

ISSN 2542-1174



JOURNAL
of SIBERIAN
MEDICAL
SCIENCES

Vol. 8
2024 **4**

**OPEN
ACCESS**

JOURNAL of SIBERIAN MEDICAL SCIENCES

Том 8, № 4 (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 (аннотированное содержание) доступна по адресам: <http://jsms.ngmu.ru>, <https://elibrary.ru>

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

ПРЕДСЕДАТЕЛЬ

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

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР

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

ЗАМЕСТИТЕЛЬ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА

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

ОТВЕТСТВЕННЫЙ СЕКРЕТАРЬ

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

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

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

УЧРЕДИТЕЛЬ

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

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)

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

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

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

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

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

Шкурутий 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, Web: <http://jsms.ngmu.ru>

3.1. КЛИНИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА

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

Биттер И., д-р медицины, проф. департамента психиатрии и психотерапии, Университет 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)

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

3.3. МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ

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

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

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

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

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

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, декан фармацевтического факультета, Ярославский государственный медицинский университет (Ярославль)

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

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

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

JOURNAL of SIBERIAN MEDICAL SCIENCES

Vol. 8, No. 4 (2024)Quaterly
Founded in 2017

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

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

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

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

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

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

EDITORIAL COUNCIL

CHAIRMAN

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

EDITOR-IN-CHIEF

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

DEPUTY CHIEF EDITOR

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

EXECUTIVE SECRETARY

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

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

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

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

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

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

FOUNDER

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

EDITORIAL OFFICE AND PUBLISHER ADDRESS

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

EDITORIAL BOARD

3.1. CLINICAL MEDICINE

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Okhlopov 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)

Trofimenko I.N., MD, Dr. Sci. (Med.), Associate Prof., Head of the Department of Clinical Allergy 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)

Kharkikova 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

- Пономарев И.В., Топчий С.Б., Ключарева С.В., Власов П.Г.** Опыт применения лазера на парах меди с длиной волны 578 нм при лечении ксантелазм век: случаи из практики 7
- Ибрагимов Р.И.** Изменения гематологических показателей у крыс при хронической интоксикации тяжелыми металлами на фоне экспериментального атеросклероза 21
- Войтко М.С., Сорокин О.В., Зинатулин С.Н., Скворцова Н.В., Коротченко А.А., Трубникова А.А.** Оценка эффективности пробиотиков в коррекции дисбиоза и синдрома эндогенной интоксикации у больных лимфопролиферативными заболеваниями 33
- Мошкин А.С., Николенко В.Н., Халилов М.А.** Ширина тел шейных позвонков и поперечных отверстий с учетом хода позвоночных артерий и дегенеративно-дистрофических изменений позвоночника. . 51
- Алыменко М.А., Валиев Р.Ш., Валиев Н.Р., Поздеев О.К., Балобанова Н.П., Турсунова Н.В., Липатов В.А., Шепель Р.Н., Полибин Р.В., Колчанова Н.Э., Шеенков Н.В., Полоников А.В., Маль Г.С., Коломиец В.М., Рагулина В.А., Гарбузова И.Э., Корсакова В.Е., Сафонов Я.А., Батищев А.В.** Особенности продукции цитокинов у больных туберкулезом легких при проведении специфической химиотерапии. 65
- Дерюгина А.В., Ястребов П.В., Бояринов Г.А., Старателева Ю.А.** Функциональное состояние эритроцитов в условиях стресса, вызванного предельно допустимой физической нагрузкой, на фоне приема рыбьего жира и озонированного рыбьего жира 76
- Олейник Л.А., Ершов К.И., Забанова В.Е., Байкалов Г.И., Бахарева К.И., Солдатова М.С., Кушнаренок А.О., Муллагалиев А.А., Рыбакова А.Д.** Экспериментальное изучение хронической токсичности пегилированного интерферона лямбда-1 90
- Спасов А.А., Науменко Л.В., Говорова Ю.А., Таран А.С., Чебанько А.М., Смирнов А.В., Великородная Ю.И., Лозинская Н.А., Безсонова Е.Н.** Влияние производных оксиндола на развитие поздних офтальмологических нарушений при стрептозотоцин-индуцированном сахарном диабете 101
- Веряскина Ю.А., Ковынев И.Б., Пахомова В.В., Титов С.Е., Войтко М.С., Цигулёв К.С., Онитченко В.В.** Профиль экспрессии микроРНК в диагностическом субстрате первичной кожной Т-клеточной неходжкинской лимфомы. 116
- Волчек А.В., Макаров К.Ю., Кулешов В.М., Айдагулова С.В., Маринкин И.О.** Клинико-морфологические особенности эндометрия при бесплодии у женщин, направляемых на ЭКО. 130

ОБЗОР

- Мальченко Т.Д., Цеймах И.Я., Богачев Д.Е., Корнилова Т.А., Цеймах М.Е.** Диагностика и лечение тромбоза полости правого желудочка у больной с тромбозом легочной артерии, ассоциированной с тяжелой пневмонией (Клиническое наблюдение). 143

CONTENTS

ORIGINAL RESEARCHES

- Ponomarev I.V., Topchiy S.B., Klyuchareva S.V., Vlasov P.G.** Experience of using a copper vapor laser at a wavelength of 578 nm in the treatment of xanthelasma palpebrarum: a case report series 7
- Ibragimov R.I.** Changes in hematological parameters in rats with experimental atherosclerosis under chronic heavy metal intoxication 21
- Voitko M.S., Sorokin O.V., Zinatulin S.N., Skvortsova N.V., Korotchenko A.A., Trubnikova A.A.** Evaluation of probiotics' effectiveness for correction of dysbiosis and endogenous intoxication in patients with lymphoproliferative diseases 33
- Moshkin A.S., Nikolenko V.N., Khalilov M.A.** The width of the cervical vertebral bodies and transverse foramina with regard to the course of vertebral arteries and degenerative and dystrophic changes of the spine 51
- Alymenko M.A., Valiyev R.Sh., Valiyev N.R., Pozdeev O.K., Balobanova N.P., Tursunova N.V., Lipatov V.A., Shepel R.N., Polibin R.V., Kolchanova N.E., Sheenkov N.V., Polonikov A.V., Mal G.S., Kolomiets V.M., Ragulina V.A., Garbuzova I.E., Korsakova V.E., Safonov Ya.A., Batishchev A.V.** Features of cytokine production in patients with pulmonary tuberculosis during specific chemotherapy 65
- Deryugina A.V., Yastrebov P.V., Boyarinov G.A., Starateleva Yu.A.** Functional state of erythrocytes under the extreme physical exertion while supplemented fish oil and ozonated fish oil. 76
- Oleinik L.A., Ershov K.I., Zabanova V.E., Baikalov G.I., Bakhareva K.I., Soldatova M.S., Kushnarenko A.O., Mullagaliev A.A., Rybakova A.D.** An experimental study of PEGylated interferon lambda-1 chronic toxicity. 90
- Spasov A.A., Naumenko L.V., Govorova Yu.A., Taran A.S., Chebanko A.M., Smirnov A.V., Velikorodnaya Yu.I., Lozinskaya N.A., Bezsonova E.N.** The effect of oxindole derivatives on the development of late ophthalmologic disorders in streptozotocin-induced diabetes mellitus 101
- Veryaskina Yu.A., Kovynev I.B., Pakhomova V.V., Titov S.E., Voitko M.S., Tsigulev K.S., Onipchenko V.V.** MicroRNA expression profile in the diagnostic substrate of primary cutaneous T cell non-Hodgkin's lymphoma 116
- Volchek A.V., Makarov K.Yu., Kuleshov V.M., Aidagulova S.V., Marinkin I.O.** Clinical and morphological features of the endometrium in infertility in women referred for IVF 130

REVIEW

- Malchenko T.D., Tseimakh I.Ya., Bogachev D.E., Kornilova T.A., Tseimakh M.E.** Diagnosis and treatment of right ventricular thrombosis in a female patient with pulmonary thromboembolism associated with severe pneumonia (Case report) 143

Опыт применения лазера на парах меди с длиной волны 578 нм при лечении ксантелазм век: случаи из практики

И.В. Пономарев¹, С.Б. Топчий¹, С.В. Ключарева², П.Г. Власов³

¹ФГБУН Физический институт им. П.Н. Лебедева Российской академии наук, Москва, Россия

²ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

³Клиника флебологии, пластической хирургии и лазерной косметологии «Пермский Флебосентр», Пермь, Россия

АННОТАЦИЯ

В в е д е н и е . Ксантелазма век является выраженным косметическим дефектом и приводит к снижению качества жизни пациентов. Неселективные технологии (например, радиочастотное воздействие и использование абляционных лазеров) могут приводить к образованию рубцов, выпадению ресниц и тяжелым функциональным осложнениям органа зрения (включая неполное закрытие века) из-за недостаточной толщины кожи.

Ц е л ь . Оценить эффективность лечения ксантелазмы век излучением лазера на парах меди с дерматоскопическим контролем процесса лечения.

М а т е р и а л ы и м е т о д ы . Лечение ксантелазмы век I–IV степени было проведено у 47 светлокожих женщин и мужчин в возрасте 28–72 лет. Процедуры проводили при средней мощности излучения лазера на парах меди 0.6–0.8 Вт, длине волны 578 нм, длительности экспозиции 0.2 с, диаметре светового пятна 1 мм. Критерием выбора энергии лазерных импульсов было максимальное посерение поверхности ксантелазмы. Лечение проводилось за один сеанс с контролем равномерности обработки при помощи дерматоскопии.

Р е з у л ь т а т ы . Лечение с помощью лазера на парах меди позволило полностью удалить у всех пациентов очаги ксантелазмы век, в том числе IV степени тяжести, без появления рецидивов в течение 24 мес после лечения.

З а к л ю ч е н и е . Применение излучения лазера на парах меди с длиной волны 578 нм обеспечило отличные результаты лечения ксантелазмы век без побочных эффектов. Использование дерматоскопии позволило улучшить результат применения лазера и предотвратить рецидивы лечения.

Ключевые слова: лечение лазером, лазер на парах меди, ксантелазма.

Образец цитирования: Пономарев И.В., Топчий С.Б., Ключарева С.В., Власов П.Г. Опыт применения лазера на парах меди с длиной волны 578 нм при лечении ксантелазм век: случаи из практики // Journal of Siberian Medical Sciences. 2024;8(4):7-20. DOI: 10.31549/2542-1174-2024-8-4-7-20

Experience of using a copper vapor laser at a wavelength of 578 nm in the treatment of xanthelasma palpebrarum: a case report series

I.V. Ponomarev¹, S.B. Topchiy¹, S.V. Klyuchareva², P.G. Vlasov³

¹Lebedev Physical Institute of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

²North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg, Russia

³Clinic of Phlebology, Plastic Surgery and Laser Cosmetology "Perm Phlebocenter", Perm, Russia

ABSTRACT

Introduction. Xanthelasma palpebrarum is a marked cosmetic defect and leads to reduced quality of life in patients. Non-selective technologies (for example, radiofrequency exposure and the use of ablative lasers) can lead to scar-

Поступила в редакцию 04.06.2024
Прошла рецензирование 29.06.2024
Принята к публикации 14.07.2024

Автор, ответственный за переписку
Пономарев Игорь Владимирович: ФГБУН Физический институт им. П.Н. Лебедева Российской академии наук, 119991, г. Москва, Ленинский просп., 53.
E-mail: luklalukla@ya.ru

Received 04.06.2024
Revised 29.06.2024
Accepted 14.07.2024

Corresponding author
Igor V. Ponomarev: Lebedev Physical Institute, Russian Academy of Sciences, 53, Leninsky prosp., Moscow, 119991, Russia.
E-mail: luklalukla@ya.ru

ring, eyelash loss and severe functional disorders of the eye (including incomplete eyelid closure) because of insufficient skin thickness.

A i m . To evaluate the effectiveness of xanthelasma palpebrarum treatment with copper vapor laser radiation under dermatoscopy control.

M a t e r i a l s a n d m e t h o d s . Treatment of grade I–IV xanthelasma palpebrarum was performed in 47 fair-skinned women and men aged 28–72 years. The procedures were performed using a copper vapor laser at an average power of 0.6–0.8 W, wavelength 578 nm, exposure time 0.2 s, and spot diameter 1 mm. The maximum discoloring to gray of the xanthelasma surface was the criterion for laser pulse energy selection. The treatment was performed in one session under dermatoscopy control of treatment uniformity.

R e s u l t s . Treatment with a copper vapor laser allowed complete removal of xanthelasma palpebrarum areas in all patients, including IV degree, without recurrence within 24 months after the treatment.

C o n c l u s i o n . The use of copper vapor laser radiation at a wavelength of 578 nm provided excellent results for the xanthelasma palpebrarum treatment without side effects. The use of dermatoscopy improved the result of laser application and prevented treatment recurrences.

