Chen Z., Xue Q. et al. Identification of molecular subtypes and a novel prognostic model of diffuse large B-cell lymphoma based on a metabolism-associated gene signature // *J. Transl. Med.* 2022;20(1):186. DOI: 10.1186/s12967-022-03393-9.
3. Donehower L.A., Soussi T., Korkut A. et al. Integrated analysis of *TP53* gene and pathway alterations in The Cancer Genome Atlas // *Cell Rep.* 2019;28(5):1370-1384.e5. DOI: 10.1016/j.celrep.2019.07.001.
4. Lu T.X., Young K.H., Xu W., Li J.Y. TP53 dysfunction in diffuse large B-cell lymphoma // *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* 2016;97:47-55. DOI: 10.1016/j.critrev-onc.2015.08.006.
5. Чумаков П.М. Белок p53 и его универсальные функции в многоклеточном организме // Успехи биологической химии. 2007;47:3-52.
6. Воропаева Е.Н., Пospelova Т.И., Воевода М.И. Ген *TP53* при диффузной В-крупноклеточной лимфоме. Новосибирск: Наука, 2018. 164 с.
7. Olivier M., Hollstein M., Hainaut P. TP53 mutations in human cancers: origins, consequences, and clinical use // *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 2010;2(1):a001008. DOI: 10.1101/cshperspect.a001008.
8. Li X., Luo D., Zhang L. et al. Accurate interpretation of p53 immunohistochemical patterns is a surrogate biomarker for *TP53* alterations in large B-cell lymphoma.

## REFERENCES

1. Wight J.C., Chong G., Grigg A.P., Hawkes E.A. Prognostication of diffuse large B-cell lymphoma in the molecular era: moving beyond the IPI. *Blood Rev.* 2018;32(5):400-415. DOI: 10.1016/j.blre.2018.03.005.
2. He J., Chen Z., Xue Q. et al. Identification of molecular subtypes and a novel prognostic model of diffuse large B-cell lymphoma based on a metabolism-associated gene signature. *J. Transl. Med.* 2022;20(1):186. DOI: 10.1186/s12967-022-03393-9.
3. Donehower L.A., Soussi T., Korkut A. et al. Integrated analysis of *TP53* gene and pathway alterations in The Cancer Genome Atlas. *Cell Rep.* 2019;28(5):1370-1384.e5. DOI: 10.1016/j.celrep.2019.07.001.
4. Lu T.X., Young K.H., Xu W., Li J.Y. TP53 dysfunction in diffuse large B-cell lymphoma. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* 2016;97:47-55. DOI: 10.1016/j.critrev-onc.2015.08.006.
5. Chumakov P.M. Protein p53 and its universal functions in a multicellular organism. *Uspekhi Biologicheskoi Khimii.* 2007;47:3-52. (In Russ.)
6. Voropaeva E.N., Pospelova T.I., Voevoda M.I. (2018). *TP53 Gene in Diffuse Large B-cell Lymphoma*. Novosibirsk: Nauka, 164 p. (In Russ.)
7. Olivier M., Hollstein M., Hainaut P. TP53 mutations in human cancers: origins, consequences, and clinical use. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 2010;2(1):a001008. DOI: 10.1101/cshperspect.a001008.
8. Li X., Luo D., Zhang L. et al. Accurate interpretation of p53 immunohistochemical patterns is a surrogate biomarker for *TP53* alterations in large B-cell lymphoma.

rogate biomarker for *TP53* alterations in large B-cell lymphoma // *BMC Cancer*. 2023;23(1):1008. DOI: 10.1186/s12885-023-11513-x.

9. Воропаева Е.Н., Поспелова Т.И., Воевода М.И., Максимов В.Н. Результаты комплексного анализа статуса гена *TP53* у больных диффузной В-крупноклеточной лимфомой // Гематология и трансфузиология. 2016;61(3):138-143. DOI: 10.18821/0234-5730-2016-61-3-138-143.
10. Трифонова Е.А., Спиридонова М.Г., Габидулина Т.В. и др. Анализ структуры неравновесия по сцеплению и ассоциации полиморфных вариантов гена *MTHFR* с коронарным атеросклерозом // Генетика. 2012;48(10):1207-1220.
11. Воропаева Е.Н., Воевода М.И., Поспелова Т.И., Максимов В.Н. Неравновесие по сцеплению полиморфных маркеров rs1042522, rs1625895 и rs17878362 и гаплотипы гена *TP53* у больных диффузной В-крупноклеточной лимфомой // Молекулярная биология. 2014;48(5):763-770. DOI: 10.7868/S0026898414050176.
12. Сметанникова Н.А., Максимов В.Н., Устинов С.Н. и др. Генотипы и гаплотипы гена-онкосупрессора *p53*: ассоциация с продолжительностью жизни у русских Новосибирской области // Сибирский онкологический журнал. 2006;2(18):37-41.
13. Voropaeva E.N., Pospelova T.I., Voevoda M.I., Maksimov V.N. Frequency, spectrum, and functional significance of *TP53* mutations in patients with diffuse large B-cell lymphoma // *Mol. Biol.* 2017;51(1):53-60. DOI: 10.7868/S0026898416060227.
14. Ebid O.A.E.H., Ezz El Arab L.R., Saad A.S. et al. Prognostic impact of *MYD88* and *TP53* mutations in diffuse large B cell lymphoma // *Ann. Hematol.* 2023;102(12):3477-3488. DOI: 10.1007/s00277-023-05420-1.
15. Landsburg D.J., Morrissette J.J., Nasta S.D. et al. *TP53* mutations predict for poor outcomes in patients with newly diagnosed aggressive B-cell lymphomas in the current era // *Blood Adv.* 2023;7(23):7243-7253. DOI: 10.1182/bloodadvances.2023011384.
16. Olivier M., Hainaut P. IARC *TP53* Database // Schwab M. (eds.). Encyclopedia of Cancer. Springer Berlin, Heidelberg, 2017. DOI: 10.1007/978-3-642-16483-5\_2934.
17. Воропаева Е.Н., Поспелова Т.И., Воевода М.И., Максимов В.Н. Сравнительный анализ мутаций в гене *TP53* у больных ДВКЛ г. Новосибирска с данными, представленными в IARC *TP53* mutation database // Медицинская генетика. 2016;15(4(166)):17-20. DOI: 10.1234/XXXX-XXXX-2016-4-17-20.
18. Voropaeva E.N., Gurageva A.A., Voevoda M.I. et al. The rs78378222 prevalence and the copy loss of the protective allele A in the tumor tissue of diffuse large B-cell lymphoma // *Peer J.* 2020;8:e10335. DOI: 10.7717/peerj.10335.
19. Couronné L., Rumin P., Waultier-Rascalou A. et al. Mutation mismatch repair gene deletions in diffuse large B-cell lymphoma // *Leuk. Lymphoma*. 2013;54(5):1079-1086. DOI: 10.3109/10428194.2012.739687.
20. Voropaeva E.N., Pospelova T.I., Voevoda M.I. et al. Clinical aspects of *TP53* gene inactivation in diffuse large B-cell lymphoma // *BMC Med Genomics*. 2019;12(2):35. DOI: 10.1186/s12920-019-0484-9.
21. Pospelova T.I., Voropaeva E.N., Voevoda M.I., Berzinina O.V. *P53* polymorphism as a potential marker *BMC Cancer*. 2023;23(1):1008. DOI: 10.1186/s12885-023-11513-x.
9. Voropaeva E.N., Pospelova T.I., Voevoda M.I., Maksimov V.N. The results of complex analysis of *TP53* gene status in patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Russian journal of hematology and transfusiology*. 2016;61(3):138-143. DOI: 10.18821/0234-5730-2016-61-3-138-143. (In Russ.)
10. Trifonova E.A., Spiridonova M.G., Gabidulina T.V. et al. Analysis of the *MTHFR* gene of linkage disequilibrium structure and association of polymorphic variants of the *MTHFR* gene with coronary atherosclerosis. *Genetika*. 2012;48(10):1207-1220. (In Russ.)
11. Voropaeva E.N., Voevoda M.I., Pospelova T.I., Maksimov V.N. Linkage disequilibrium and haplotypes of rs1042522, rs1625895 and rs17878362 gene *TP53* markers in patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Molecular Biology*. 2014;48(5):763-770. DOI: 10.7868/S0026898414050176. (In Russ.)
12. Smetannikova N.A., Maksimov V.N., Ustinov S.N. et al. Genotypes and haplotypes of *p53* suppressor gene: association with lifetime of the Russian people of Novosibirsk area. *Siberian Journal of Oncology*. 2006;2(18):37-41. (In Russ.)
13. Voropaeva E.N., Pospelova T.I., Voevoda M.I., Maksimov V.N. Frequency, spectrum, and functional significance of *TP53* mutations in patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Molecular Biology*. 2017;51(1):53-60. DOI: 10.7868/S0026898416060227.
14. Ebid O.A.E.H., Ezz El Arab L.R., Saad A.S. et al. Prognostic impact of *MYD88* and *TP53* mutations in diffuse large B cell lymphoma. *Ann. Hematol.* 2023;102(12):3477-3488. DOI: 10.1007/s00277-023-05420-1.
15. Landsburg D.J., Morrissette J.J., Nasta S.D. et al. *TP53* mutations predict for poor outcomes in patients with newly diagnosed aggressive B-cell lymphomas in the current era. *Blood Adv.* 2023;7(23):7243-7253. DOI: 10.1182/bloodadvances.2023011384.
16. Olivier M., Hainaut P. IARC *TP53* Database // Schwab M. (eds.). Encyclopedia of Cancer. Springer Berlin, Heidelberg, 2017. DOI: 10.1007/978-3-642-16483-5\_2934.
17. Voropaeva E.N., Pospelova T.I., Voevoda M.I., Maksimov V.N. Comparative analysis of *TP53* gene mutations in patients with DLBCL of Novosibirsk with data presented in IARC *TP53* mutation database. *Medical Genetics*. 2016;15(4(166)):17-20. DOI: 10.1234/XXXX-XXXX-2016-4-17-20. (In Russ.)
18. Voropaeva E.N., Gurageva A.A., Voevoda M.I. et al. The rs78378222 prevalence and the copy loss of the protective allele A in the tumor tissue of diffuse large B-cell lymphoma. *Peer J.* 2020;8:e10335. DOI: 10.7717/peerj.10335.
19. Couronné L., Rumin P., Waultier-Rascalou A. et al. Mutation mismatch repair gene deletions in diffuse large B-cell lymphoma. *Leuk. Lymphoma*. 2013;54(5):1079-1086. DOI: 10.3109/10428194.2012.739687.
20. Voropaeva E.N., Pospelova T.I., Voevoda M.I. et al. Clinical aspects of *TP53* gene inactivation in diffuse large B-cell lymphoma. *BMC Med Genomics*. 2019;12(2):35. DOI: 10.1186/s12920-019-0484-9.
21. Pospelova T.I., Voropaeva E.N., Voevoda M.I., Berzinina O.V. *P53* polymorphism as a potential marker