Keywords: laser treatment, copper vapor laser, xanthelasma.

Citation example: Ponomarev I.V., Topchiy S.B., Klyuchareva S.V., Vlasov P.G. Experience of using a copper vapor laser at a wavelength of 578 nm in the treatment of xanthelasma palpebrarum: a case report series. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2024;8(4):7-20. DOI: 10.31549/2542-1174-2024-8-4-7-20

ВВЕДЕНИЕ

Ксантелазма (xanthelasma palpebrarum) является вариантом ксантомы с локализацией в области век. Ксантелазма век относится к соединительнотканым доброкачественным опухолям и представляет собой папулы или бляшки на поверхности век и прилегающей к внутреннему углу глаза поверхности носа в виде очагов желтоватой или золотистой окраски. Ксантелазма век обусловлена периваскулярным скоплением макрофагов с избыточным содержанием липопротеинов низкой плотности в папиллярном слое и верхней части ретикулярного слоя дермы [1]. Ксантелазма век никогда не подвергается обратному развитию, неинвазивна, не метастазирует и редко рецидивирует после полного удаления, с течением времени ее размеры увеличиваются, а ее локализация может стать более обширной. Это может привести к появлению выраженных косметических дефектов и снижению качества жизни пациентов.

Термин «ксантелазма» образован от древнегреческих слов *xanthos* (желтый) и *elasma* (пластинка). Болеют ею в основном люди в возрасте, чаще женщины. Некоторые авторы считают, что ксантелазма может рассматриваться как маркер тяжелого атеросклероза и повышенного риска развития инфаркта миокарда. При появлении ксантелазмы необходимо обратиться к дерматологу и эндокринологу для диагностики и лечения заболевания.

INTRODUCTION

Xanthelasma palpebrarum is a form of xanthoma localizing in the eyelid region. Xanthelasma palpebrarum refers to connective tissue benign neoplasms and presents as papules or plaques on the eyelid surface and adjacent to the medial canthus nasal surface as yellowish or golden colored sites. Xanthelasma palpebrarum is caused by a perivascular accumulation of macrophages with excess of low-density lipoproteins in the papillary layer and the upper reticular layer of the dermis [1]. Xanthelasma palpebrarum is never reversible, it is non-invasive, non-metastatic, and rarely recurs after complete removal. Over time, its size increases and its localization may become more extensive. This can lead to marked cosmetic defects and reduced quality of life of patients.

The term “xanthelasma” is derived from the ancient Greek words *xanthos* (yellow) and *elasma* (lamina). It affects mostly older people, more often women. Some authors believe xanthelasma can be considered as a marker of severe atherosclerosis and high risk of myocardial infarction. If xanthelasma palpebrarum appears, it is necessary to consult a dermatologist and endocrinologist for the diagnosis and treatment of the condition.

Xanthelasma palpebrarum was first described in the clinical manual by Thomas Addison and William Gall as a diabetic xanthoma [2]. Meanwhile, xanthelasma palpebrarum was depicted three centuries earlier in the famous portrait of the Mona Lisa by

Ксантелазма век впервые описана в клиническом руководстве Томасом Аддисоном и Вильямом Галлом как диабетическая ксантома [2]. Между тем ксантелазма век была изображена тремя веками раньше, на знаменитом портрете Моны Лизы кисти Леонардо Да Винчи (Leonardo Da Vinci, 1452–1519), слева от внутреннего угла левого глаза.

Известно, что риск возникновения ксантелазмы век повышен при нарушениях липидного обмена, сахарном диабете и дисфункции щитовидной железы [1]. Ксантелазмы являются возможными признаками некоторых из наиболее распространенных и серьезных внутренних заболеваний, таких как гиперлипидемия, сахарный диабет, цирроз печени и микседема, тем самым обеспечивая ценные диагностические подсказки для терапевтов.

С учетом локализации и распространенности ксантелазмы век выделяют 4 степени тяжести этого заболевания [3]:

- I – при локализации только на верхнем веке;
- II – при локализации в области внутренней спайки век;
- III – при локализации на средней части верхнего и нижнего века;
- IV – при диффузном поражении верхнего и нижнего века, включая внутреннюю и наружную спайки век.

С увеличением степени тяжести ксантелазма заметно усугубляет косметический дефект в эстетически важной зоне, что существенно снижает самооценку и качество жизни пациентов.

Патогенез ксантелазмы век обусловлен избыточным накоплением в верхнем и среднем слое дермы макрофагов с фенотипом пенистых клеток, отличающихся повышенным содержанием липопротеинов низкой плотности [4]. Липопротеины низкой плотности являются промоутерами экспрессии провоспалительного и проангиогенного фактора роста VEGF-A, рецептора VEGFR-2, матриксных металлопротеиназ MMP-2 и MMP-9. При этом возрастает проницаемость стенок микрососудов и последующее накопление пенистых клеток с избыточным содержанием липидов в очаге ксантелазмы век [5].

При появлении ксантелазм требуется только консультация терапевта и, возможно, эндокринолога, однако пациенты часто заинтересованы в их удалении по косметическим причинам.

Лазер на парах меди показал свою эффективность для лечения ксантом кожи различных типов [6], а его использование обеспечивает значительное преимущество перед другими тради-

Leonardo da Vinci (1452–1519), to the left of the medial canthus of the left eye.

It is known that the risk of the development of xanthelasma palpebrarum is increased in lipid metabolism disorders, diabetes mellitus and thyroid dysfunction [1]. Xanthelasmas are possible signs of some of the most common and serious internal diseases such as hyperlipidemia, diabetes mellitus, liver cirrhosis and myxedema, thus providing valuable diagnostic clues for general practitioners.

Taking into account the localization and prevalence of xanthelasma palpebrarum, 4 degrees of severity of this disease are distinguished [3]:

- I – only upper eyelid localization;
- II – medial canthus localization;
- III – localization on the middle part of the upper and lower eyelid;
- IV – in diffuse lesions of the upper and lower eyelid, including medial and lateral canthi.

With increasing severity, xanthelasma palpebrarum markedly aggravates the cosmetic defect in an aesthetically sensitive area, which significantly reduces patients' self-esteem and quality of life.

The pathogenesis of xanthelasma palpebrarum is determined by the excessive accumulation of macrophages with the phenotype of foam cells in the upper and middle dermis, which are in abundance in low-density lipoproteins [4]. Low-density lipoproteins are promoters of the expression of proinflammatory and proangiogenic growth factor VEGF-A, VEGFR-2 receptor, matrix metalloproteinases MMP-2 and MMP-9. At the same time, this increases the permeability of the walls of microvessels and subsequent accumulation of foam cells with excess lipid content in the area of xanthelasma palpebrarum [5].

When xanthelasmas appear, only a consultation with a general practitioner and possibly an endocrinologist is required, but patients are often interested in removing them for aesthetic concerns.

A copper vapor laser has shown its effectiveness for the treatment of various types of skin xanthomas [6], and its use provides a significant advantage over other conventional methods. As shown in [6], the effect of copper vapor laser therapy on the skin microvasculature is conditioned by the destruction of abnormally dilated vessels, optimization of tissue blood flow and normalization of vascular tone, which determines the anti-inflammatory effect and creates more favorable conditions for the reparative process in tissues. The limited penetration depth of copper vapor laser radiation also provides additional safety during eyelid treatment.

We performed a series of procedures with the use of pulsed copper vapor laser for the treatment of xan-

ционными методами. Как показано в [6], влияние лазеротерапии с использованием лазера на парах меди на микроциркуляторное русло кожи происходит за счет разрушения патологически расширенных сосудов, оптимизации тканевого кровотока и нормализации тонуса сосудов, что обуславливает противовоспалительный эффект и создает более благоприятные условия для течения репаративного процесса в тканях. Ограниченная глубина проникновения излучения лазера на парах меди также обеспечивает дополнительную безопасность при проведении процедуры лечения на веках.

Мы провели серию наблюдений по применению импульсного лазера на парах меди для лечения ксантелазм век различной степени тяжести. Для контроля результатов лазерной обработки использовалась дерматоскопия.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценить эффективность лечения ксантелазмы век излучением лазера на парах меди с дерматоскопическим контролем процесса лечения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Лечение ксантелазмы век I–IV степени было выполнено у 47 светлокожих пациентов (мужчин – 14, женщин – 33) в возрасте 28–72 лет, проходивших лечение в Лазерном центре Северо-Западного медицинского университета (Санкт-Петербург; лицензия ФС-78-01-003165) и медицинской клинике «Пермский Флебосентр» (Пермь; лицензия ЛО-59-01-004862) с мая 2016 по январь 2021 г. Полученные результаты были оценены в этом исследовании.

Все пациенты дали письменное информированное согласие на удаление ксантелазм с помощью лазерного медицинского аппарата на парах меди. Исследование проводилось в соответствии с Хельсинкским протоколом.

Дифференциальный диагноз проводился с сиригомой, эластической псевдоксантомой и опухолевыми заболеваниями кожи. Проводилась дерматоскопия, в ходе которой при ксантелатозе видны желтые бляшки, а их цвет настолько характерный, что диагноз не вызывает сомнений.

Характерный внешний вид и локализация ксантелазмы позволяют поставить диагноз сразу же после осмотра пациента.

Для **лечения** ксантелазм использовался лазерный медицинский аппарат на парах меди «Яхрома-Мед» (Физический институт им. П.Н. Лебедева РАН; регистрационное удостове-

thelasma palpebrarum of various degrees. Dermatoscopy was used to monitor the results of laser treatment.

AIM OF THE RESEARCH

To evaluate the effectiveness of the xanthelasma palpebrarum treatment using a copper vapor laser under dermatoscopic control of the treatment process.

MATERIALS AND METHODS

Treatment of xanthelasma palpebrarum grade I–IV was performed in 47 fair-skinned patients (14 men, 33 women) aged 28–72 years who were treated at the Laser Center of North-Western Medical University (St. Petersburg; license FS-78-01-003165) and Medical Clinic “Perm Phlebocenter” (Perm; license LO-59-01-004862) from May 2016 to January 2021. The results obtained were evaluated in this study.

All patients provided informed consent for xanthelasmas removal using a copper vapor laser. The study was conducted in accordance with the Helsinki Protocol.

The differential diagnosis was performed between syringoma, pseudoxanthoma elasticum and skin tumor diseases. Dermatoscopy was performed, during which yellow plaques were visible, and their color was so characteristic that the diagnosis was beyond doubt.

The characteristic appearance and localization of xanthelasma allow the diagnosis to be made immediately after examining a patient.

For the **treatment** of xanthelasma, a “Yakhroma-Med” copper vapor laser medical system (Lebedev Physical Institute of the Russian Academy of Sciences; registration certificate of the Federal Service for Surveillance in Healthcare No. FSR 2008/03743) was used, operating at wavelengths of 511 and 578 nm with a pulse duration of 20 ns and a pulse repetition frequency of 16.6 kHz. The following parameters were chosen for the procedure: average power 0.6–0.8 W at a wavelength of 578 nm (yellow). Exposure time is 0.2 s. The spot diameter on the skin surface is 1 mm. Treatment was performed under local anesthesia or local hypothermia.

During the laser procedure, the whole surface of xanthelasmas was treated with laser pulses until uniform gray discoloration. The criterion for selecting the pulse energy was the maximum gray discoloration of the whole xanthelasma surface without damaging it.

Since the light spot diameter on the skin is approximately 1 mm when using a copper vapor laser, the clinical outcome of the treatment depends

рение Росздравнадзора № ФСР 2008/03743), работающий на длинах волн 511 и 578 нм с длительностью импульсов генерации 20 нс и с частотой следования импульсов 16.6 кГц. При проведении процедуры были выбраны следующие параметры: средняя мощность 0.6–0.8 Вт на желтой (578 нм) длине волны генерации. Длительность экспозиции 0.2 с. Диаметр светового пятна на поверхности кожи – 1 мм. Лечение проводилось с использованием местной анестезии либо при локальной гипотермии.

Во время лазерной процедуры вся поверхность ксантелазм обрабатывалась лазерными импульсами до равномерного посерения. Критерием выбора энергии импульса было максимальное посерение всей поверхности ксантелазмы без ее повреждения.

Поскольку при использовании лазерного аппарата на парах меди диаметр светового пятна на коже составляет примерно 1 мм, от точности позиционирования световых пятен на коже зависит клинический результат лечения. При обработке ксантелазм требуется равномерное и плотное расположение световых пятен по всей площади новообразования, без наложения и пропусков. Для проверки равномерного посерения всей поверхности ксантелазмы после обработки лазерным излучением проводилась дерматоскопия с использованием аппарата Heine Delta 20 Plus (Германия). В случае обнаружения необработанных участков сразу проводилась повторная обработка.

Для защиты органа зрения во время лазерной обработки использовались металлические экраны, которые устанавливались на поверхность глаза после применения местного офтальмологического анестетика.

Место лазерного воздействия фотографировалось цифровой камерой до, сразу после и через 1 мес после процедуры. Эффективность лечения оценивали по клинической информации и изображениям с цифровой камеры. За пациентами наблюдали в течение двух лет после лечения.

Лазерная терапия, как правило, хорошо переносилась пациентами. Отек после процедуры был минимальным и купировался противовоспалительными кремами. После завершения процедуры кожу обрабатывали 0.05% раствором хлоргексидина биглюконата. После процедуры образовывались легкие корочки. Первые два дня на обработанную поверхность кожи наносили 5% декспантенол два раза в день. Все пациенты были проинструктированы о необходимости не травмировать обработанные участки в случае образования корочек. Через 10–14 дней после отслое-

на на точности позиционирования световых пятен на коже. При лечении ксантелазм, равномерная и плотная локализация световых пятен по всей площади новообразования требуется, без наложения и пропусков. Для проверки равномерного посерения всей поверхности ксантелазмы после лазерной обработки дерматоскопия проводилась с использованием аппарата Heine Delta 20 Plus дерматоскопа (Германия). Если неоплавленные участки были обнаружены, повторная обработка проводилась немедленно.

Для защиты глаза во время лазерной обработки использовались металлические экраны, которые устанавливались на поверхность глаза после применения местного офтальмологического анестетика.

Область лазерной экспозиции фотографировалась цифровой камерой до, сразу после и через 1 месяц после процедуры. Эффективность лечения оценивали по клиническим данным и снимкам, сделанным цифровой камерой. Пациенты были наблюдаемы в течение двух лет после лечения.

Лазерная терапия в целом хорошо переносилась пациентами. Отек после процедуры был перенесен и был устранен с помощью противовоспалительных кремов. После завершения процедуры кожа была обработана 0.05% раствором хлоргексидина глюконата. После процедуры образовались тонкие корочки. В течение первых двух дней, 5% декспантенол наносился на обработанную поверхность кожи дважды в день. Всем пациентам было рекомендовано не травмировать обработанные участки в случае образования корочек. Через 10–14 дней после отслое-

на при оценке результатов, фотографии каждого пациента на базисе и после лечения были сравнены тремя независимыми дерматологами. Результат лечения оценивался как отличный (полное излечение – 90–100% улучшение), очень хороший (75–89%), хороший (50–74%), средний (25–49%), и слабый (<25%). Все пациенты были наблюдаемы на предмет возможных осложнений в обработанных областях лица, включая рубцевание, постинфламаторную гиперпигментацию и гипопигментацию.

RESULTS

Лечение с помощью лазера с парами меди позволило полностью удалить очаги ксантелазмы век у всех пациентов, включая случаи IV степени, с улучшением 90–100%.

Не было рецидивов в течение двух лет после лечения. Ни у одного из пациентов не было постинфламаторной гипер- или гипопигментации, и не было формирования рубцов в течение 24 месяцев наблюдения.

Для иллюстрации лечения, мы представляем серию из трех случаев.

ния корочек в процессе регенерации эпидермиса кожа приобретала естественную окраску. Полное заживление обработанной поверхности кожи после лазерной процедуры завершалось в течение двух недель.

При оценке результатов сравнивались фотографии каждого пациента до и после лечения тремя независимыми дерматологами. Результат лечения оценивался как отличный (полное излечение – улучшение 90–100 %), очень хороший (75–89 %), хороший (50–74 %), средний (25–49 %) и слабый (<25 %). Все пациенты наблюдались с точки зрения любых возможных осложнений на обработанных участках лица, включая образование рубцов, поствоспалительную гиперпигментацию и гипопигментацию.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Лечение с помощью лазера на парах меди позволило полностью удалить у всех пациентов очаги ксантелазмы век, в том числе IV степени тяжести, с улучшением на 90–100 %.

В течение двух лет после лечения рецидива не было отмечено. Ни у одного из пациентов не наблюдалась поствоспалительная гипер- или гипопигментация и не отмечалось возникновения шрамов на протяжении всего периода катамнестического наблюдения в течение 24 мес.

Для иллюстрации процесса лечения мы приводим три клинических случая.

Клинический случай 1. Пациентка А., 39 лет. Болея в течение 3 лет, когда стала отмечать появление желтых образований в области уголков глаз размером 8×11 мм (рис. 1, А).

Case report 1. Patient A., 39 years old. She was ill for 3 years, when started to notice the appearance of yellow formations in the canthus area of both eyes measuring 8×11 mm (Fig. 1, A).

The results of physical examination of the general practitioner: overall health status is well. Skin, visible mucous membranes of ordinary color. In the lungs, vesicular breath. Respiratory rate 16/min. SaO₂ 97%. Tones are rhythmic, heart rate 80/min, blood pressure 120/80 mm Hg. Tongue is moist, coated at the root. The abdomen is soft, non-tender.

The results of physical examination of the dermatologist: the skin and visible mucous membranes are clean. Yellow formations in the area of the canthi, 10 mm in size, dense on palpation, slightly protruding above the skin.

No data indicating pathology were revealed.

Diagnosis: xanthelasma of the lower eyelid, grade I.

The parameters of laser exposure were chosen in accordance with the peculiarities of localization of the xanthelasma (lower eyelid) and the results of dermatoscopy (deep yellow color). Fig. 1, B shows the results of dermatoscopic examination immediately after the treatment using a “Yakhroma-Med” copper vapor laser (wavelength 578 nm, average power 0.61 W, exposure time 0.2 s).

After the procedure, there was a decrease in the volume of the xanthelasma, becoming slightly grayish. Dermatoscopy of the xanthelasma, performed immediately after the procedure (in the lower eyelid area), showed that there was a uniform decrease in the accumulation of yellow lumps and change in color: the foci turned grayish, blanching and



Рис. 1. Ксантелазмы правого медиального угла глаза (в области нижнего века) – основной очаг 10 мм, желтого цвета, плотный: А – до лечения; В – дерматоскопия (увеличение ×10) этого очага сразу после лечения на лазерном аппарате на парах меди «Яхрома-Мед» (длина волны 578 нм, мощность 0.61 Вт, время экспозиции 0.2 с)

Fig. 1. Xanthelasmas of the right medial canthus (lower eyelid), the main focus of 10 mm, yellow, dense: А – at baseline; В – dermatoscopy (magnification ×10) of this area immediately after the treatment using a “Yakhroma-Med” copper vapor laser (wavelength 578 nm, power 0.61 W, exposure time 0.2 s)

Результаты физикального осмотра терапевта: общее состояние удовлетворительное. Кожа, видимые слизистые оболочки обычной окраски. В легких дыхание везикулярное. Число дыхательных движений (ЧДД) 16 в 1 мин. SaO_2 97 %. Тоны ритмичные, число сердечных сокращений (ЧСС) 80, АД 120/80 мм рт. ст. Язык влажный, обложен у корня. Живот мягкий, безболезненный.

Результаты физикального осмотра дерматолога: кожные покровы и видимые слизистые оболочки чистые. Отмечается наличие желтых образований в области уголков глаз размером 10 мм, при пальпации плотные, немного выступают над уровнем кожи.

При обследовании данных, свидетельствующих о патологии, не выявлено.

Диагноз – ксантелазмы нижних век, степень тяжести I.

Параметры лазерного воздействия были выбраны в связи с особенностями локализации ксантелазмы нижнего века глаза и результатами дерматоскопии (очень выраженный насыщенный желтый цвет). На рис. 1, В показаны результаты дерматоскопического исследования сразу после лечения на лазерном аппарате на парах меди «Яхрома-Мед» (длина волны 578 нм, средняя мощность 0.61 Вт, длительность экспозиции 0.2 с).

После процедуры отмечалось уменьшение объема образования, легкое посерение. Дерматоскопия ксантелазмы правого угла глаза, выполненная сразу после процедуры (в области нижнего века), показала, что имеется однородное уменьшение скопления комков желтого цвета и изменение цвета: очаги посерели, побледнели и уменьшились в объеме. Ресничный край не изменился.

Клинический случай 2. Пациентка Е., 56 лет. Болея в течение 7 лет, когда стала отмечать появление желтых образований в области уголков глаз (рис. 2, А).

Результаты физикального осмотра терапевта: общее состояние удовлетворительное. Кожа, видимые слизистые оболочки обычной окраски. В легких дыхание везикулярное. ЧДД 16 в 1 мин. SaO_2 97 %. Тоны ритмичные, ЧСС 80, АД 130/90 мм рт. ст. Язык влажный, обложен у корня. Живот мягкий, безболезненный.

Результаты физикального осмотра дерматолога: кожные покровы и видимые слизистые оболочки чистые. Отмечается наличие желтых образований в области верхнего и нижнего века левого глаза – очаги от 10 до 30 мм, при пальпации плотные, немного выступают над уровнем кожи, желтого цвета, пальпируются как папулы.

decreased in volume. The eyelash line has not changed.

Case report 2. Patient E., 56 years old. She was ill for 7 years, when started to notice the appearance of yellow formations in the canthus area of the eyes (Fig. 2, A).

The results of physical examination of the general practitioner: overall health status is well. Skin, visible mucous membranes of ordinary color. In the lungs, vesicular breath. Respiratory rate 16/min. SaO_2 97%. Rhythmic tones of the heart, heart rate 80/min, blood pressure 130/90 mm Hg. The tongue is moist, coated at the root. The abdomen is soft, non-tender.

The results of physical examination of the dermatologist: the skin and visible mucous membranes are clean. Yellow formations in the upper and lower eyelids of the left eye – foci from 10 to 30 mm, dense on palpation, slightly protruding above the skin, yellow in color, palpable as papules.

No data indicating pathology were revealed.

Diagnosis: xanthelasma of the upper and lower eyelids, grade II.

The following parameters of a “Yakhroma-Med” copper vapor laser were selected: wavelength 578 nm, average power 0.61 W, exposure time 0.2 s. Immediately after the procedure, there was a decrease in the volume of the xanthelasma, slightly grayish discoloration, notably, on the upper eyelid, the area was lighter in color (Fig. 2, B).

Case report 3. Patient A., 54 years old. He was ill for 7 years, when started noticing the yellow formations on the left and right upper eyelids (Fig. 3, A).

The results of physical examination of the general practitioner: overall health status is well. Skin, visible mucous membranes of ordinary color. In the lungs, vesicular breath sound. Respiratory rate 16/min. SaO_2 97%. Rhythmic heart sound, heart rate 80, blood pressure 125/90 mm Hg. The tongue is moist, coated at the root. The abdomen is soft, non-tender.

The results of physical examination of the dermatologist: the skin and visible mucous membranes are clean. Yellow newformations in the upper eyelid area of the left and right eyes – foci of 18×8 mm, dense on palpation, slightly protruding above the skin, yellow in color, palpated as papules.

During the examination, there was no evidence of pathology.

Diagnosis: xanthelasma of the upper and lower eyelids, grade I.

The parameters of the treatment using a “Yakhroma-Med” copper vapor laser medical system: wavelength 578 nm, average power 0.65 W, exposure time 0.2 s. A single laser treatment made it possible to achieve complete resolution of the area of pathological foci (Fig. 3, B).

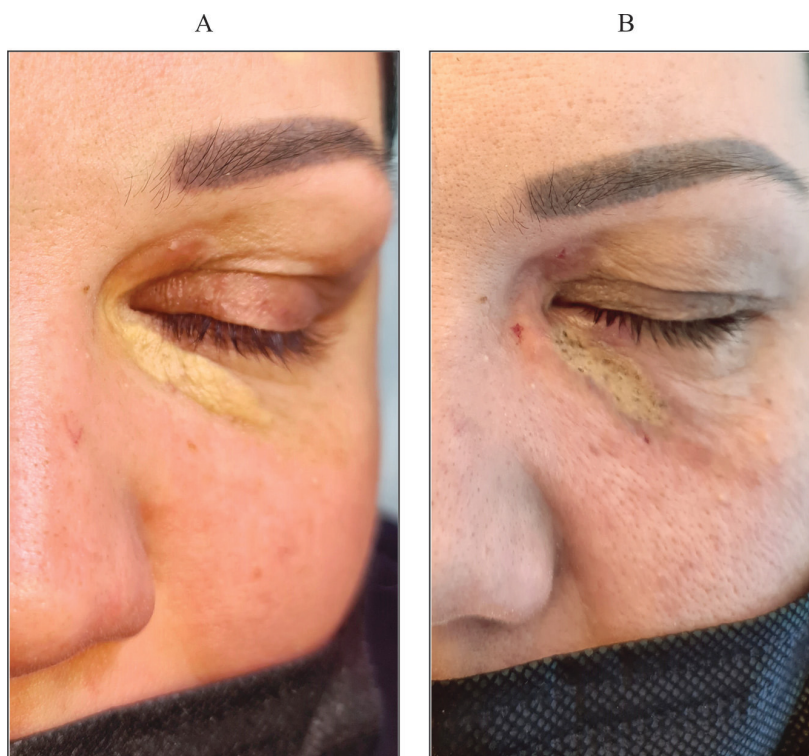


Рис. 2. Ксантелазмы левого угла глаза (в области верхнего и нижнего века левого глаза):

А – до лечения: очаги от 10 до 30 мм желтого цвета, плотные, пальпируются как папулы; В – сразу после процедуры (отмечается уменьшение объема образования, легкое посерение, причем в области верхнего века цвет светлее) (длина волны 578 нм, средняя мощность 0.61 Вт, длительность экспозиции 0.2 с)

Fig. 2. Xanthelasmas of the left medial canthus (left eye, the upper and lower eyelids): A – at baseline: foci from 10 to 30 mm, yellow, dense, palpable as papules; B – immediately after the procedure (decrease in the volume, slight grayish hue, and the upper eyelid area being lighter in color) (wavelength 578 nm, average power 0.61 W, exposure time 0.2 s)

При обследовании данных, свидетельствующих о патологии, не выявлено.