21. Пospelова Т.И., Воропаева Е.Н., Воевода М.И., Березина О.В. Полиморфизм гена *P53* как потенциальный маркер предрасположенности к развитию неходжкинских злокачественных лимфом // Гематология и трансфузиология. 2010;55(1):11-17.

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

**Пospelова Татьяна Ивановна** – д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой терапии, гематологии и трансфузиологии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия. ORCID: oooo-0002-1261-5470.

**Воропаева Елена Николаевна** – д-р мед. наук, доцент кафедры терапии, гематологии и трансфузиологии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России; ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний НИИ терапии и профилактической медицины – филиала ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», Новосибирск, Россия. ORCID: oooo-0001-7542-7285.

**Максимов Владимир Николаевич** – д-р мед. наук, профессор кафедры медицинской генетики и биологии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России; заведующий лабораторией молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний НИИ терапии и профилактической медицины – филиала ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», Новосибирск, Россия. ORCID: oooo-0002-7165-4496.

**Скворцова Наталья Валерьевна** – д-р мед. наук, доцент кафедры терапии, гематологии и трансфузиологии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия. ORCID: oooo-0001-6938-3802.

**Воевода Михаил Иванович** – академик РАН, д-р мед. наук, профессор, директор ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины», Новосибирск, Рос-

ия. ORCID: oooo-0001-9425-413X.

## ABOUT THE AUTHORS

**Tatiana I. Pospelova** – Dr. Sci. (Med.), Professor, Head, Department of Therapy, Hematology and Transfusiology, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia. ORCID: oooo-0002-1261-5470.

**Elena N. Voropaeva** – Dr. Sci. (Med.), Associate Professor, Department of Therapy, Hematology and Transfusiology, Novosibirsk State Medical University; Leading Researcher, Laboratory of Molecular Genetic Research of Internal Diseases, Research Institute of Internal and Preventive Medicine – the Branch of the Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia. ORCID: oooo-0001-7542-7285.

**Vladimir N. Maksimov** – Dr. Sci. (Med.), Professor, Department of Medical Genetics and Biology, Novosibirsk State Medical University; Head, Laboratory of Molecular Genetic Research of Internal Diseases of the Internal Institute of Therapy and Preventive Medicine – Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia. ORCID: oooo-0002-7165-4496.

**Skvortsova Natalia V.** – Dr. Sci. (Med.), Associate Professor, Department of Therapy, Hematology and Transfusiology, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia. ORCID: oooo-0001-6938-3802.

**Mikhail I. Voevoda** – Academician, Russian Academy of Sciences, Dr. Sci. (Med.), Professor, Director, Federal Research Center for Fundamental and Translational Medicine, Novosibirsk, Russia. ORCID: oooo-0001-9425-413X.

## Пациент-ориентированный подход к назначению системной терапии псориаза генно-инженерными биологическими препаратами: клинический случай

О.Б. Немчанинова<sup>1</sup>, О.Н. Позднякова<sup>1</sup>, Е.Ю. Склянова<sup>1</sup>, А.С. Часнык<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия

<sup>2</sup>ФГАОУ ВО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», Новосибирск, Россия

### АННОТАЦИЯ

В последние десятилетия для лечения пациентов с псориазом умеренного и тяжелого течения активно внедряются генно-инженерные биологические препараты (ГИБП), применение которых рекомендовано при недостаточной эффективности базисных средств системного лечения псориаза либо при наличии противопоказаний к таковым. Однако в последнее время все чаще среди экспертов поднимается вопрос о применении ГИБП на ранней стадии агрессивного течения болезни, особенно в случаях, когда псориаз становится причиной значительной психологической и социальной дезадаптации пациента, проблем с установлением межличностных и социальных отношений, ощущения стигматизации и снижения качества трудовой деятельности. Особого внимания в этом отношении требует ладонно-подошвенный псориаз, который связан с большими трудностями в повседневной и в профессиональной жизни.

В статье представлено клиническое наблюдение успешного раннего применения генно-инженерной биологической терапии (ГИБТ) пациентки для купирования симптомов ладонно-подошвенного псориаза и дистального межфалангового псориатического артрита, начатого на ранних этапах развития заболевания в связи со значительным снижением качества жизни и трудовой деятельности, а также по причине ее категорического отказа от системной базисной терапии метотрексатом.

После проведения 4-недельного инициирующего курса секукинумаба отмечен практически полный регресс псориатических высыпаний и симптомов псориатического артрита. Психоэмоциональное состояние пациентки стабилизировалось. Выполнение манипуляций, связанных со своими профессиональными обязанностями, затруднений вследствие заболевания не вызывает.

ГИБП для лечения среднетяжелых и тяжелых форм заболевания стали важнейшим достижением, позволяющим не только получать высокий уровень терапевтического ответа, но и успешно бороться с психосоциальными последствиями заболевания. В российских клинических рекомендациях используется ступенчатый подход в лечении псориаза. К первой линии системной терапии относятся препараты базисной противовоспалительной терапии – метотрексат, ретиноиды для лечения псориаза, циклоспорин, ультрафиолетовое облучение кожи. При их неэффективности, непереносимости или наличии противопоказаний к их применению рассматривают вопрос назначения ГИБТ. Представленный клинический случай демонстрирует, что категорический отказ пациента от системной базисной терапии псориаза также может рассматриваться как возможная причина раннего применения ГИБП, позволяющего восстановить как физический, так и психосоциальный статус пациента.

**Ключевые слова:** псориаз, генно-инженерные биологические препараты, секукинумаб, ладонно-подошвенный псориаз, дистальный межфаланговый псориатический артрит.

**Образец цитирования:** Немчанинова О.Б., Позднякова О.Н., Склянова Е.Ю., Часнык А.С. Пациент-ориентированный подход к назначению системной терапии псориаза генно-инженерными биологическими препаратами: клинический случай // Journal of Siberian Medical Sciences. 2024;8(1):128-143. DOI: 10.31549/2542-1174-2024-8-1-128-143

Поступила в редакцию 17.04.2023  
Прошла рецензирование 05.05.2023  
Принята к публикации 25.05.2023

Автор, ответственный за переписку  
Склянова Елена Юрьевна: ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России. 630091, г. Новосибирск, Красный просп., 52.  
E-mail: sklyanova.elena@yandex.ru

Received 17.04.2023  
Revised 05.05.2023  
Accepted 25.05.2023

Corresponding author  
Elena Yu. Sklyanova: Novosibirsk State Medical University, 52, Krasny prosp., Novosibirsk, 630091, Russia.  
E-mail: sklyanova.elena@yandex.ru

## Patient-oriented approach to prescribing systemic therapy for psoriasis with biologics: a case report

O.B. Nemchaninova<sup>1</sup>, O.N. Pozdnyakova<sup>1</sup>, E.Yu. Sklyanova<sup>1</sup>, A.S. Chasnyk<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia*

<sup>2</sup>*Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia*

### ABSTRACT

In recent decades, for the treatment of patients with moderate to severe psoriasis, biologics have been actively developed, the use of which is recommended when the psoriasis systemic treatment is insufficiently effective or if there are contraindications to it. However, in recent years, experts have increasingly raised the question of the use of biologics at an early stage of the aggressive course of the disease, especially in cases where psoriasis causes significant psychosocial maladjustment in the patient, problems with establishing interpersonal and social relationships, a feeling of stigmatization and a decrease in the quality of work. Palmoplantar psoriasis which is associated with great difficulties in daily and occupational life requires special attention in this regard.

The article presents a case report that shows the successful early use of therapy with biologics in a patient to relieve symptoms of palmoplantar psoriasis and distal interphalangeal psoriatic arthritis which began in the early stages of the disease due to a significant decrease in the quality of life and work activity, as well as of an emphatic refusal of systemic basic therapy with methotrexate.

After a 4-week initial course of secukinumab, almost complete regression of psoriatic eruptions and symptoms of psoriatic arthritis was noted. The patient's psychoemotional state has stabilized. Performing manipulations related to one's occupational duties does not cause any difficulties due to the disease.