Диагноз – ксантелазмы верхних и нижних век, степень тяжести – II.

Для лечения были выбраны следующие параметры лазерного аппарата на парах меди «Яхрома-Мед»: длина волны 578 нм, средняя мощность 0.61 Вт, длительность экспозиции 0.2 с. Сразу после процедуры отмечалось уменьшение объема образования, легкое посерение, причем в области верхнего века цвет светлее (рис. 2, В).

Клинический случай 3. Пациент А., 54 года. Болен в течение 7 лет, когда стал отмечать появление желтых образований слева и справа на верхних веках (рис. 3, А).

Результаты физикального осмотра терапевта: общее состояние удовлетворительное. Кожа, видимые слизистые оболочки обычной окраски. В легких дыхание везикулярное. ЧДД 16 в 1 мин. SaO_2 97 %. Тоны ритмичные, ЧСС 80, АД 125/90 мм рт. ст. Язык влажный, обложен у корня. Живот мягкий, безболезненный.

DISCUSSION

Approximately two decades ago, surgery was the only method of removing xanthelasmas, and remains the classic modality to treat these disorders. Surgical excision as a method for the treatment of xanthelasma [3] is complicated by the risk of damage to the eye and the small thickness of the skin in the periorbital region [7], as well as the need for blepharoplasty in the treatment of grade III–IV xanthelasma. The results of surgical removal of xanthelasmas were satisfactory, especially after introducing microsurgical techniques. However, due to the high recurrence rate, repeated procedures in the sensitive periorbital area were required, which led to the risk of complications, so there was a permanent search for alternative methods of xanthelasma treatment.

Using chemical peeling with trichloroacetic acid for the treatment of xanthelasma is considered risky for the eye by most doctors because of the non-selectivity of exposure effect controlling the depth of treatment [8]. Treatment of small-sized xanthelasmas was performed using plasma ablation [9].

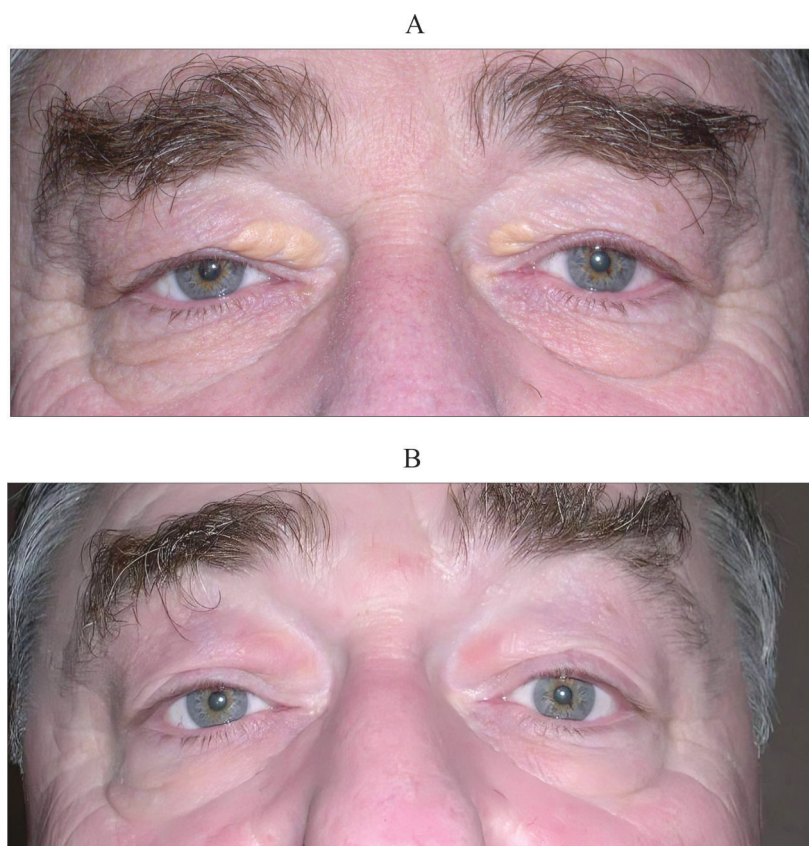


Рис. 3. Ксантелазмы в области верхнего века левого и правого глаза размером 18×8 мм:
А – до лечения; В – через 1 мес после лечения лазером на парах меди
Fig. 3. Xanthelasma in the upper eyelid area of the left and right eyes measuring 18×8 mm:
А – at baseline; В – one month after the treatment with a copper vapor laser

Результаты физикального осмотра дерматолога: кожные покровы и видимые слизистые оболочки чистые. Отмечается наличие желтых образований в области верхнего века левого и правого глаза – очаги 18×8 мм, при пальпации плотные, немного выступают над уровнем кожи, желтого цвета, пальпируются как папулы.

При обследовании данных, свидетельствующих о патологии, не выявлено.

Диагноз – ксантелазмы верхних и нижних век, степень тяжести – I.

Лечение на лазерном аппарате на парах меди «Яхрома-Мед» проводилось при длине волны 578 нм, средней мощности 0.65 Вт, длительности экспозиции 0.2 с. Однократное лазерное воздействие позволило добиться полного разрешения области патологических очагов (рис. 3, В).

ОБСУЖДЕНИЕ

Примерно два десятилетия назад хирургия была единственным методом удаления ксантелазм и до сих пор остается классическим способом лечения этих образований. Хирургическое иссе-

Currently, laser treatment of xanthelasma has shown good results [10–17] (Table 1). The introduction of ablative laser surgery using a CO₂ laser or an erbium:yttrium aluminum garnet laser has shown high efficacy in the treatment of xanthelasma [14, 16].

The main disadvantages of ablative laser surgery include the following:

1. Ablative laser treatment leaves an open wound, which renders the patient unfit for work for several days and requires careful wound care.

2. Often, after surgical removal of xanthelasma, procedures have to be repeated, so the risk of recurrence remains the same. The risk of scar formation arising from erroneous involvement of the subcutaneous layer may be insignificant as a result of single carefully performed procedure, but with multiple procedures, the risks increase. If scars form in the xanthelasma treatment area, the procedure itself turns out to be useless because the patient came to the laser surgeon primarily as a result of cosmetic concerns.

3. In blepharoptosis (blepharochalasis), ablation and thermal effect, leading to collagen shrinkage, cause involuntary, uncontrolled and asymmetric retractions.

чение в качестве метода для лечения ксантелазмы [3] осложнено из-за опасности повреждения органа зрения и малой толщины кожи в периорбитальной области [7], а также необходимости блефаропластики при лечении ксантелазм III–IV степени. Результаты хирургического удаления ксантелазм были удовлетворительными, особенно после внедрения микрохирургической техники. Но из-за высокой частоты рецидивов требовались повторные процедуры в деликатной периорбитальной области, которые приводили к риску осложнений, поэтому шел постоянный поиск альтернативных методов лечения ксантелазм.

Применение химического пилинга с трихлоруксусной кислотой для лечения ксантелазм большинство врачей, из-за неселективности воздействия и трудностей контроля глубины обработки, считают рискованным для органа зрения [8]. Лечение ксантелазм небольшого размера проводилось с помощью плазменной абляции [9].

В настоящее время лазерное лечение ксантелазм показало хорошие результаты [10–17] (табл. 1). Внедрение абляционной лазерной хирургии с помощью CO₂ лазера или лазера на иттрий-алюминиевом гранате, легированном эрбием, показало высокую эффективность при лечении ксантелазм [14, 16].

К числу основных недостатков абляционной лазерной хирургии следует отнести следующие:

1. Лечение абляционным лазером оставляет открытую рану, что делает пациента нетрудоспособным в течение нескольких дней и требует тщательного ухода за раной.

2. Часто после хирургического удаления ксантелазм процедуры приходится повторять, поэтому риск рецидива остается прежним. Риск рубцов, возникающих при ошибочном вовлечении подкожного слоя, может быть невелик в результате одной тщательно выполненной процедуры, но при многократных процедурах риски возрастают. Если в зоне обработки ксантелазм образуются рубцы, процедура сама по себе оказывается бесполезной, потому что пациента привели в кабинет лазерного хирурга в первую очередь косметические проблемы.

3. В случаях опущения век (блефарохалазис) абляция и термический эффект, приводящие к усадке коллагена, вызывают непроизвольные, неконтролируемые и асимметричные ретракции.

4. Абляционные лазерные процедуры несут риск инфекции, образования рубцов и пигментации [16].

Во время удаления ксантелазм, например, с помощью эрбиевого лазера [11, 14] есть риск кровотечения, так как эрбиевый лазер испаряет

4. Ablative laser procedures have the risk of infection, scarring and pigmentation [16].

During xanthelasma removal, for example, using an erbium laser [11, 14], there is a risk of bleeding, since the erbium laser vaporizes tissues without coagulating blood vessels. In addition, ablative treatment modalities require a long-term, up to 15 days, rehabilitation period.

To overcome these problems, the use of non-ablative lasers, such as, for example, a pulsed dye laser (PDL), has proved effective for the treatment of small-sized xanthelasmas. The use of PDL for the treatment of xanthelasmas showed good results, but it took five sessions to completely remove xanthelasmas [12]. The exact mechanism of PDL laser action on xanthelasmas has not been fully clarified. It was assumed that the energy of the laser pulse leads to heating and subsequent coagulation of the vessels of the upper dermis, as well as damage to perivascular foam cells. Coagulation of affected vessels blocks the leakage of lipids into tissues and thereby prevents recurrence.

In contrast, the use of neodymium laser did not have significant xanthelasma resolution: 70–75% of xanthelasmas in patients showed no change after the treatment [15].

As shown in Table 1, the sizes of xanthelasmas that could be cured with various lasers did not exceed 1 cm².

When working with laser radiation in the eyelid region, preference should be given to laser medical systems with a low penetration depth of radiation into tissues. This increases the safety of the procedure by reducing the likelihood of eye injury [18].

A copper vapor laser has shown its effectiveness for the treatment of various types of skin xanthomas [6]. Its use provides a significant advantage over other conventional methods. The effective depth of exposure to copper vapor laser radiation at a wavelength of 578 nm, which corresponds to the local peak of oxyhemoglobin absorption and is successfully used for the treatment of vascular skin newformations, does not exceed the thickness of the dermis [7, 19], therefore its use in the periorbital region may be safer compared with other type of lasers.

Treatment of xanthelasma palpebrarum and prevention of its recurrence by copper vapor laser radiation should be aimed at removing lipids in the focus of xanthelasma in combination with the elimination of the inflammatory process and remodeling of the associated vascular bed of the papillary and upper reticular layer of the dermis [12, 20]. Therefore, the treatment of xanthelasma using copper vapor laser radiation, which provides high selectivity of heating and coagulation of dysplastic vessels, has proven to be effective.

Таблица 1. Сравнение различных лазерных систем для лечения ксантелазм
Table 1. Comparison of different laser modalities for the treatment of xanthelasma

Тип лазера Type of laser	Длина волны, нм Wave-length, nm	Размер ксантелазм Xanthelasma size	Количество процедур Number of procedures	Эффективность Efficacy	Время заживления, нед Healing time, weeks	Побочные эффекты Side effects
Аргонный лазер [11] Argon laser [11]	514	<1 см ² <1 см ²	1–4	Полное излечение в 85 % случаев Complete cure in 85% of cases	1–2	Рубцевание, дисхромия Высокая частота рецидивов Scarring, dyschromia High recurrence rate
Импульсный лазер на красителе [12] Pulsed dye laser [12]	595	<1 см ² <1 см ²	5	Более 50 % очагов More than 50% of foci	4	Пурпура, отек, гиперпигментация Purpura, edema, hyperpigmentation
КТР*-лазер [13] РТРН*-лазер [13]	532	<1 см ² <1 см ²	4	85.7 %	4–6	Без значительных побочных эффектов Without significant side effects
Эрбиевый лазер на иттрий-алюминиевом гранате [14] Erbium laser on yttrium-aluminum garnet [14]	2940	<1 см ² <1 см ²	1	100 %	2	Эритема длительностью 1–2 нед Erythema for 1–2 weeks
Неодимовый лазер на иттрий-алюминиевом гранате [15] Neodymium-doped yttrium aluminium garnet laser [15]	1064	<1 см ² <1 см ²	4	Низкая Low	3	Отек Edema
CO ₂ лазер [16] CO ₂ laser [16]	10 600	<1 см ² <1 см ²	1	100 %	2–3	Частота рецидивов 13 % при сроке наблюдения 10 мес Recurrence rate is 13% with follow-up of 10 months
Диодный лазер [17] Diode laser [17]	1450	<1 см ² <1 см ²	4	40–80 %	4–6	Гиперпигментация, отек в течение 3–4 дней Hyperpigmentation, edema within 3–4 days

* КТР – potassium tytanil phosphate (калий-титанил-фосфатный).
 РТРН – potassium tytanil phosphate.

ткани, не коагулируя сосуды. Кроме того, абляционные методы лечения требуют длительного, до 15 дней, периода реабилитации.

Чтобы преодолеть эти проблемы, для лечения небольших ксантелазм оказалось эффективным применение неабляционных лазеров, таких как, например, импульсный лазер на красителе (ИЛК). Использование ИЛК для лечения ксантелазм показало хорошие результаты, но для полного удаления ксантелазм потребовалось пять сеансов [12]. Точный механизм лазерного воздействия ИЛК на ксантелазмы остался до конца не выяснен. Предполагалось, что энергия

CONCLUSION

The results of our case report series demonstrated the high efficacy of using a copper vapor laser, including for large grade III–IV xanthelasmas. The use of a copper vapor laser ensured the atraumatic nature of the procedure and excellent cosmetic results.

Xanthelasma treatment was performed on an outpatient basis.

Dermatoscopy was used to check the completeness of xanthelasma surface treatment with laser radiation, which allows to monitor control local color changes of xanthelasma during the procedure

лазерного импульса приводит к нагреву и последующей коагуляции сосудов верхних слоев дермы, а также к повреждению периваскулярных пенистых клеток. Коагуляция патологических сосудов блокирует просачивание липидов в ткани и тем самым предотвращает рецидив.

Напротив, применение неодимового лазера не дало значительного разрешения ксантелазм: 70–75 % образований у пациентов после лечения не показали изменений [15].

Как показано в табл. 1, размеры ксантелазм, которые удавалось вылечить различными лазерами, не превышали 1 см².

При работе с лазерным излучением в области век предпочтение следует отдавать лазерным аппаратам с малой глубиной проникновения излучения в ткани. Это повышает безопасность процедуры за счет снижения вероятности травмирования органа зрения [18].

Лазер на парах меди показал свою эффективность для лечения ксантом кожи различных типов [6]. Его использование обеспечивает значительное преимущество перед другими традиционными методами. Эффективная глубина воздействия излучения лазера на парах меди на желтой длине волны 578 нм, которая соответствует локальному пику поглощения оксигемоглобина и успешно применяется для лечения сосудистых новообразований кожи, не превышает толщины дермы [7, 19], поэтому его применение в периорбитальной области может оказаться более безопасно по сравнению с другими лазерными системами.

Лечение ксантелазмы век и профилактика ее рецидивов излучением лазера на парах меди должны быть направлены на удаление липидов в очаге ксантелазмы в сочетании с ликвидацией воспалительного процесса и ремоделированием ассоциированного с ним сосудистого русла папиллярного и верхнего ретикулярного слоя дермы [12, 20]. Поэтому лечение ксантелазмы излучением лазера на парах меди, обеспечивающим высокую селективность нагрева и коагуляции диспластических сосудов, оказалось эффективным.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты нашей серии наблюдений продемонстрировали высокую эффективность применения лазера на парах меди, в том числе для крупных ксантелазм III–IV степени. Применение лазера на парах меди обеспечило атравматичность процедуры и отличные косметические результаты. Лечение ксантелазм было выполнено в амбулаторных условиях.

Для проверки полноты обработки поверхности ксантелазм лазерным излучением использо-

that cannot be seen with the naked eye. Thus improving the results of laser treatment and preventing relapses.

In our case report series, the treatment of xanthelasma palpebrarum using copper vapor laser radiation at a wavelength of 578 nm made it possible to achieve a complete cure of the affected area without long-term side effects (scarring or recurrence) in one session. However, further studies involving a larger number of patients with different skin phototypes are needed to give an objective assessment of the procedure in question.

Participation of the authors. All authors are responsible for the content and integrity of the article.

The concept and design of the study – I.V. Ponomarev, S.B. Topchiy; material collection and processing – S.B. Topchiy, S.V. Klyuchareva; text writing – I.V. Ponomarev; editing – P.G. Vlasov.

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

валась дерматоскопия, позволяющая контролировать локальные изменения цвета ксантелазмы во время лазерной обработки, которые нельзя увидеть невооруженным глазом, что позволяет улучшить результаты лазерного лечения и предотвратить рецидивы.

В нашей серии наблюдений лечение ксантелазм век излучением лазера на парах меди на длине волны 578 нм позволило добиться полного излечения патологического очага без отдаленных побочных эффектов (рубцевания или рецидива) за один сеанс. Однако необходимы дальнейшие исследования, включающие большее количество пациентов с различным фототипом кожи, чтобы дать объективную оценку рассматриваемой процедуры.

Участие авторов. Все авторы несут ответственность за содержание и целостность всей статьи.

Концепция и дизайн исследования – И.В. Пономарев, С.Б. Топчий; сбор и обработка материала – С.Б. Топчий, С.В. Ключарева; написание текста – И.В. Пономарев; редактирование – П.Г. Власов.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Al Aboud A.M., Shah S.S., Blair K., Al Aboud D.M. Xanthelasma palpebrarum // StatPearls. StatPearls Publishing, Treasure Island (FL), 2023. URL: <https://europepmc.org/article/nbk/nbk531501> (дата обращения: 24.06.2024).
2. Addison T. On a certain affection of the skin-vitiligoidea- α plana, β tuberosa // *Guy's Hosp. Rep.* 1851;7:265.
3. Lee H.Y., Jin U.S., Minn K.W., Park Y.O. Outcomes of surgical management of xanthelasma palpebrarum // *Arch. Plast. Surg.* 2013;40(4):380-386. DOI: 10.5999/aps.2013.40.4.380.
4. Khode S., Tan S.H.T., Tan E.A., Uppal S. Xanthelasma palpebrarum: more than meets the eye // *Indian J. Otolaryngol. Head Neck Surg.* 2019;71(1):439-446. DOI: 10.1007/s12070-018-1345-0.
5. Di M., Zhang Y., Zeng R. et al. The pro-angiogenesis effect of miR33a-5p/Ets-1/DKK1 signaling in ox-LDL induced HUVECs // *Int. J. Biol. Sci.* 2021;17(15):4122-4139. DOI: 10.7150/ijbs.60302.
6. Ключарева С.В., Пономарев И.В. Опыт применения лазера на парах меди в лечении ксантомотоза кожи // *Вестник дерматологии и венерологии.* 2007;4:52-54.
7. Chopra K., Calva D., Sosin M. et al. A comprehensive examination of topographic thickness of skin in the human face // *Aesthet. Surg. J.* 2015;35(8):1007-1013. DOI: 10.1093/asj/sjv079.
8. Cannon P.S., Ajit R., Leatherbarrow B. Efficacy of trichloroacetic acid (95%) in the management of xanthelasma palpebrarum // *Clin. Exp. Dermatol.* 2010;35(8):845-848. DOI: 10.1111/j.1365-2230.2010.03818.x.
9. Ритиня И.Ф., Рубинс С.А., Рубинс А.Я. Опыт удаления доброкачественных новообразований кожи в шейно-лицевой области методом плазменной абляции // *Вестник дерматологии и венерологии.* 2017;93(4):44-52.
10. Laftah Z., Al-Niaimi F. Xanthelasma: An update on treatment modalities // *J. Cutan. Aesthet. Surg.* 2018;11(1):1-6. DOI: 10.4103/jcas.jcas_56_17.
11. Abdelkader M., Alashry S.E. Argon laser versus erbium:YAG laser in the treatment of xanthelasma palpebrarum // *Saudi J. Ophthalmol.* 2015;29(2):116-120. DOI: 10.1016/j.sjopt.2014.09.017.
12. Karsai S., Czarnecka A., Raulin C. Treatment of xanthelasma palpebrarum using a pulsed dye laser: a prospective clinical trial in 38 cases // *Dermatol. Surg.* 2010;36(5):610-617. DOI: 10.1111/j.1524-4725.2010.01514.x.
13. Berger C., Kopera D. KTP laser coagulation for xanthelasma palpebrarum // *J. Dtsch. Dermatol. Ges.* 2005;3(10):775-779. DOI: 10.1111/j.1610-0387.2005.05746.x.
14. Jung S.Y., Hwang N.H., Yoon E.S., Park S.H. Erbium:yttrium aluminum garnet laser treatment for xanthelasma palpebrarum // *Medical Lasers.* 2017;6(1):24-28. DOI: 10.25289/ML.2017.6.1.24.
15. Karsai S., Schmitt L., Raulin C. Is Q-switched neodymium-doped yttrium aluminium garnet laser an effective approach to treat xanthelasma palpebrarum? Results from a clinical study of 76 cases // *Dermatol.*

REFERENCES

1. Al Aboud A.M., Shah S.S., Blair K., Al Aboud D.M. Xanthelasma palpebrarum. StatPearls. StatPearls Publishing, Treasure Island (FL), 2023. URL: <https://europepmc.org/article/nbk/nbk531501> (accessed 24.06.2024).
2. Addison T. On a certain affection of the skin-vitiligoidea- α plana, β tuberosa. *Guy's Hosp. Rep.* 1851;7:265.
3. Lee H.Y., Jin U.S., Minn K.W., Park Y.O. Outcomes of surgical management of xanthelasma palpebrarum. *Arch. Plast. Surg.* 2013;40(4):380-386. DOI: 10.5999/aps.2013.40.4.380.
4. Khode S., Tan S.H.T., Tan E.A., Uppal S. Xanthelasma palpebrarum: more than meets the eye. *Indian J. Otolaryngol. Head Neck Surg.* 2019;71(1):439-446. DOI: 10.1007/s12070-018-1345-0.
5. Di M., Zhang Y., Zeng R. et al. The pro-angiogenesis effect of miR33a-5p/Ets-1/DKK1 signaling in ox-LDL induced HUVECs. *Int. J. Biol. Sci.* 2021;17(15):4122-4139. DOI: 10.7150/ijbs.60302.
6. Klyuchareva S.V., Ponomarev I.V. Application of a copper vapour laser for the treatment of skin xanthomatosis. *Vestnik Dermatologii i Venerologii.* 2007;4:52-54. (In Russ.)
7. Chopra K., Calva D., Sosin M. et al. A comprehensive examination of topographic thickness of skin in the human face. *Aesthet. Surg. J.* 2015;35(8):1007-1013. DOI: 10.1093/asj/sjv079.
8. Cannon P.S., Ajit R., Leatherbarrow B. Efficacy of trichloroacetic acid (95%) in the management of xanthelasma palpebrarum. *Clin. Exp. Dermatol.* 2010;35(8):845-848. DOI: 10.1111/j.1365-2230.2010.03818.x.
9. Ritina I.F., Rubins S.A., Rubins A.Y. Experience of removing benign neoplasms of skin in cervicofacial area using the method of plasma ablation. *Vestnik Dermatologii i Venerologii.* 2017;93(4):44-52. (In Russ.)
10. Laftah Z., Al-Niaimi F. Xanthelasma: An update on treatment modalities. *J. Cutan. Aesthet. Surg.* 2018;11(1):1-6. DOI: 10.4103/jcas.jcas_56_17.
11. Abdelkader M., Alashry S.E. Argon laser versus erbium:YAG laser in the treatment of xanthelasma palpebrarum. *Saudi J. Ophthalmol.* 2015;29(2):116-120. DOI: 10.1016/j.sjopt.2014.09.017.
12. Karsai S., Czarnecka A., Raulin C. Treatment of xanthelasma palpebrarum using a pulsed dye laser: a prospective clinical trial in 38 cases. *Dermatol. Surg.* 2010;36(5):610-617. DOI: 10.1111/j.1524-4725.2010.01514.x.
13. Berger C., Kopera D. KTP laser coagulation for xanthelasma palpebrarum. *J. Dtsch. Dermatol. Ges.* 2005;3(10):775-779. DOI: 10.1111/j.1610-0387.2005.05746.x.
14. Jung S.Y., Hwang N.H., Yoon E.S., Park S.H. Erbium:yttrium aluminum garnet laser treatment for xanthelasma palpebrarum. *Medical Lasers.* 2017;6(1):24-28. DOI: 10.25289/ML.2017.6.1.24.
15. Karsai S., Schmitt L., Raulin C. Is Q-switched neodymium-doped yttrium aluminium garnet laser an effective approach to treat xanthelasma palpebrarum? Results from a clinical study of 76 cases. *Dermatol. Surg.* 2009;35(12):1962-1969. DOI: 10.1111/j.1524-4725.2009.01314.x.