Biologics for the treatment of moderate and severe forms of the disease have become a major advance allowing not only to obtain a high level of therapeutic response but also to successfully correct the psychosocial consequences of the disease. Russian clinical guidelines use a stepwise approach to the treatment of psoriasis. The first-line systemic therapy includes basic anti-inflammatory drugs – methotrexate, retinoids for the treatment of psoriasis, cyclosporine, ultraviolet irradiation of the skin. In the case of their ineffectiveness, intolerance or the presence of contraindications, prescribing biologics is considered. The presented case report demonstrates that the patient's emphatic refusal of systemic basic therapy for psoriasis can also be considered as a possible reason for the early use of biologics which allows recovering both the physical and psychosocial status of the patient.

**Keywords:** psoriasis, biologics, secukinumab, palmoplantar psoriasis, psoriatic distal interphalangeal arthritis.

**Citation example:** Nemchaninova O.B., Pozdnyakova O.N., Sklyanova E.Yu., Chasnyk A.S. Patient-oriented approach to prescribing systemic therapy for psoriasis with biologics: a case report. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2024;8(1):128-143. DOI: 10.31549/2542-1174-2024-8-1-128-143

### ВВЕДЕНИЕ

Псориаз – хроническое заболевание мультифакториальной природы с доминирующим значением в развитии генетических факторов, характеризующееся ускоренной пролиферацией кератиноцитов и нарушением их дифференцировки, дисбалансом между провоспалительными и противовоспалительными цитокинами, с частыми патологическими изменениями опорно-двигательного аппарата [1]. Первое упоминание о псориазе связывают еще с именем Гиппократа. Однако начало изучения псориаза как самостоятельной нозологии пришло лишь на начало XIX в. С развитием в конце XX столетия генетики и иммунологии появляются новые данные о механизмах развития псориаза, в связи с чем

### INTRODUCTION

Psoriasis is a chronic disease of a multifactorial nature with a dominant role in the development of genetic factors, characterized by accelerated proliferation and impaired differentiation of keratinocytes, an imbalance between pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines, with frequent pathological changes in the musculoskeletal system [1]. The first mention of psoriasis is associated with the name of Hippocrates. However, the study of psoriasis as an independent entity started only at the beginning of the 19th century. With the development of genetics and immunology at the end of the 20th century, new data on the mechanisms of the psoriasis development appear, and therefore, the concepts of the disease are changing and, accord-

меняются представления о болезни и, соответственно, эволюционируют подходы и возможности системного лечения среднетяжелых и тяжелых форм псориаза [2–4].

История лечения пациентов с псориазом значительно изменилась с точки зрения безопасности, эффективности и переносимости терапии. Так, до середины XX в. широко используемым препаратом в лечении являлся токсичный мышьяк с узким терапевтическим диапазоном действия. С начала 1950-х гг. в системной терапии псориаза применялись глюокортикоиды, при этом отмечалась их умеренная эффективность при пероральном приеме. В это же время впервые в лечении заболевания был использован метотрексат, который до сих пор является препаратом первой линии традиционной базисной противовоспалительной терапии псориаза. Механизм действия метотрексата на псориатический процесс заключается в снижении синтеза РНК и ДНК в активированных Т-клетках и кератиноцитах через угнетение ферментативной активности дигидрофосфалатредуктазы и тимидилатсинтетазы, что оказывает иммуносупрессорное и антипрофилеративное действие. Вместе с тем прием препарата сопровождается токсическим действием на желудочно-кишечный тракт, гепатобилиарную, иммунную, кроветворную, нервную систему и т.д. В 1979 г. появились первые сообщения о том, что циклоспорин улучшает течение псориаза у пациентов с псориатическим артритом, хотя механизм его действия оставался невыясненным. Позже была изучена роль Т-клеток в иммунопатогенезе псориаза и установлено, что циклоспорин, угнетая активность фермента кальциневрина, приводит к прекращению синтеза IL-2, необходимого для пролиферации Т-клеток, а следовательно – к подавлению Т-клеточного воспалительного ответа. Однако применение этого лекарственного средства ограничено узким терапевтическим индексом, невозможностью длительного применения и спектром нежелательных явлений, основные из которых – артериальная гипертензия и необратимая нефротоксичность. Революцию в мире медицины произвело открытие Жоржем Кёлером и Сезаром Мильштейном технологии получения моноклональных антител, за которое в 1984 г. ученые были удостоены Нобелевской премии в области физиологии и медицины. Благодаря этому событию последние десятилетия ведется активное внедрение генно-инженерных биологических препаратов (ГИБП) в клиническую практику, в том числе в дермато-

logy, approaches and possibilities for systemic treatment of moderate to severe psoriasis evolve [2–4].

The history of treatment of patients with psoriasis has changed significantly in terms of safety, effectiveness and tolerance of therapy. So, until the middle of the 20th century a widely used drug in treatment was toxic arsenic with a narrow therapeutic range. Since the early 1950-s, glucocorticosteroids were used in the systemic treatment of psoriasis, and their moderate effectiveness in oral administration was noted. At the same time, methotrexate was used for the first time in the treatment of the disease, still remaining the first-line drug of conventional basic anti-inflammatory therapy for psoriasis. The mechanism of action of methotrexate on the psoriatic process is to reduce the synthesis of RNA and DNA in activated T cells and keratinocytes via inhibition of the enzymatic activity of dihydrophosphalate reductase and thymidylate synthetase, immunosuppressive and antiproliferative effects. However, the use of this drug is accompanied by toxic effects on the gastrointestinal tract, hepatobiliary, immune, hematopoietic, nervous system, etc. In 1979, the first reports appeared that cyclosporine improved the course of psoriasis in patients with psoriatic arthritis, although its mechanism of action remained unclear. Later, the role of T cells in the immunopathogenesis of psoriasis was studied and it was found that cyclosporine, inhibiting the activity of enzyme calcineurin, leads to the cessation of the synthesis of IL-2, necessary for T cell proliferation, therefore, to the suppression of the T cell inflammatory response. However, the use of this drug is limited by a narrow therapeutic index, the impossibility of long-term treatment and a range of adverse effects, the main of which are arterial hypertension and irreversible nephrotoxicity. A revolution in the field of medicine was made by the discovery of technology for producing monoclonal antibodies by Georges J.F. Köhler and César Milstein, for which scientists were awarded the Nobel Prize in Physiology or Medicine in 1984. Thanks to this event, in recent decades there has been an active introduction of engineered biologics into clinical practice, including dermatology, for the treatment of patients with moderate to severe psoriasis [2, 3, 5].

Monoclonal antibodies are immunoglobulins obtained from a single cell clone and characterized by binding specificity to only one antigen – a certain inflammatory mediator. The main differences between biologics and drugs obtained by chemical synthesis are their higher molecular weight, temper-

логию, для лечения пациентов с псориазом умеренного и тяжелого течения [2, 3, 5].

Моноклональные антитела – это иммуноглобулины, полученные из одного клеточного клона и характеризующиеся специфичностью связывания только с одним антигеном – определенным медиатором воспаления. Главные отличия ГИБП от препаратов, полученных путем химического синтеза, заключаются в их более высокой молекулярной массе, температурной чувствительности, катаболизме, аналогичном эндогенным белкам организма, отсутствии роли цитохрома P450 в метаболизме и биологическом, а не фармакологическом механизме действия. Благодаря своей высокой специфичности моноклональные антитела низкотоксичны и вызывают минимальное количество побочных эффектов. Группа препаратов биологической терапии неоднородна и различается между собой строением молекулы, степенью гуманизации и фармакодинамикой [3, 6, 7].

Первыми моноклональными антителами, которые стали использоваться в практическом здравоохранении, стали ингибиторы фактора некроза опухоли- $\alpha$  (ФНО- $\alpha$ ), ключевого эффекторного цитокина при хронических иммуноопосредованных воспалительных заболеваниях. Инфликсимаб был первым ГИБП, одобренным для лечения дерматоза на территории Российской Федерации в 2006 г. Он представляет собой моноклональное химерное антитело класса IgG1 к ФНО- $\alpha$ , способное связывать как растворимые, так и трансмембранные формы цитокина, нейтрализуя эффекты последнего. Таким образом вызывается апоптоз активированных Т-лимфоцитов и кератиноцитов кожи, уменьшается воспаление и тормозится ангиогенез в псориатической бляшке. Однако, как известно, все ГИБП являются белками, а следовательно, способны вызывать иммунный ответ и образование антител к препарату, что получило название «иммуногенность». Причины развития иммуногенности многообразны и включают в себя как индивидуальные особенности пациента, так и свойства лекарственного препарата – его происхождение и структуру молекулы. Поскольку инфликсимаб на 25 % состоит из мышиного белка, негомологичного для человеческого организма, то его иммуногенность довольно высока и непосредственно влияет на его фармакокинетические характеристики: повышение почечного клиренса, уменьшение периода полувыведения препарата и его концентрации в крови, что приводит к потере клинического ответа [3, 8–10].

ature sensitivity, catabolism similar to endogenous proteins in the body, the absence of the cytochrome P450 role in metabolism and a biological rather than pharmacological mechanism of action. Due to their high specificity, monoclonal antibodies are low-toxic and cause minimal side effects. The group of biologics is heterogeneous and differs in molecular structure, degree of humanization and pharmacodynamics [3, 6, 7].