- Surg. 2009;35(12):1962-1969. DOI: 10.1111/j.1524-4725.2009.01314.x.
16. Raulin C., Schoenermark M.P., Werner S., Greve B. Xanthelasma palpebrarum: treatment with the ultrapulsed CO₂ laser // *Lasers Surg. Med.* 1999;24(2):122-127. DOI: 10.1002/(sici)1096-9101(1999)24:2<3C122::aid-lsm7>3E3.O.co;2-6.
 17. Park E.J., Youn S.H., Cho E.B. et al. Xanthelasma palpebrarum treatment with a 1,450-nm-diode laser // *Dermatol. Surg.* 2011;37(6):791-796. DOI: 10.1111/j.1524-4725.2011.01945..x.
 18. Parver D.L., Dreher R.J., Kohanim S. et al. Ocular injury after laser hair reduction treatment to the eyebrow // *Arch. Ophthalmol.* 2012;130(10):1330-1334. DOI: 10.1001/archophthalmol.2012.1988.
 19. Ключарева С.В., Пономарев И.В., Пушкарева А.Е. Лечение сосудистых мальформаций кожи с применением лазеров на парах меди и импульсного лазера на красителе // *Вестник дерматологии и венерологии.* 2018;94(1):67-77. DOI: 10.25208/0042-4609-2018-94-1-67-77.
 20. Ключарева С.В., Пономарев И.В., Топчий С.Б., Пушкарева А.Е. Лечение ринофимы с помощью лазера на парах меди // *Вестник дерматологии и венерологии.* 2018;94(5):50-58. DOI: 10.25208/0042-4609-2018-94-5-50-58.
 16. Raulin C., Schoenermark M.P., Werner S., Greve B. Xanthelasma palpebrarum: treatment with the ultrapulsed CO₂ laser. *Lasers Surg. Med.* 1999;24(2):122-127. DOI: 10.1002/(sici)1096-9101(1999)24:2<3C122::aid-lsm7>3E3.O.co;2-6.
 17. Park E.J., Youn S.H., Cho E.B. et al. Xanthelasma palpebrarum treatment with a 1,450-nm-diode laser. *Dermatol. Surg.* 2011;37(6):791-796. DOI: 10.1111/j.1524-4725.2011.01945..x.
 18. Parver D.L., Dreher R.J., Kohanim S. et al. Ocular injury after laser hair reduction treatment to the eyebrow. *Arch. Ophthalmol.* 2012;130(10):1330-1334. DOI: 10.1001/archophthalmol.2012.1988.
 19. Klyuchareva S.V., Ponomarev I.V., Pushkareva A.E. Therapy of skin vascular malformations using copper vapor laser and pulsed dye laser. *Vestnik Dermatologii i Venerologii.* 2018;94(1):67-77. DOI: 10.25208/0042-4609-2018-94-1-67-77. (In Russ.)
 20. Klyuchareva S.V., Ponomarev I.V., Topchiy S.B., Pushkareva A.E. Treatment of rhinophyma using a copper vapor laser. *Vestnik Dermatologii i Venerologii.* 2018;94(5):50-58. DOI: 10.25208/0042-4609-2018-94-5-50-58. (In Russ.)

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Пономарев Игорь Владимирович – канд. физ.-мат. наук, старший научный сотрудник ФГБУН Физический институт им. П.Н. Лебедева Российской академии наук, Москва, Россия. ORCID: 0000-0002-3345-3482; eLibrary SPIN: 7643-0784.

Топчий Сергей Борисович – канд. физ.-мат. наук, старший научный сотрудник ФГБУН Физический институт им. П.Н. Лебедева Российской академии наук, Москва, Россия. ORCID: 0000-0001-6540-9235; eLibrary SPIN: 2426-3858.

Ключарева Светлана Викторовна – д-р мед. наук, профессор ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия. ORCID: 0000-0003-0801-6181; eLibrary SPIN: 9701-1400.

Власов Павел Глебович – канд. мед. наук, клиника флебологии, пластической хирургии и лазерной косметологии «Пермский Флебоцентр», Пермь, Россия. ORCID: 0009-0000-9462-5316; eLibrary SPIN: 6607-2717.

ABOUT THE AUTHORS

Igor V. Ponomarev – Cand. Sci. (Phys. and Math.), Senior Researcher, Lebedev Physical Institute of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia. ORCID: 0000-0002-3345-3482; eLibrary SPIN: 7643-0784.

Sergey B. Topchiy – Cand. Sci. (Phys. and Math.), Senior Researcher, Lebedev Physical Institute of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia. ORCID: 0000-0001-6540-9235; eLibrary SPIN: 2426-3858.

Svetlana V. Klyuchareva – Dr. Sci. (Med.), Professor, North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg, Russia. ORCID: 0000-0003-0801-6181; eLibrary SPIN: 9701-1400.

Pavel G. Vlasov – Cand. Sci. (Med.), Clinic of Phlebology, Plastic Surgery and Laser Cosmetology “Perm Phlebocenter”, Perm, Russia. ORCID: 0009-0000-9462-5316; eLibrary SPIN: 6607-2717.

Изменения гематологических показателей у крыс при хронической интоксикации тяжелыми металлами на фоне экспериментального атеросклероза

Р.И. Ибрагимов

Научно-исследовательский центр Азербайджанского медицинского университета, Баку, Азербайджан

АННОТАЦИЯ

Введение. Воздействие тяжелых металлов является важным и недооцененным фактором риска, имеющим отношение к развитию атеросклероза и его последствий. Однако данных о гематологических изменениях при атеросклерозе вследствие воздействия тяжелых металлов в литературе обнаружить не удалось, что явилось основанием для проведения настоящей работы.

Цель исследования. Изучение изменений гематологических показателей при хроническом воздействии различных тяжелых металлов на фоне экспериментального атеросклероза.

Материал и методы. Исследования проведены на 110 белых нелинейных крысах-самцах, которые после моделирования атеросклероза подвергались хроническому воздействию тяжелых металлов через питьевую воду в течение 60 дней. Атеросклероз моделировался по И.В. Савицкому с соавт. на основе мультифакториальной теории развития атеросклероза и его последствий. В качестве токсикантов использованы сульфат кадмия, нитрат никеля и нитрат кобальта. Изучение гематологических показателей проведено на автоматическом гематологическом анализаторе.

Результаты. После интоксикации различными тяжелыми металлами в условиях экспериментального атеросклероза отмечается усугубление изменений гематологических показателей, имевших место после моделирования атеросклероза. Повышенное количество лейкоцитов, лимфоцитов, тромбоцитов и эритроцитов при экспериментальном атеросклерозе после хронической интоксикации тяжелыми металлами начинало уменьшаться за исключением количества тромбоцитов, которое продолжало увеличиваться. Сниженный уровень гемоглобина и его среднее содержание в эритроцитах, имевшие место при экспериментальном атеросклерозе, после интоксикации продолжали снижаться. Максимальные нарушения отмечались к 60-м суткам интоксикации, а наиболее резкие изменения отмечались под действием сульфата кадмия, затем нитрата никеля и нитрата кобальта.

Заключение. Наличие гематологических нарушений при хронической интоксикации тяжелыми металлами на фоне экспериментального атеросклероза диктует необходимость учета данных нарушений в комплексном лечении отравлений тяжелыми металлами, особенно в старших возрастных группах пациентов с атеросклеротическим повреждением сосудов.

Ключевые слова: экспериментальный атеросклероз, тяжелые металлы, гематологические показатели.

Образец цитирования: Ибрагимов Р.И. Изменения гематологических показателей у крыс при хронической интоксикации тяжелыми металлами на фоне экспериментального атеросклероза // Journal of Siberian Medical Sciences. 2024;8(4):21-32. DOI: 10.31549/2542-1174-2024-8-4-21-32

Changes in hematological parameters in rats with experimental atherosclerosis under chronic heavy metal intoxication

R.I. Ibragimov

Scientific Research Center, Azerbaijan Medical University, Baku, Azerbaijan

ABSTRACT

Introduction. Exposure to heavy metals is an important and underestimated risk factor related to the development of atherosclerosis and its consequences. However, data on hematological changes in atherosclerosis under exposure to heavy metals could not be found in the literature, which was the reason for carrying out this study.

Поступила в редакцию 17.07.2024
Прошла рецензирование 20.08.2024
Принята к публикации 10.09.2024

Автор, ответственный за переписку
Ибрагимов Рашад Ибрагим: Научно-исследовательский центр Азербайджанского медицинского университета. AZ1022, Азербайджан, г. Баку, ул. Анвера Гасымзаде, 14.
E-mail: iri-71@mail.ru

Received 17.07.2024
Revised 20.08.2024
Accepted 10.09.2024

Corresponding author
Rashad I. Ibragimov: Scientific Research Center, Azerbaijan Medical University, 14, Anver Gasymzade str., Baku, AZ1022, Azerbaijan.
E-mail: iri-71@mail.ru

A i m . Study of changes in hematological parameters under chronic exposure to various heavy metals in experimental atherosclerosis.

M a t e r i a l a n d m e t h o d s . The experiments were conducted on 110 outbred male albino rats which, after modeling atherosclerosis, were exposed to chronic heavy metals through drinking water for 60 days. The model of atherosclerosis was created according to I.V. Savitsky et al., based on the multifactorial theory of the development of atherosclerosis and its consequences. Cadmium sulfate, nickel nitrate and cobalt nitrate were used as toxicants. The measurement of hematological parameters was carried out using an automatic hematology analyzer.

R e s u l t s . After intoxication with various heavy metals under conditions of experimental atherosclerosis, an aggravation of changes in hematological parameters, that occurred after modeling atherosclerosis, took place. The increased count of leukocytes, lymphocytes, platelets and erythrocytes in experimental atherosclerosis after chronic intoxication with heavy metals began to decrease, with the exception of the platelet count which continued to increase. The increased level of hemoglobin and mean corpuscular hemoglobin, which occurred in experimental atherosclerosis, continued to decline after intoxication. Maximum disturbances were observed by the 60th day of intoxication, and the most pronounced changes were noted under exposure to cadmium sulfate, then nickel nitrate and cobalt nitrate.

C o n c l u s i o n . The presence of hematological disorders following the long-term exposure to heavy metals in experimental atherosclerosis necessitates to take these disorders into account in the comprehensive treatment of heavy metal poisoning, especially in older patients with atherosclerotic damage to the vessels.

Keywords: experimental atherosclerosis, heavy metals, hematological parameters.

Citation example: Ibragimov R.I. Changes in hematological parameters in rats with experimental atherosclerosis under chronic heavy metal intoxication. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2024;8(4):21-32. DOI: 10.31549/2542-1174-2024-8-4-21-32

ВВЕДЕНИЕ

Загрязнение окружающей среды тяжелыми металлами оказывает пагубное воздействие на здоровье человека и привлекает все большее внимание во всем мире. Всемирная организация здравоохранения уже давно рассматривает тяжелые металлы как наиболее опасные для здоровья людей токсиканты [1], и в целом токсичность металлов, возникающая из разных источников, является проблемой возрастающей значимости [2]. Тяжелые металлы в результате биоаккумуляции и способности взаимодействовать с различными ферментами и биомолекулами изменяют множество физиологических процессов в организме человека. В настоящее время отмечается, что токсичность тяжелых металлов связана с развитием очень многих заболеваний [3–6].

В литературе последних лет имеются работы, в которых отмечается связь между содержанием тяжелых металлов и развитием гематологических нарушений как у людей, так и в экспериментальных исследованиях на животных [7–9]. Педиатры указывают на наличие отрицательной связи между концентрацией свинца и гемоглобином [10], а также между содержанием свинца и количеством эритроцитов, средним уровнем гемоглобина в эритроцитах и количеством тромбоцитов [11] у детей. Другие исследователи отмечают отрицательную корреляцию между уров-

INTRODUCTION

Environmental heavy metals pollution affects human health adversely and draws attention to it worldwide. The World Health Organization has already long considered heavy metals as the most dangerous toxicants [1], and in general, metal toxicity from different sources is a growing challenge [2]. Because of bioaccumulation and the ability to interact with different enzymes and biomolecules, the heavy metals interfere with a lot of physiologic processes in the human body. Currently, it is considered that heavy metal toxicity is associated with the development of a number of diseases [3–6].

In the literature of recent years, there are works showing the relationship between heavy metal content and hematological disorders both in humans and experimental animals [7–9]. Pediatricians point to the negative correlation between lead concentration and hemoglobin [10], as well as between lead concentration and erythrocyte count, mean corpuscular hemoglobin and platelet count [11] in children. Other authors note the negative correlation between the hair mercury level in adolescents and hemoglobin concentration [12].

Currently, it is known that atherosclerosis and its consequences are the pathological basis for a number of cardiovascular and cerebrovascular diseases, the prevalence of which is growing yearly [13, 14]. An analysis of the literature of recent years shows that

нем ртути в волосах у подростков и концентрацией гемоглобина [12].

Сегодня четко установлено, что атеросклероз и его последствия являются патологической основой множества сердечно-сосудистых и цереброваскулярных заболеваний, распространенность которых в мире увеличивается из года в год [13, 14]. Анализ литературы последних лет показывает, что воздействие тяжелых металлов является важным и недооцененным фактором риска, имеющим отношение к развитию атеросклероза и его последствий [15–17]. Однако данных о гематологических изменениях при атеросклерозе при воздействии тяжелых металлов в литературе обнаружить не удалось, что явилось основанием для проведения настоящей работы.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучение влияния различных тяжелых металлов на гематологические показатели при экспериментальном атеросклерозе.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперименты выполнены на 110 нелинейных белых крысах-самцах, массой 200–230 г. При проведении опытов следовали «Международным рекомендациям по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» (Страсбург 1986). Крысы в период исследований содержались при естественном освещении, получали стандартный пищевой рацион и имели свободный доступ к воде и пище. Данное исследование одобрено Этическим комитетом Азербайджанского медицинского университета.

Животных распределили в 11 групп по 10 крыс в каждой: 1-я группа – интактные животные; 2-я группа – животные с моделированным атеросклерозом; животные с экспериментальным атеросклерозом, подвергавшиеся интоксикации сульфатом кадмия, составили 3, 4 и 5-ю группы; нитратом никеля – 6, 7 и 8-ю группы и нитратом кобальта – 9, 10 и 11-ю группы соответственно. Интоксикация проводилась на 15, 30 и 60-е сутки для каждого металла в отдельности.

Модель атеросклероза создавалась по И.В. Савицкому с соавт. [18], которая основана на мультифакториальной теории развития атеросклероза и его последствий. Крысы получали мерказолил – 25 мг/кг, метилпреднизолон – 0.17 мг/кг и 15% водный раствор этилового спирта в свободном доступе вместо воды на фоне атерогенной диеты (1 % холестерина, 20 % ненасыщенных и 20 % насыщенных жиров) в течение 2 нед. Для подтверждения атеросклеротических

the heavy metal exposure is an important and underestimated risk factor related to the development of atherosclerosis and its consequences [15–17]. However, data on hematological changes in atherosclerosis under exposure to heavy metals could not be found in the literature, which was the reason for carrying out this study.

AIM OF THE RESEARCH

Study of changes in hematological parameters under the long-term exposure to various heavy metals in experimental atherosclerosis.

MATERIALS AND METHODS

The experiments were conducted on 110 outbred male albino rats weighing 200–230 g. The experiments were conducted in compliance with the requirements of the International Guiding Principles for Biomedical Research Involving Animals (Strasbourg, 1986). The animals were kept in standard vivarium conditions with natural light and free access to water and food. This study was approved by the Ethics Committee of the Azerbaijan Medical University.

Animals were divided into 11 groups (10 rats in each group): group 1 – intact rats; group 2 – animals with modeled atherosclerosis; animals with modeled atherosclerosis, which were exposed to cadmium sulfate, made up groups 3, 4 and 5; nickel nitrate – groups 6, 7 and 8; cobalt nitrate – groups 9, 10 and 11, respectively. Heavy metal exposure was performed on the 15th, 30th and 60th days of the experiment. The model of atherosclerosis was created according to Savitsky et al. (2016) [18], based on the multifactorial theory of the development of atherosclerosis and its consequences. The rats received mercazolyl 25 mg/kg, methylprednisolone 0.17 mg/kg and 15% ethanol-water solution in free access instead of water amid atherogenic diet (cholesterol 1%, saturated fats 20% and unsaturated fats 20%) for 2 weeks. To confirm atherosclerotic changes, 2 weeks after, the serum levels of cholesterol, triglycerids, high and low density lipoproteins were measured.

After modeling atherosclerosis, the animals were intoxicated with water-soluble salts of heavy metal at the following doses: cadmium sulfate – 1 mg/kg, nickel nitrate – 2 mg/kg and cobalt nitrate – 2 mg/kg through drinking water. The 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.

изменений через 2 нед определяли уровень общего холестерина, триглицеридов, липопротеидов низкой плотности и липопротеидов высокой плотности в сыворотке крови.

После моделирования атеросклероза животные подвергались интоксикации водорастворимыми солями тяжелых металлов в дозе: сульфат кадмия – 1 мг/кг, нитрат никеля – 2 мг/кг и нитрат кобальта – 2 мг/кг через питьевую воду. Маточный раствор 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.

По окончании эксперимента у животных забирали кровь для гематологического исследования и выводили их из эксперимента с использованием тиопенталового наркоза. Изучение гематологических показателей проведено на автоматическом гематологическом анализаторе RT-7600 (Germany). Определяли количество лейкоцитов (WBC), гранулоцитов (GRA), лимфоцитов (LYM), тромбоцитов (PLT), эритроцитов (RBC), концентрацию гемоглобина (HGB) и среднечелочный гемоглобин (MCH).

Обработку полученных цифровых результатов проводили с помощью программ Microsoft Excel 2010, BioStat 6.0, Statistica 10.0. Групповые показатели были расположены в вариационный ряд, и для каждой группы определяли среднее арифметическое значение (M), его стандартную ошибку (m), также указывалась ширина 95% доверительного интервала (P). По причине превалирования параметров, имевших распределение, отличное от нормального, статистический анализ результатов исследования осуществлялся с использованием непараметрических критериев анализа: две независимые группы сравнивались посредством U-критерия Манна – Уитни. Значение уровня статистической значимости принималось при $p \leq 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Результаты исследования гематологических показателей после интоксикации сульфатом кадмия на фоне экспериментального атеросклероза представлены в табл. 1. Как видно из табл. 1, после моделирования атеросклероза наиболее значительно и достоверно увеличилось количество лейкоцитов – на 76 %, лимфоцитов – на 28 % и тромбоцитов – на 33% по сравнению с интакт-

In the end of the experiment, blood samples were taken from animals followed removing from the experiment under anesthesia with thiopental. Hematological parameters (white blood cells (WBC), granulocytes (GRA), lymphocytes (LYM), platelets (PLT), red blood cells (RBC), hemoglobin and mean corpuscular hemoglobin) were measured using a RT-7600 analyzer (Germany).

The statistical processing of the obtained results was performed using Microsoft Excel 2010, BioStat 6.0, Statistica 10.0. Variable data were arranged in variation series, and the arithmetic mean (M), standard error (m), as well as confidence interval were calculated for each group. Since non-normal distribution prevailed, a statistical analysis was conducted using non-parametric tests: a comparison of two independent groups was carried out using the Mann-Whitney test. The value of statistical significance was assumed to be 0.05.

RESULTS

The resulting hematological parameters after intoxication with cadmium sulfate are presented in Table 1. As can be seen from Table 1, after modeling atherosclerosis, the count of leukocytes, lymphocytes and platelets increased significantly by 76, 28 and 33%, respectively, compared with the intact group. The count of granulocytes and erythrocytes increased insignificantly; however, the decrease in the mean corpuscular hemoglobin was of importance – by 15% compared with the intact group. Such imbalance between the erythrocyte count and hemoglobin concentration indicated relative erythrocytosis associated most likely with an increase in blood viscosity.

The subsequent intoxication with cadmium sulfate changed hematological parameters as follows (Table 1). On the 15th day of intoxication with cadmium sulfate in experimental atherosclerosis, the blood cell count began to increase compared with figures in the group after modeling atherosclerosis. Thus, the leukocyte count in comparison with the intact animals was already significantly lower – by 23%, however, 30% less, than in animals after modeling atherosclerosis. The lymphocyte and granulocyte counts decreased by 16 and 23%, respectively, compared with animals after modeling atherosclerosis. The erythrocyte count on the 15th day of intoxication changed insignificantly; but the concentration of hemoglobin and mean corpuscular hemoglobin content was less than in animals after modeling atherosclerosis by 9 and 11%, respectively, which indicates significant qualitative changes in erythrocytes. At the same time, the platelet count after the start of

Таблица 1. Гематологические показатели крыс при интоксикации сульфатом кадмия на фоне экспериментального атеросклероза ($M \pm m$)**Table 1.** Hematological parameters of rats after intoxication with cadmium sulfate in experimental atherosclerosis ($M \pm m$)

Показатель Parameter	Интakтные Intact rats (n = 10)	После моделирования атеросклероза After modeling atherosclerosis (n = 10)	После интоксикации на фоне атеросклероза, сутки After intoxication amid atherosclerosis, days		
			15-е / 15th (n = 10)	30-е / 30th (n = 10)	60-е / 60th (n = 10)
WBC ($10^9/\text{л}$) WBC ($10^9/\text{l}$)	6.67 ± 0.94	11.74 ± 0.91 $p_1 \leq 0.001$	8.2 ± 0.67 $p_1 \leq 0.001$ $p_2 \leq 0.05$	6.55 ± 0.73 $p_1 -$ $p_2 \leq 0.001$	5.69 ± 0.92 $p_1 \leq 0.02$ $p_2 \leq 0.001$
LYM ($10^9/\text{л}$) LYM ($10^9/\text{l}$)	4.33 ± 0.66	5.55 ± 0.22 $p_1 \leq 0.001$	4.65 ± 0.33 $p_1 -$ $p_2 \leq 0.05$	4.14 ± 0.53 $p_1 -$ $p_2 \leq 0.05$	4.18 ± 0.21 $p_1 -$ $p_2 \leq 0.01$
GRA ($10^9/\text{л}$) GRA ($10^9/\text{l}$)	6.16 ± 0.69	6.83 ± 0.69 $p_1 -$	5.25 ± 1.11 $p_1 \leq 0.05$ $p_2 -$	4.74 ± 0.62 $p_1 \leq 0.001$ $p_2 \leq 0.05$	4.18 ± 0.27 $p_1 \leq 0.001$ $p_2 \leq 0.01$
RBC ($10^{12}/\text{л}$) RBC ($10^{12}/\text{l}$)	5.63 ± 0.67	6.39 ± 0.48 $p_1 \leq 0.05$	6.25 ± 0.45 $p_1 -$ $p_2 -$	5.66 ± 0.49 $p_1 -$ $p_2 -$	5.26 ± 0.5 $p_1 -$ $p_2 \leq 0.05$
HGB (г/л) HGB (g/l)	135.5 ± 10.7	115.4 ± 7.92 $p_1 \leq 0.001$	104.9 ± 5.22 $p_1 \leq 0.001$ $p_2 -$	98 ± 5.01 $p_1 \leq 0.001$ $p_2 -$	95.4 ± 5.38 $p_1 \leq 0.05$ $p_2 \leq 0.05$
MCH (пг) MCH (pg)	29.18 ± 1.7	29.18 ± 2.37 $p_1 -$	26.01 ± 2.66 $p_1 \leq 0.01$ $p_2 -$	21.68 ± 2.08 $p_1 \leq 0.001$ $p_2 \leq 0.05$	20.73 ± 1.13 $p_1 \leq 0.001$ $p_2 \leq 0.01$
PLT ($10^9/\text{л}$) PLT ($10^9/\text{l}$)	336 ± 39.9	446.1 ± 42.4 $p_1 \leq 0.001$	533.4 ± 42.1 $p_1 \leq 0.001$ $p_2 \leq 0.05$	573.1 ± 25.8 $p_1 \leq 0.001$ $p_2 \leq 0.05$	595.9 ± 21.8 $p_1 \leq 0.001$ $p_2 \leq 0.01$

Примечания: WBC – лейкоциты; LYM – лимфоциты; GRA – гранулоциты; RBC – эритроциты; HGB – гемоглобин; MCH – среднеклеточный гемоглобин; PLT – тромбоциты.

p_1 – при сравнении с данными по группе интактных животных; p_2 – при сравнении с данными по группе животных с экспериментальным атеросклерозом.

Notes: WBC – white blood cells; LYM – lymphocytes; GRA – granulocytes; RBC – red blood cells; HGB – hemoglobin; MCH – mean corpuscular hemoglobin; PLT – platelets.

p_1 – in comparison with values of the intact group; p_2 – in comparison with values of the group with experimental atherosclerosis.