The first monoclonal antibodies to be used in practical healthcare were inhibitors of tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), a key effector cytokine in chronic immune-mediated inflammatory diseases. Infliximab was the first biologic agent approved for the treatment of dermatosis in the Russian Federation in 2006. It is a monoclonal chimeric TNF- $\alpha$  antibody of the IgG1 class, capable of binding both soluble and transmembrane forms of cytokine, neutralizing the effects of the latter. This causes apoptosis of activated T lymphocytes and keratinocytes of the skin, reduces inflammation and inhibits angiogenesis in the psoriatic plaque. However, as is known, all biologics are proteins and, therefore, are capable of inducing an immune response and the formation of antibodies to the drug, which is called “immunogenicity.” The reasons for the development of immunogenicity are diverse and include both the individual characteristics of a patient and the properties of a drug – its origin and molecular structure. Since infliximab consists of 25% murine protein, which is not homologous to the human body, its immunogenicity is quite high and directly affects its pharmacokinetic characteristics: increased renal clearance, decreased half-life of the drug and its blood concentration, which leads to loss of clinical response [3, 8–10].

Another TNF- $\alpha$  inhibitor is etanercept, the molecular structure of which is represented by two proteins: the human TNF- $\alpha$  receptor conjugated to the Fc fragment of human IgG1. The mechanism of action of etanercept is the competitive interaction of the drug with TNF- $\alpha$  and the prevention of cytokine binding to the receptor on the surface of the target cell. In this way, the mediator-based cellular immune response is inhibited. According to the literature, etanercept exhibits immunogenicity less frequently than other TNF- $\alpha$  inhibitors: its frequency ranges from 0–18.3% among patients receiving treatment [10, 11]. A completely identical to human monoclonal TNF- $\alpha$  antibody is adalimumab. A distinctive feature of the drug is its slow absorption and distribution, the maximum concentration is reached 5 days after administration. Reports on the immunogenicity of adalimumab have been varying: the incidence of

Еще одним ингибитором ФНО- $\alpha$  является этанерцепт, структура молекулы которого представлена двумя белками: рецептором человеческого ФНО- $\alpha$ , конъюгированного с Fc-фрагментом IgG1 человека. Механизм действия этанерцепта заключается в конкурентном взаимодействии препарата с ФНО- $\alpha$  и предотвращении связывания цитокина с рецептором на поверхности клетки-мишени. Таким образом реализуется торможение опосредованного медиатором клеточного иммунного ответа. Согласно литературным данным этанерцепт проявляет иммуногенность реже, чем другие ингибиторы ФНО- $\alpha$ : ее частота колеблется пределах 0–18.3 % среди пациентов, получающих лечение [10, 11]. Полностью идентичным человеческому моноклональным антителом к ФНО- $\alpha$  является адалимумаб. Отличительной чертой препарата является его медленное всасывание и распределение, максимальная концентрация достигается через 5 дней после введения. Сообщения об иммуногенности адалимумаба разнятся: частота встречаемости нейтрализующих антител к препарату колеблется от 6.5 до 45 %, что ограничивает его клиническую эффективность [10, 11]. Относительно новым ингибитором ФНО- $\alpha$  является цертолизумаб пэгол. Особенность препарата заключается в его структуре: антигенсвязывающий фрагмент гуманизированного антитела конъюгирован с фрагментом полиэтиленгликоля, что, с одной стороны, увеличивает период полувыведения цертолизумаба пэгола аналогично таковому для полного антитела, а с другой – отсутствие Fc-фрагмента иммуноглобулина предотвращает фиксацию комплемента и не провоцирует антителозависимую клеточную цитотоксичность [10, 11]. Известно, что ФНО- $\alpha$  участвует в ранних стадиях воспалительного процесса и обладает широким спектром биологической активности за счет способности индуцировать экспрессию других провоспалительных цитокинов и хемоаттрактантов, усиливать их эффекты. Именно с универсальным механизмом действия ключевого медиатора воспаления и связаны возможные осложнения на фоне применения ингибиторов ФНО- $\alpha$ : увеличение риска возникновения оппортунистических инфекций, туберкулеза, неопластических процессов [8, 12].

Отличным от ингибиторов ФНО- $\alpha$  механизмом действия обладает устекинумаб – полностью человеческое моноклональное антитело к субъединице Р40, которая является общей для IL-12 и IL-23. При связывании с IL-12 устекинумаб предотвращает взаимодействие цитокина с рецепто-

neutralizing antibodies to the drug ranges from 6.5 to 45%, which limits its clinical effectiveness [10, 11]. A relatively new TNF- $\alpha$  inhibitor is certolizumab pegol. The peculiarity of the drug lies in its structure: the antigen-binding fragment of a humanized antibody is conjugated to a fragment of polyethylene glycol, which, on the one hand, increases the half-life of certolizumab pegol similar to that for a complete antibody and, on the other hand, the absence of the immunoglobulin Fc fragment prevents complement fixation and does not provoke antibody-dependent cellular cytotoxicity [10, 11]. It is known that TNF- $\alpha$  is involved in the early stages of the inflammatory process and has a wide range of biological activity due to the ability to induce the expression of other proinflammatory cytokines and chemoattractants, and enhance their effects. It is with the universal mechanism of action of the key inflammatory mediator that possible complications associated with the use of TNF- $\alpha$  inhibitors are associated: an increased risk of opportunistic infections, tuberculosis and neoplastic processes [8, 12].

Ustekinumab, a fully human monoclonal antibody to the P40 subunit, which is common to IL-12 and IL-23, has a mechanism of action different from TNF- $\alpha$  inhibitors. When bound to IL-12, ustekinumab prevents the interaction of the cytokine with immune cell receptors and, as a result, reduces the number of the Th1 subpopulation. Inhibition of IL-23 activity reduces Th17 differentiation from naïve T lymphocytes. In this way, the production of pro-inflammatory mediators by Th1 and Th17 cells, which play an important role in the immune pathogenesis of the disease, is stopped. During monotherapy with ustekinumab, patients do not experience an increased risk of serious infections compared with the use of TNF- $\alpha$  inhibitors and basic anti-inflammatory drugs. In addition, the low immunogenicity of the drug was established with the frequency of antibodies occurring in 3.8–6.0% of patients [3, 8, 10, 11].

As a result of further immunological and genetic studies, the leading role of the IL-23/IL-17 immune axis in the maintenance, regulation and enhancement of the inflammatory process in psoriasis was revealed. In this regard, all recent innovative developments of biological agents have focused on these therapeutic targets [4]. The first IL-17 inhibitor, secukinumab, was registered for use in the Russian Federation in 2016. The drug is a fully human monoclonal antibody that binds and neutralizes IL-17A. Blockade of IL-17 reduces the synthesis of proinflammatory cytokines and inhibits the secretion of chemokines by keratinocytes, resulting in the sup-

рами иммунных клеток и, как следствие, уменьшает численность субпопуляции Th1. Подавление активности IL-23 снижает дифференцировку Th17 из наивных Т-лимфоцитов. Таким образом происходит прекращение выработки Th1 и Th17-клетками провоспалительных медиаторов, играющих важную роль в иммунном патогенезе заболевания. На фоне монотерапии устекинумабом у больных не регистрируется повышения риска серьезных инфекций по сравнению с применением ингибиторов ФНО-α и лекарственных средств базисной противовоспалительной терапии. Помимо этого, установлена низкая иммуногенность препарата с частотой встречаемости антител у 3.8–6.0 % пациентов [3, 8, 10, 11].

В результате дальнейших иммунологических и генетических исследований была выявлена ведущая роль иммунной оси IL-23/IL-17 в поддержании, регуляции и усилении воспалительного процесса при псориазе. В связи с этим все последние инновационные разработки биологических препаратов были сосредоточены на данных терапевтических мишенях [4]. Первый ингибитор IL-17 – секукинумаб – был зарегистрирован для применения в Российской Федерации в 2016 г. Препарат является полностью человеческим моноклональным антителом, связывающим и нейтрализующим IL-17A. Блокада IL-17 снижает синтез провоспалительных цитокинов, тормозит секрецию кератиноцитами хемокинов, вследствие чего происходит угнетение воспалительной реакции. Эффективность секукинумаба доказана многочисленными рандомизированными клиническими исследованиями, а антитела к препаратуре обнаруживаются редко (<0.4 % пациентов) и не связаны с потерей его эффективности [3, 10–12]. Следующим препаратом, с высокой аффинностью и специфичностью связывающим IL-17A, является гуманизированное моноклональное антитело иксекизумаб, демонстрирующий высокую клиническую эффективность. Нейтрализующие антитела к препаратуре выявляются у 9–13.4 % больных [10, 11].

В условиях нестабильности международного политического пространства и растущего количества санкций в отношении нашей страны все более актуальным становится применение в клинической практике отечественного ГИБП нетакимаба. Нетакимаб является химерным высокогуманизированным моноклональным антителом к IL-17A на основе иммуноглобулина ламы, разработанным и производимым на территории Российской Федерации. Рандомизированное двойное слепое плацебо-контролируемое клини-

pression of the inflammatory response. The efficacy of secukinumab has been proven in numerous randomized clinical trials, and antibodies to the drug are rarely detected (<0.4% of patients) and are not associated with loss of its efficacy [3, 10–12]. The next drug that binds IL-17A with high affinity and specificity is the humanized monoclonal antibody ixekizumab, which demonstrates high clinical efficacy. Neutralizing antibodies to the drug are detected in 9–13.4% of patients [10, 11].

Amidst of instability in the international political space and a growing number of sanctions against our country, the use of domestic biologic agent, netakimab in clinical practice is becoming increasingly relevant. Netakimab is a chimeric highly humanized monoclonal llama-derived antibody to IL-17A, developed and produced in the Russian Federation. A randomized, double-blind, placebo-controlled clinical study BCD-085-7 (PLANETA) showed high efficacy, safety and low immunogenicity of the drug in patients with moderate to severe psoriasis. A decrease in the Psoriasis Area and Severity Index (PASI) by 75% (PASI 75) from the baseline at the 12th week of treatment was recorded in 83% of patients injecting netakimab once every 4 weeks, and the state of clear or almost clear skin was achieved in 80% of cases. During the study, only one serious adverse event was identified among 213 patients treated: right lower lobe pneumonia. Other adverse reactions consisted of various laboratory abnormalities (leukopenia, neutropenia, hyperbilirubinemia and hyperglycemia), were not accompanied by clinical symptoms and did not exceed 5%. The immunogenicity analysis showed the production of neutralizing antibodies 12 weeks after therapy in one patient (0.5%), while their neutralizing activity was not detected [12, 13].

Currently, IL-23 is considered the main regulatory cytokine that is involved in the immunopathogenesis of psoriasis. It activates the differentiation, proliferation, long-term survival of Th-17 lymphocytes and their IL-17 production. This is how biologics emerged, which selectively neutralize the p19 subunit of IL-23. Guselkumab, a fully human monoclonal antibody and the first agent of this group, was registered in the Russian Federation in 2019. Inhibition of IL-23 reduces the number of Th-17 and their activity, and therefore the level of circulating IL-17. According to the studies, a 75% decrease in PASI from the baseline at the 16th week of treatment with guselkumab at a dose of 100 mg was in more than 90% of patients, a 90% decrease in PASI (PASI 90) and a 100% decrease (PASI 100) –

ческое исследование BCD-085-7 (PLANETA) показало высокую эффективность, безопасность и низкую иммуногенность препарата у пациентов с псориазом умеренного и тяжелого течения. Снижение индекса распространенности и тяжести псориаза PASI (Psoriasis Area and Severity Index) на 75 % (PASI 75) от исходного на 12-й неделе лечения было зарегистрировано у 83 % пациентов, применяющих нетакимаб 1 раз в 4 нед, а состояние «чистой» или «почти чистой» кожи было достигнуто в 80 % случаев. За время исследования среди 213 больных, получавших лечение, было выявлено лишь одно серьезное нежелательное явление: правосторонняя нижнедолевая пневмония. Другие нежелательные реакции заключались в различных отклонениях лабораторных показателей (лейкопения, нейтропения, гипербилирубинемия и гипергликемия), не сопровождались клинической симптоматикой и не превышали по частоте проявления 5 %. Анализ иммуногенности показал формирование связующих антител через 12 нед терапии у одного пациента (0.5 %), при этом не было выявлено их нейтрализующей активности [12, 13].

В настоящее время основным регуляторным цитокином в иммунопатогенезе псориаза считается IL-23. Он активирует дифференцировку, пролиферацию, длительное выживание Th-17 лимфоцитов и продукцию ими IL-17. Так появились ГИБП, избирательно нейтрализующие субъединицу p19 IL-23. Гуселькумаб – полностью человеческое моноклональное антитело и первый препарат данной группы – был зарегистрирован в Российской Федерации в 2019 г. Ингибирование IL-23 снижает количество Th-17 и их активность, а следовательно – и уровень циркулирующего IL-17. По данным исследований снижение индекса PASI на 75 % от исходного на 16-й неделе лечения гуселькумабом в дозе 100 мг регистрировалась более чем у 90 % пациентов, снижение PASI на 90 % (PASI 90) и на 100 % (PASI 100) – у 73 и 37 % соответственно. Помимо этого, эффективность препарата была продемонстрирована у пациентов с недостаточным клиническим ответом на предыдущую терапию ГИБП других групп (адалимумабом, устекинумабом). Гуселькумаб обладает низкой иммуногенностью: обнаруженные антитела к препарату не вызывали изменений клинического ответа или развития реакций в месте инъекции [3, 10, 14, 15].

Рисанкизумаб – еще один ингибитор IL-23, одобренный для лечения бляшечного псориаза Министерством здравоохранения Российской Федерации в 2020 г. Отличительной чертой

in 73 and 37%, respectively. In addition, the effectiveness of the drug was demonstrated in patients with poor clinical response to previous therapy with biologics of other groups (adalimumab, ustekinumab). Guselkumab has low immunogenicity: detected antibodies to the drug did not cause changes in the clinical response or reactions at the injection site [3, 10, 14, 15].

Risankizumab is another IL-23 inhibitor approved for the treatment of plaque psoriasis by the Ministry of Health of the Russian Federation in 2020. A distinctive feature of risankizumab is the frequency of drug administration: after the induction dose – once every 12 weeks, which undoubtedly increases patient adherence to therapy. In addition, there is evidence that risankizumab is more effective than the IL-17 inhibitor secukinumab and the IL-12/IL-23 inhibitor ustekinumab [14–16].

Thus, biologics, being selective inhibitors of the synthesis of proinflammatory cytokines and lymphocyte activity, have a selective effect on the immune mechanisms of psoriasis development, while not affecting cells of other organs and systems. The Clinical Guidelines “Psoriasis”, developed by the Russian Society of Dermatovenereologists and Cosmetologists and approved by the Scientific and Practical Council of the Ministry of Health of the Russian Federation in 2023, indicate the possibility of using monoclonal antibodies for moderate or severe psoriasis only if the basic systemic treatment are ineffective (methotrexate, retinoids for the treatment of psoriasis, cyclosporine, ultraviolet irradiation of the skin) or if there are contraindications to the latter [1]. However, recently, the question of using biologics at an early stage of the aggressive course of the disease, without waiting for damage to the musculoskeletal system and the manifestation of other comorbidities, has been increasingly raised among experts. This approach is especially relevant in cases where psoriasis causes significant psychosocial stress in the patient.

It is known that the quality of life of patients with psoriasis decreases not only due to their physical impairment, but also due to problems with establishing interpersonal and social relationships, feelings of stigmatization, and an occupational activity impairment [17–20]. Many patients, especially those with severe form of the disease, are concerned about a low effectiveness of treatment. For example, in a survey of 6194 patients with severe psoriasis, 79% reported that psoriasis had a negative impact on their lives, 40% felt frustrated with the ineffectiveness of their current therapies, and 32% reported that treatment

рисанкизумаба является кратность введения лекарственного средства: после индукционной дозы – один раз в 12 нед, что, несомненно, повышает приверженность пациентов к терапии. Кроме того, доступны данные о большей эффективности рисанкизумаба по сравнению с ингибитором IL-17 секукинумабом и с ингибитором IL-12/IL-23 устекинумабом [14–16].

Таким образом, ГИБП, являясь селективными ингибиторами синтеза провоспалительных цитокинов и активности лимфоцитов, оказывают избирательное воздействие на иммунные механизмы развития псориаза, при этом не влияют на клетки других органов и систем. В клинических рекомендациях «Псориаз», разработанных Российским обществом дерматовенерологов и косметологов и одобренных Научно-практическим Советом Минздрава РФ в 2023 г., указывается на возможность применения моноклональных антител при псориазе средней или тяжелой степени тяжести только при недостаточной эффективности базисных средств системного лечения (метотрексат, ретиноиды для лечения псориаза, циклоспорин, ультрафиолетовое облучение кожи) либо при наличии противопоказаний к таковым [1]. Однако в последнее время все чаще среди экспертов поднимается вопрос о применении ГИБП на ранней стадии агрессивного течения болезни, не дожидаясь поражения опорно-двигательного аппарата и проявления других коморбидных состояний. Особенно такой подход актуален в случаях, когда псориаз становится причиной значительной психологической и социальной дезадаптации пациента.

Известно, что качество жизни больных псориазом снижается не только из-за нарушения их физического состояния, но и вследствие проблем с установлением межличностных и социальных отношений, ощущения стигматизации, а также снижения качества трудовой деятельности [17–20]. Многих пациентов, особенно с тяжелой формой заболевания, беспокоит низкая эффективность лечения. Так, например, при опросе 6194 больных тяжелым псориазом 79 % сообщили, что псориаз оказал негативное влияние на их жизнь, 40 % были разочарованы неэффективностью их текущих методов лечения, а 32 % респондентов считали, что лечение было недостаточно эффективным [20]. Особенно следует обратить внимание в этом отношении на ладонно-подошвенный псориаз, который, по сравнению с бляшечной формой заболевания, связан с большими трудностями в повседневной жизни и в самообслуживании [21].

was not aggressive enough [20]. Particular attention should be paid in this regard to palmoplantar psoriasis, which, compared to plaque psoriasis, is associated with greater difficulties in everyday life and self-care [21].

## AIM OF THE RESEARCH

To present an example of the early use of biologic agent for treatment of moderate psoriasis of a problem localization, prescribed with account taken of clinical and social/psychological characteristics of a patient.

## CASE REPORT

Female patient F., 54 years old, an anesthesiologist and critical care physician, applied for a consultation with a dermatologist by referral of a rheumatologist with complaints of eruptions on the skin of hands, accompanied by itching, burning, peeling, and skin chapping. As well as limited mobility, morning stiffness and pain in the interphalangeal joints, but these ailed the patient less than skin manifestations. The patient came to the office with her daughter, feeling depressed because her hands skin condition does not allow to appropriately work with patients, and execute her occupational duties as an anesthesiologist and critical care physician; she takes antidepressants.

From history: according to the patient, eruptions on the skin of her hands appeared firstly about a year ago, simultaneously with inflammation of the interphalangeal joints. For this reason she sought a rheumatologist' attention, since edema and pain in the small joints of both hands made her occupational activities difficult.

From the medical record provided by the patient, it is known that based on complaints, anamnestic data, physical examination data, as well as laboratory findings (complete blood count with erythrocyte sedimentation rate, blood biochemistry with assessment of the level of C-reactive serum protein, and rheumatoid factor values) and hand radiography findings, the rheumatologist diagnosed with psoriatic distal interphalangeal arthritis (L40.51) [22]. The diagnosis of psoriatic arthritis was established in accordance with the CASPAR criteria (CLASsification criteria for Psoriatic ARthritis, 2006), i.e. patients must have signs of inflammatory joint disease (arthritis, spondylitis or enthesitis) and at least 3 points on other clinical signs (current psoriasis at presentation or a history of psoriasis, nail damage, rheumatoid factor negativity, dactylitis, radiographic signs of juxtaarticular new bone formation) [23].

## ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Представить пример раннего применения генно-инженерной биологической терапии среднетяжелого псориаза «проблемной» локализации, назначенной с учетом клинических и социально-психологических характеристик пациента.

## КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ

Больная Ф., 54 года, врач – анестезиолог-реаниматолог, обратилась на консультативный прием к дерматологу по направлению ревматолога с жалобами на высыпания на коже кистей, сопровождающиеся зудом, жжением, шелушением, появлением трещин. Есть ограничение подвижности, утренняя скованность и болезненность межфаланговых суставов, но они беспокоят пациентку меньше, чем кожные проявления. Пациентка пришла на прием с дочерью, психоэмоционально подавлена тем, что состояние кожи кистей не дает ей возможности полноценно работать с пациентами и выполнять свои профессиональные обязанности анестезиолога-реаниматолога, принимает антидепрессанты.

Анамнез заболевания: со слов пациентки, впервые высыпания на коже кистей появились около года назад одновременно с воспалением межфаланговых суставов, по поводу чего обратилась к ревматологу, так как отек и болезненность мелких суставов обеих кистей затрудняли ее профессиональную деятельность.

Из медицинской документации, представленной пациенткой, известно, что на основании жалоб, анамнеза, данных физикального обследования, а также результатов лабораторных (общий анализ крови с исследованием скорости оседания эритроцитов, анализ крови биохимический общетерапевтический с оценкой уровня С-реактивного белка в сыворотке крови, определение содержания ревматоидного фактора в крови) и инструментальных (рентгенография кистей) диагностических исследований ревматологом был диагностирован псориатический дистальный межфаланговый артрит (L40.51) [22]. Диагноз псориатического артрита был установлен в соответствии с критериями CASPAR (CLASsification criteria for Psoriatic ARthritis, 2006), согласно которым пациенты должны иметь признаки воспалительного заболевания суставов (артрит, спондилит или энтезит) и 3 или более балла по другим клиническим признакам (псориатическое поражение кожи на момент осмотра или в анамнезе, поражение ногтей, отрицательный ревматоидный фактор, дактилит, рентгено-

After the diagnosis was established, the patient received treatment with nonsteroidal anti-inflammatory drugs, as well as therapy with glucocorticosteroids and calcipotriol topically showing the short-term improvement. The pathological process on the skin of the hands persisted, which, to a certain extent, is due to the occupational activity of the patient (performing the duties of an anesthesiologist and critical care physician, she wears tight rubber medical gloves for a long time, which, of course, provokes the Koebner phenomenon – an isomorphic reaction characterized by the appearance of new erythematous-squamous lesions in the area of skin irritation).

Status localis: the pathological process is symmetrical and localized. On the back of the hands, peeling papules are visualized above the slightly deformed interphalangeal joints (Fig. 1). On the skin of the palms erythematous-squamous plaques with severe infiltration, peeling and skin chapping (Fig. 2). The PASI score was 10, which is the minimum indicator corresponding to moderate psoriasis.

Diagnosis: Palmoplantar psoriasis (L40.0). Psoriatic distal interphalangeal arthritis (L40.51)

The purpose of the consultation was to adjust therapy and resolve the issue of prescribing methotrexate to relieve psoriatic lesions on the skin of the hands. However, the patient, as a doctor with an extensive professional experience, knew the side effects of methotrexate and emphatically refused to take it.

Therefore, taking into account the problem localization of skin eruptions on the hands, the social (primarily occupational) and psychological characteristics of the patient, the medical board recommended therapy with biologic agent, secukinumab. The choice of biologics is based on published clinical trial data demonstrating the high effectiveness of secukinumab in psoriasis of problem localization, including palmoplantar psoriasis which is difficult to treat, as well as in patients with signs of psoriatic arthritis [16, 24–27].

Before starting therapy, the patient underwent conventional examinations to identify possible contraindications to the use of biologics: testing for HIV, hepatitis B, C, tuberculosis (chest x-ray, consultation with a tuberculosis physician), exclusion of oncological diseases, blood count and urinalysis, blood biochemistry (level of glucose, ALAT, ASAT, gamma-GT, creatinine, C-reactive protein, lipids). During the examination, tuberculosis and other infectious diseases were excluded, no signs of oncological dis-

логические признаки внесуставной костной пролиферации) [23].

После постановки диагноза пациентка получала лечение нестероидными противовоспалительными средствами, а также наружную терапию топическими глюкокортикоидами и кальципотриолом с кратковременным улучшением. Патологический процесс на коже кистей непрерывно рецидивировал, что, в определенной степени, обусловлено профессиональной деятельностью пациентки (выполняя обязанности врача анестезиолога-реаниматолога, она длительное время находится в тесных резиновых перчатках, что, безусловно, провоцирует феномен Кёбнера – изоморфную реакцию, характеризующуюся появлением свежих эритематозно-сквамозных высыпаний в области раздражения кожного покрова. Локальный статус: патологический процесс симметричный, носит локализованный характер. На тыле кистей над незначительно деформированными межфаланговыми суставами визуализируются папулы с шелушением (рис. 1). На коже ладоней – эритематозно-сквамозные бляшки с выраженной инфильтрацией, шелушение, трещины (рис. 2). Индекс PASI составил 10 баллов, что является минимальным показателем, соответствующим средней степени тяжести псориаза.

eases were detected, and no deviations from the reference range were found in blood count and blood biochemistry. Thus, no contraindications to therapy with secukinumab have been identified. According to the package leaflets, secukinumab is prescribed at a dose of 300 mg as two separate subcutaneous injections of 150 mg, the initial course was 4 weekly injections with transition to further therapy in the form of monthly injections.

After a 4-week course, almost complete regression of psoriatic skin eruptions was noted. The PASI score decreased to 1 point, i.e. a PASI 90 was achieved (Fig. 3, 4), which corresponds to current criteria for effective treatment of psoriasis [1]. Mild peeling remains, and, therefore, regular use of emollients was recommended. The patient does not complain of any pain or limited mobility of the interphalangeal joints. To ensure long-term management of the disease, therapy with secukinumab was continued with as subcutaneous injections once every 4 weeks. Monitoring of laboratory tests during the first month of therapy was carried out once every 7 days (no deviations were detected, the indicators were normal), then once a month. The patient's psychoemotional state has stabilized. She performs manipulations related to her occupational duties without difficulty.



**Рис. 1.** Незначительная деформация межфаланговых суставов, папулезные высыпания с шелушением  
**Fig. 1.** Mild deformation of the interphalangeal joints, papular eruption with peeling



**Рис. 2.** На коже ладоней эритематозно-сквамозные бляшки с выраженной инфильтрацией, шелушение, трещины  
**Fig. 2.** Erythematous-squamous plaques with severe infiltration, peeling, skin chapping, cracks on the skin of the palms

Диагноз: Ладонно-подошвенный псориаз (L40.0). Псориатический дистальный межфаланговый артрит (L40.51).

Целью консультации была коррекция терапии и решение вопроса о назначении метотрексата для купирования псориатического процесса на коже кистей. Однако пациентка, как врач с большим профессиональным стажем, знает побочные эффекты метотрексата и категорически отказалась его принимать.

Поэтому, учитывая «проблемную» локализацию высыпаний на коже кистей рук, социальные (в первую очередь – профессиональные) и психологические характеристики пациентки, врачебной комиссией была рекомендована генно-инженерная биологическая терапия (ГИБТ) секукинумабом. Выбор препарата для ГИБТ основан на опубликованных данных клинических исследований, свидетельствующих о высокой эффективности секукинумаба при псориазе сложных локализаций, включая ладонно-подошвенный вариант, плохо поддающийся лечению, а также у пациентов с признаками псориатического артрита [16, 24–27].

## CONCLUSION

Modern understanding of the pathogenetic aspects of psoriasis and the associated development of biologics for the treatment of moderate to severe forms of the disease have become the most important achievements, allowing not only to receive a high level of treatment response, but also to successfully overcome the psychosocial consequences of the disease.

Russian clinical guidelines use a stepwise approach to the treatment of psoriasis. The first-line systemic therapy includes drugs of basic anti-inflammatory therapy – methotrexate, retinoids for the treatment of psoriasis, cyclosporine, ultraviolet irradiation of the skin. In the case of their ineffectiveness, intolerance, or the presence of contraindications, prescribing biologics is considered. The presented case report demonstrates that the patient's emphatic refusal of systemic therapy for psoriasis (methotrexate) can also be considered as a possible reason for the early use of biologics, which allows recovering both the physical and psychosocial status of the patient.

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



**Рис. 3.** Кожа тыльной поверхности кистей от высыпаний свободна  
**Fig. 3.** The skin on the back of the hands is free from eruptions



**Рис. 4.** Сохраняется незначительное шелушение ладоней  
**Fig. 4.** Mild peeling on palms persists

Перед началом терапии пациентка прошла стандартные обследования для выявления возможных противопоказаний к применению ГИБП: обследования на ВИЧ, гепатиты В, С, туберкулез (рентгенография органов грудной клетки, консультация фтизиатра), исключение онкологического процесса, клинические анализы крови и мочи, биохимическое исследование крови (уровень глюкозы, АлТ, АсТ, ГГТ, креатинина, С-реактивного белка, липидный профиль). При обследовании были исключены туберкулез и другие инфекционные заболевания, признаков онкологической патологии не выявлено, в клиническом и биохимическом анализах крови отклонений от нормы не обнаружено. Таким образом, противопоказаний к ГИБП секукинумабом не выявлено. Согласно инструкции по применению препарата, секукинумаб назначен в дозе 300 мг в виде двух отдельных подкожных инъекций по 150 мг, инициирующий курс составил 4 еженедельные инъекции с переходом на дальнейшую терапию в виде ежемесячных инъекций.

После проведения 4-недельного инициирующего курса отмечен практически полный регресс псориатических высыпаний. Индекс PASI снизился до 1 балла, т.е. был достигнут результат PASI 90 (рис. 3, 4), что соответствует современным критериям эффективной терапии псориаза [1]. Сохраняется легкое шелушение, в связи с чем было рекомендовано регулярное использование эмолентов. Болезненности и ограничения подвижности межфаланговых суставов больная не отмечает. Для обеспечения длительного контроля над заболеванием терапия ГИБП продолжена подкожными инъекциями 1 раз в 4 нед. Лабораторный контроль в

течение первого месяца терапии проводился 1 раз в 7 дней (отклонений не выявлено, показатели стабильны), далее – 1 раз в месяц. Психоэмоциональное состояние пациентки стабилизировалось. Манипуляции, связанные со своими профессиональными обязанностями, выполняет без затруднений.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Современное понимание патогенетических звеньев псориаза и связанная с этим разработка генно-инженерных биологических препаратов для лечения среднетяжелых и тяжелых форм заболевания стали важнейшими достижениями, позволяющими не только получать высокий уровень терапевтического ответа, но и успешно бороться с психосоциальными последствиями заболевания.

В российских клинических рекомендация используется ступенчатый подход в лечении псориаза. К первой линии системной терапии относятся препараты базисной противовоспалительной терапии – метотрексат, ретиноиды для лечения псориаза, циклоспорин, ультрафиолетовое облучение кожи. При их неэффективности, непереносимости или наличии противопоказаний к их применению рассматривают вопрос назначения ГИБТ. Представленный клинический случай демонстрирует, что категорический отказ пациента от системной базисной терапии псориаза (метотрексата) также может рассматриваться как возможная причина раннего применения ГИБП, позволяющая восстановить как физический, так и психосоциальный статус пациента

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Рубрикатор клинических рекомендаций. Псориаз. 2023. URL: <https://minzdrav.gov.ru> (дата обращения: 10.04.2023).
2. Заславский Д.В., Павленко Д.В. Псориаз: из кожи вон. Рациональный подход к патогенетической терапии псориаза у подростков: современный взгляд на проблему // StatusPraesens. Педиатрия и неонатология. 2018;3(50):64-71.
3. Reid C., Griffiths C.E.M. Psoriasis and treatment: past, present and future aspects // Acta Derm. Venereol. 2020;100(3):adv00032. DOI: 10.2340/00015555-3386.
4. Armstrong A.W., Read C. Pathophysiology, clinical presentation, and treatment of psoriasis: A review // JAMA. 2020;323(19):1945-1960. DOI: 10.1001/jama.2020.4006.
5. Ефремова А.Ю., Шилов В.В. Механизмы развития токсических эффектов метотрексата при лече-

## REFERENCES

1. List of headings of clinical recommendations. Psoriasis. 2023. URL: [https://cr.minzdrav.gov.ru/schema234\\_2](https://cr.minzdrav.gov.ru/schema234_2) (accessed 10.04.2023).
2. Zaslavskiy D.V., Pavlenko D.V. Psoriasis: out of your skin. Rational approach to pathogenetic therapy of psoriasis in adolescents: a modern view of the problem. *StatusPraesens. Pediatrics and Neonatology.* 2018;3(50):64-71. (In Russ.)
3. Reid C., Griffiths C.E.M. Psoriasis and treatment: past, present and future aspects. *Acta Derm. Venereol.* 2020;100(3):adv00032. DOI: 10.2340/00015555-3386.
4. Armstrong A.W., Read C. Pathophysiology, clinical presentation, and treatment of psoriasis: A review. *JAMA.* 2020;323(19):1945-1960. DOI: 10.1001/jama.2020.4006.
5. Efremova A.Yu., Shilov V.V. (2020). Mechanisms of development of toxic effects of methotrexate in the

нии псориаза и их профилактика // Мир культуры: искусство, наука, образование: Сборник научных статей. Челябинск, 2020. Вып. 9. С. 313–317.

6. Le Basle Y., Chennell P., Tokhadze N. et al. Physicochemical stability of monoclonal antibodies: A review // *J. Pharm. Sci.* 2020;109(1):169-190. DOI: 10.1016/j.xphs.2019.08.009.
7. Филиппова А.В., Колбин А.С., Вербицкая Е.В. и др. Безопасность генно-инженерных биологических препаратов в зависимости от клинико-фармакологических свойств и химической структуры // Клиническая фармакология и терапия. 2019;28(3):93-100. DOI: 10.32756/0869-5490-2019-3-93-100.
8. Боткина А.С., Короткий Н.Г., Короткий В.Н. Таргетная терапия псориатической болезни // Клиническая дерматология и венерология. 2018;17(4):18-29. DOI: 10.17116/KLINDERMA20181704118.
9. Мосикян А.А., Хохлов А.Л. Иммуногенность биологических лекарственных препаратов: причины, механизмы, последствия // Медицинская этика. 2020;8(1):28-35.
10. Menter A., Strober B.E., Kaplan D.H. et al. Joint AAD-NPF guidelines of care for the management and treatment of psoriasis with biologics // *J. Am. Acad. Dermatol.* 2019;80(4):1029-1072. doi: 10.1016/j.jaad.2018.11.057.
11. Liau M.M., Oon H.H. Therapeutic drug monitoring of biologics in psoriasis // *Biologics.* 2019;13:127-132. DOI: 10.2147/BTT.S188286.
12. Аржавкина Л.Г., Гончаров Н.С. Псориаз: перспективные лекарственные средства на основе monoclonalных антител // Инновационные технологии в фармации: Материалы Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием, посвящ. 100-летию со дня образования кафедры фармакологии Иркутского государственного медицинского университета. Иркутск, 2022. Вып. 9. С. 295–300.
13. Кубанов А.А., Бакулов А.Л., Самцов А.В. и др. Нетакимаб – новый ингибитор ИЛ-17а: результаты 12 недель клинического исследования III фазы BCD-085-7/PLANETA у пациентов со среднетяжелым и тяжелым вульгарным псориазом // Вестник дерматологии и венерологии. 2019;95(2):15-28. DOI: 10.25208/0042-4609-2019-95-2-15-28.
14. Tokuyama M., Mabuchi T. New treatment addressing the pathogenesis of psoriasis // *Int. J. Mol. Sci.* 2020;21(20):7488. DOI: 10.3390/ijms21207488.
15. Warren R.B., Blauvelt A., Poulin Y. et al. Efficacy and safety of risankizumab vs. secukinumab in patients with moderate-to-severe plaque psoriasis (IMMerge): results from a phase III, randomized, open-label, efficacy-assessor-blinded clinical trial // *Br. J. Dermatol.* 2021;184(1):50-59. DOI: 10.1111/bjd.19341.
16. Papp K.A., Blauvelt A., Bukhalo M. et al. Risankizumab versus ustekinumab for moderate-to-severe plaque psoriasis // *N. Engl. J. Med.* 2017;376(16):1551-1560. DOI: 10.1056/NEJMoa1607017.
17. Багаева А.М., Бакунина Н.С., Тоскин И.А. Международный опыт включения оценки качества жизни больных с псориазом в систему мониторинга состояния здоровья населения: систематический обзор // Мир культуры: искусство, наука, образование: Сборник научных статей. Челябинск, 2020. Вып. 9. С. 313–317. (In Russ.)
6. Le Basle Y., Chennell P., Tokhadze N. et al. Physicochemical stability of monoclonal antibodies: Review. *J. Pharm. Sci.* 2020;109(1):169-190. DOI: 10.1016/j.xphs.2019.08.009.
7. Philippova A.V., Kolbin A.S., Verbitskaya E.V. et al. Safety profile of biological agents depending on their pharmacological properties and chemical structure. *Clinical Pharmacology and Therapy.* 2019;28(3):93-100. DOI: 10.32756/0869-5490-2019-3-93-100. (In Russ.)
8. Botkina A.S., Korotkij N.G., Korotkij V.N. Targeted therapy of psoriatic disease. *Russian Journal of Clinical Dermatology and Venereology.* 2018;17(4):18-29. DOI: 10.17116/klinderma20181704118. (In Russ.)
9. Mosikyan A.A., Khokhlov A.L. Immunogenicity of biological drugs: causes, pathogenesis, consequences. *Medical Ethics.* 2020;8(1):28-35. (In Russ.)
10. Menter A., Strober B.E., Kaplan D.H. et al. Joint AAD-NPF guidelines of care for the management and treatment of psoriasis with biologics. *J. Am. Acad. Dermatol.* 2019;80(4):1029-1072. DOI: 10.1016/j.jaad.2018.11.057.
11. Liau M.M., Oon H.H. Therapeutic drug monitoring of biologics in psoriasis. *Biologics.* 2019;13:127-132. DOI: 10.2147/BTT.S188286.
12. Arzhavkina L.G., Goncharov N.S. (2022). Psoriasis: prospective drugs based on monoclonal antibodies created for the treatment. In *Innovative Technologies in Pharmacy: Proceedings of Russian research/practice conference with international participation dedicated the 100th anniversary of the founding of the Department of Pharmacology at Irkutsk State Medical University.* Irkutsk. Is. 9. P. 295–300. (In Russ.)
13. Kubanov A.A., Bakulev A.L., Samtsov A.V. et al. Netakimab – new IL inhibitor: 12-week results of phase III clinical study BCD-085-7/PLANETA in patients with moderate-to-severe plaque psoriasis. *Vestnik Dermatologii i Venerologii.* 2019;95(2):15-28. DOI: 10.25208/0042-4609-2019-95-2-15-28. (In Russ.)
14. Tokuyama M., Mabuchi T. New treatment addressing the pathogenesis of psoriasis. *Int. J. Mol. Sci.* 2020;21(20):7488. DOI: 10.3390/ijms21207488.
15. Warren R.B., Blauvelt A., Poulin Y. et al. Efficacy and safety of risankizumab vs. secukinumab in patients with moderate-to-severe plaque psoriasis (IMMerge): results from a phase III, randomized, open-label, efficacy-assessor-blinded clinical trial. *Br. J. Dermatol.* 2021;184(1):50-59. DOI: 10.1111/bjd.19341.
16. Papp K.A., Blauvelt A., Bukhalo M. et al. Risankizumab versus ustekinumab for moderate-to-severe plaque psoriasis. *N. Engl. J. Med.* 2017;376(16):1551-1560. DOI: 10.1056/NEJMoa1607017.
17. Bagaeva A.M., Bakunina N.S., Toskin I.A. International experience of including the assessment of the quality of life of patients with psoriasis in the public

обзор // Современные проблемы здравоохранения и медицинской статистики. 2022;3:355-392. DOI: 10.24412/2312-2935-2022-3-355-392.

18. Jobling R.G. Psoriasis – a preliminary questionnaire study of sufferers' subjective experience // *Clin. Exp. Dermatol.* 1976;1(3):233-236. DOI: 10.1111/j.1365-2230.1976.tb01424.x.

19. Jankowiak B., Kowalewska B., Krajewska-Kułak E. et al. The sense of stigmatization in patients with plaque psoriasis // *Dermatology*. 2021;237(4):611-617. DOI: 10.1159/000510654.

20. Krueger G., Koo J., Lebwohl M. et al. The impact of psoriasis on quality of life: results of a 1998 National Psoriasis Foundation patient-membership survey // *Arch. Dermatol.* 2001;137(3):280-284.

21. Chung J., Duffin K.C., Takeshita J. et al. Palmoplantar psoriasis is associated with greater impairment of health-related quality of life compared with moderate to severe plaque psoriasis // *J. Am. Acad. Dermatol.* 2014;71(4):623-632. DOI: 10.1016/j.jaad.2014.04.063.

22. Рубрикатор клинических рекомендаций. Псориаз артрапатический. Псориатический артрит. 2021. URL: [https://minzdrav.gov.ru/schema\\_562\\_2](https://minzdrav.gov.ru/schema_562_2) (дата обращения: 10.04.2023).

23. Taylor W.J., Gladman D., Helliwell P.S. et al. Classification criteria for psoriatic arthritis: development of new criteria from a large international study // *Arthritis Rheum.* 2006;54(8):2665-2673. DOI: 10.1002/art.21972.

24. Baraliakos X., Gossec L., Pournara E. et al. Secukinumab in patients with psoriatic arthritis and axial manifestations: results from the double-blind, randomised, phase 3 maximise trial // *Ann. Rheum. Dis.* 2021;80(5):582-590. DOI: 10.1136/annrheumdis-2020-218808.

25. Gottlieb A.B., Blauvelt A., Prinz J.C. et al. Secukinumab self-administration by prefilled syringe maintains reduction of plaque psoriasis severity over 52 weeks: results of the FEATURE trial // *J. Drugs Dermatol.* 2016;15(10):1226-1234.

26. Gottlieb A.B., Blauvelt A., Prinz J.C. et al. Secukinumab shows significant efficacy in palmoplantar psoriasis: Results from GESTURE, a randomized controlled trial // *J. Am. Acad. Dermatol.* 2017;76:70-80. DOI: 10.1016/j.jaad.2016.07.058.

27. Коротаева Т.В. Перспективы применения ингибиторов интерлейкина 17 – нового класса препаратов для таргетной терапии псориатического артрита // Научно-практическая ревматология. 2016;54(3):346-351. DOI: 10.14412/1995-4484-2016-346-351.

health monitoring system: systematic review. *Current Problems of Health Care and Medical Statistics*. 2022;3:355-392. DOI: 10.24412/2312-2935-2022-3-355-392. (In Russ.)

18. Jobling R.G. Psoriasis – a preliminary questionnaire study of sufferers' subjective experience. *Clin. Exp. Dermatol.* 1976;1(3):233-236. DOI: 10.1111/j.1365-2230.1976.tb01424.x.

19. Jankowiak B., Kowalewska B., Krajewska-Kułak E. et al. The sense of stigmatization in patients with plaque psoriasis. *Dermatology*. 2021;237(4):611-617. DOI: 10.1159/000510654.

20. Krueger G., Koo J., Lebwohl M. et al. The impact of psoriasis on quality of life: results of a 1998 National Psoriasis Foundation patient-membership survey. *Arch. Dermatol.* 2001;137(3):280-284.

21. Chung J., Duffin K.C., Takeshita J. et al. Palmoplantar psoriasis is associated with greater impairment of health-related quality of life compared with moderate to severe plaque psoriasis. *J. Am. Acad. Dermatol.* 2014;71(4):623-632. DOI: 10.1016/j.jaad.2014.04.063.

22. Lists of headings of clinical recommendations. Arthropathic psoriasis. Psoriatic arthritis. (2021). URL: [https://minzdrav.gov.ru/schema\\_562\\_2](https://minzdrav.gov.ru/schema_562_2) (accessed 10.04.2023).

23. Taylor W.J., Gladman D., Helliwell P.S. et al. Classification criteria for psoriatic arthritis: development of new criteria from a large international study. *Arthritis Rheum.* 2006;54(8):2665-2673. DOI: 10.1002/art.21972.

24. Baraliakos X., Gossec L., Pournara E. et al. Secukinumab in patients with psoriatic arthritis and axial manifestations: results from the double-blind, randomised, phase 3 maximise trial. *Ann. Rheum. Dis.* 2021;80(5):582-590. DOI: 10.1136/annrheumdis-2020-218808.

25. Gottlieb A.B., Blauvelt A., Prinz J.C. et al. Secukinumab self-administration by prefilled syringe maintains reduction of plaque psoriasis severity over 52 weeks: results of the FEATURE trial. *J. Drugs Dermatol.* 2016;15(10):1226-1234.

26. Gottlieb A., Sullivan J., van Doorn M. et al. Secukinumab shows significant efficacy in palmoplantar psoriasis: Results from GESTURE, a randomized controlled trial. *J. Am. Acad. Dermatol.* 2017;76:70-80. DOI: 10.1016/j.jaad.2016.07.058.

27. Korotaeva T.V. Prospects for using interleukin-17 inhibitors, a new class of drugs for targeted therapy of psoriatic arthritis. *Scientific and Practical Rheumatology*. 2016;54(3):346-351. DOI: 10.14412/1995-4484-2016-346-351. (In Russ.)

## СВЕДЕНИЯ О АВТОРАХ

**Немчанинова Ольга Борисовна** – д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой дерматовенерологии и косметологии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0002-5961-6980.

**Позднякова Ольга Николаевна** – д-р мед. наук, профессор кафедры дерматовенерологии и косметологии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава

**Olga B. Nemchaninova** – Dr. Sci. (Med.), Professor, Head, Department of Dermatovenereology and Cosmetology, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0002-5961-6980.

**Olga N. Pozdnyakova** – Dr. Sci. (Med.), Professor, Department of Dermatovenereology and Cosmetology, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0003-1389-1001.

России, Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0003-1389-1001.

**Склянова Елена Юрьевна** – канд. мед. наук, доцент кафедры дерматовенерологии и косметологии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия.

**Часнык Анна Сергеевна** – клинический ординатор по специальности «Дерматовенерология», ФГАОУ ВО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», Институт медицины и психологии им. Зельмана, Новосибирск, Россия.

**Elena Yu. Sklyanova** – Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Department of Dermatovenereology and Cosmetology, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia.

**Anna S. Chasnyk** – Clinical Resident in the specialty “Dermatovenereology”, Novosibirsk State University, Zelman Institute of Medicine and Psychology, 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](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](http://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 предо-

---

ставляются сведения о каждом из авторов: фамилия, 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.

ISSN 2542-1174

A standard 1D barcode representing the ISSN 2542-1174. It consists of vertical black bars of varying widths on a white background.

9 772542 117003