ными животными. Количество гранулоцитов, эритроцитов увеличивалось незначительно, однако среднее содержание гемоглобина в эритроцитах было статистически значимо ниже, чем у интактных животных, на 15 %. Подобный дисбаланс между количеством эритроцитов и содержанием гемоглобина после моделирования атеросклероза свидетельствовал об относительном эритроцитозе, связанном, скорее всего, с повышением вязкости крови.

Последующая интоксикация сульфатом кадмия изменяла гематологические показатели следующим образом (см. табл. 1). Через 15 сут после интоксикации сульфатом кадмия на фоне атеросклероза повышенное количество форменных элементов крови по сравнению с данными группы после моделирования атеросклероза начинало уменьшаться. Так, количество лейкоцитов по сравнению с показателями интактных

intoxication continues to increase and was higher by 20% than in the group after modeling atherosclerosis.

The changes with similar trend kept on increasing in subsequent periods. On the 30th day of intoxication with cadmium sulfate, compared to the data of the intact animals with atherosclerosis, the count of leukocytes, lymphocytes and granulocytes increased significantly by 44, 25 and 30%, respectively. The erythrocyte count and hemoglobin concentration decreased by 11 and 15%, respectively, and the mean corpuscular hemoglobin concentration was significantly less already – by 26%. The platelet count in that period was significantly higher than prior to intoxication by 28%.

By the end of the second month of intoxication with cadmium sulfate, there were the most pronounced changes: compared to the data of the intact animals after modeling atherosclerosis, the count of

животных было уже достоверно меньше на 23 %, однако меньше, чем у животных после моделирования атеросклероза, на 30 %. Количество лимфоцитов и гранулоцитов по сравнению с данными в группе после моделирования атеросклероза снизилось на 16 и 23 % соответственно. Количество эритроцитов на 15-е сутки интоксикации изменялось незначительно, однако содержание гемоглобина и среднее содержание гемоглобина в эритроцитах было меньше, чем после моделирования атеросклероза, на 9 и 11 %, что свидетельствовало уже о качественных изменениях в эритроцитах. Однако количество тромбоцитов после начала интоксикации продолжало нарастать и было больше, чем в группе после моделирования атеросклероза, на 20 %.

Изменения подобной направленности продолжали нарастать в последующие сроки исследования. На 30-е сутки интоксикации сульфатом кадмия по сравнению с данными в группе после моделирования атеросклероза достоверно снижалось количество лейкоцитов – на 44 %, лимфоцитов – на 25 %, гранулоцитов – на 30 %. Количество эритроцитов и гемоглобина уменьшалось на 11 и 15 % соответственно, а среднее содержание гемоглобина в эритроцитах было статистически значимо меньше уже на 26 %. Содержание тромбоцитов в указанный срок исследования было достоверно больше, чем до начала интоксикации, на 28 %.

К концу 2-го месяца интоксикации сульфатом кадмия отмечались максимально выраженные изменения: по сравнению с данными группы после моделирования атеросклероза количество лейкоцитов снизилось на 53 %, лимфоцитов – на 25 %, гранулоцитов – на 39 %, эритроцитов – на 17 % соответственно. Содержание гемоглобина и среднего уровня гемоглобина в эритроцитах было снижено уже на 17 и 29 %. Количество тромбоцитов было больше на 33 %.

Результаты исследования гематологических показателей после интоксикации нитратом никеля на фоне экспериментального атеросклероза представлены в табл. 2. Через 15 сут после интоксикации количество лейкоцитов было достоверно меньше на 35 % по сравнению с показателями группы после моделирования атеросклероза, т.е. до начала интоксикации. Количество лимфоцитов и гранулоцитов уменьшилось на 15 и 20 %. Количество эритроцитов и гемоглобина через 15 сут после интоксикации изменялось незначительно, однако среднее содержание гемоглобина в эритроцитах было меньше, чем после моделирования атеросклероза, на 15 %.

leukocytes, lymphocytes, granulocytes and erythrocytes decreased by 53, 25, 39 and 17%, respectively. The concentration of hemoglobin and mean corpuscular hemoglobin was already less by 17 and 29%. The platelet count was higher by 33%.

The obtained results of hematological tests after intoxication with nickel nitrate in animals with induced atherosclerosis are presented in Table 2. On the 15th day of intoxication, the leukocyte count was significantly less – by 35%, compared with the parameters of the group after modeling atherosclerosis, i.e. prior to the intoxication. The count of lymphocytes and granulocytes was less by 15 and 20%, respectively. The erythrocyte count and hemoglobin concentration on the 15th day of intoxication changed insignificantly, however, the mean corpuscular hemoglobin concentration was 15% less in comparison with animals after modeling atherosclerosis. The platelet count on the 15th day of intoxication was higher by 19% than before the exposure.

During the later time points of the experiment after intoxication with nickel nitrate in experimental atherosclerosis, in the same manner as in intoxication with cadmium sulfate, hematological changes kept on increasing. For example, on the 30th and 60th days of intoxication, in comparison with the parameters of the intact group with atherosclerosis, the count of leukocytes, lymphocytes and granulocytes decreased significantly by 48 and 50%, 21 and 24%, and 28 and 35%, respectively. The erythrocyte count, as well as the hemoglobin concentration, decreased on average by 10%, and on the 60th day – by 24 and 26%, respectively. The mean corpuscular hemoglobin concentration in the abovementioned time points was already significantly less by 24 and 26%, respectively. The platelet count on the 30th and 60th days of intoxication was significantly higher by 28 and 31% compared with the data of the group after modeling atherosclerosis.

Intoxication with cobalt nitrate amid experimental atherosclerosis has shown the following changes in hematological parameters (Table 3). On the 15th day of intoxication in atherosclerosis the 17% decrease in the leukocyte count was recorded, however, the lymphocyte and erythrocyte count, as well as the concentration of hemoglobin and mean corpuscular hemoglobin increased insignificantly compared to the data of the intact group with atherosclerosis. On the 15th day of intoxication, the platelet count was 20% higher than prior to intoxication. In the subsequent periods of the study, hematological parameters began to decrease, and on the 60th day,

Таблица 2. Гематологические показатели крыс после интоксикации нитратом никеля на фоне экспериментального атеросклероза ($M \pm m$)**Table 2.** Hematological parameters of rats after intoxication with nickel nitrate in experimental atherosclerosis ($M \pm m$)

Показатель Parameter	Интактные Intact rats ($n = 10$)	После моделирования атеросклероза After modeling atherosclerosis ($n = 10$)	После интоксикации на фоне атеросклероза, сутки After intoxication amid atherosclerosis, days		
			15-е / 15th ($n = 10$)	30-е / 30th ($n = 10$)	60-е / 60th ($n = 10$)
WBC ($10^9/\text{л}$) WBC ($10^9/\text{l}$)	6.67 ± 0.94	11.74 ± 0.91 $p_1 \leq 0.001$	7.55 ± 0.64 $p_1 \leq 0.05$ $p_2 \leq 0.001$	6.15 ± 0.59 $p_1 -$ $p_2 \leq 0.001$	5.87 ± 0.63 $p_1 \leq 0.05$ $p_2 \leq 0.001$
LYM ($10^9/\text{л}$) LYM ($10^9/\text{l}$)	4.33 ± 0.66	5.55 ± 0.22 $p_1 \leq 0.001$	4.69 ± 0.34 $p_1 \leq 0.05$ $p_2 -$	4.36 ± 0.48 $p_1 -$ $p_2 \leq 0.05$	4.22 ± 0.18 $p_1 -$ $p_2 \leq 0.05$
GRA ($10^9/\text{л}$) GRA ($10^9/\text{l}$)	6.16 ± 0.69	6.83 ± 0.69 $p_1 -$	5.46 ± 0.95 $p_1 \leq 0.05$ $p_2 \leq 0.05$	4.87 ± 0.52 $p_1 \leq 0.001$ $p_2 \leq 0.001$	4.45 ± 0.23 $p_1 \leq 0.001$ $p_2 \leq 0.001$
RBC ($10^{12}/\text{л}$) RBC ($10^{12}/\text{l}$)	5.63 ± 0.67	6.38 ± 0.48 $p_1 \leq 0.05$	6.1 ± 0.59 $p_1 -$ $p_2 -$	5.77 ± 0.41 $p_1 -$ $p_2 -$	5.18 ± 0.32 $p_1 -$ $p_2 -$
HGB (г/л) HGB (g/l)	135.5 ± 10.7	115.4 ± 7.9 $p_1 \leq 0.001$	110.4 ± 5.2 $p_1 \leq 0.001$ $p_2 -$	104.3 ± 6.6 $p_1 \leq 0.001$ $p_2 -$	98.4 ± 2.8 $p_1 \leq 0.001$ $p_2 \leq 0.05$
MCH (пг) MCH (pg)	29.18 ± 1.7	29.18 ± 2.37 $p_1 -$	24.8 ± 2.17 $p_1 \leq 0.001$ $p_2 \leq 0.05$	22.29 ± 2.05 $p_1 \leq 0.001$ $p_2 \leq 0.001$	21.42 ± 1.65 $p_1 \leq 0.001$ $p_2 \leq 0.001$
PLT ($10^9/\text{л}$) PLT ($10^9/\text{l}$)	336 ± 39.9	446.1 ± 42.4 $p_1 \leq 0.001$	531 ± 50.7 $p_1 \leq 0.001$ $p_2 \leq 0.05$	569.8 ± 27.6 $p_1 \leq 0.001$ $p_2 \leq 0.001$	588.2 ± 21.7 $p_1 \leq 0.001$ $p_2 \leq 0.001$

Примечания: WBC – лейкоциты; LYM – лимфоциты; GRA – гранулоциты; RBC – эритроциты; HGB – гемоглобин; MCH – среднеклеточный гемоглобин; PLT – тромбоциты.

p_1 – при сравнении с данными по группе интактных животных; p_2 – при сравнении с данными по группе животных с экспериментальным атеросклерозом.

Notes: WBC – white blood cells; LYM – lymphocytes; GRA – granulocytes; RBC – red blood cells; HGB – hemoglobin; MCH – mean corpuscular hemoglobin; PLT – platelets.

p_1 – in comparison with values of the intact group; p_2 – in comparison with values of the group with experimental atherosclerosis.

Число тромбоцитов на 15-е сутки после интоксикации превышало данные до начала интоксикации на 19 %.

В последующие сроки исследования после интоксикации нитратом никеля на фоне экспериментального атеросклероза так же, как и при интоксикации сульфатом кадмия, гематологические нарушения продолжали нарастать. Так, на 30 и 60-е сутки исследования по сравнению с данными группы после моделирования атеросклероза количество лейкоцитов достоверно уменьшалось на 48 и 50 %, лимфоцитов – на 21 и 24 %, гранулоцитов – на 28 и 35 % соответственно. Количество эритроцитов, как и содержание гемоглобина, на 30-е сутки интоксикации снижалось в среднем на 10 %, а спустя 60 сут – на 19 и 15 % соответственно. Среднее содержание гемоглобина в эритроцитах в отмеченные сроки исследования после интоксикации было статистически значимо меньше уже на 24 и 26 % соответственно.

the most pronounced changes were recorded. Thus, the counts of leukocytes, lymphocytes, granulocytes and erythrocytes showed a statistically significant decrease by 40, 26, 21 and 16%, respectively, compared with the intact group after modeling atherosclerosis. The concentration of hemoglobin and mean corpuscular hemoglobin decreased already by 11 and 25%, respectively. The platelet count was significantly higher – by 33%, compared to the data before the exposure started.

DISCUSSION

The results of our experiments showing the changes in hematological parameters after intoxication with cadmium sulfate, nickel nitrate and cobalt nitrate meet the literature data on toxic effect of heavy metals on hematological parameters as much as in healthy people and experimental animals. Thus, in the experiments on rats, it was shown that intoxi-

Таблица 3. Гематологические показатели крыс при интоксикации нитратом кобальта на фоне экспериментального атеросклероза ($M \pm m$)**Table 3.** Hematological parameters of rats after intoxication with cobalt nitrate amid experimental atherosclerosis ($M \pm m$)

Показатель Parameter	Интактные Intact rats ($n = 10$)	После моделирования атеросклероза After modeling atherosclerosis ($n = 10$)	После интоксикации на фоне атеросклероза, сутки After intoxication amid atherosclerosis, days		
			15-е / 15th ($n = 10$)	30-е / 30th ($n = 10$)	60-е / 60th ($n = 10$)
WBC ($10^9/\text{л}$) WBC ($10^9/\text{l}$)	6.67 ± 0.94	11.74 ± 0.91 $p_1 \leq 0.001$	9.73 ± 0.7 $p_1 \leq 0.001$ $p_2 -$	7.89 ± 0.59 $p_1 \leq 0.05$ $p_2 \leq 0.05$	6.69 ± 0.67 $p_1 -$ $p_2 \leq 0.001$
LYM ($10^9/\text{л}$) LYM ($10^9/\text{l}$)	4.33 ± 0.66	5.55 ± 0.22 $p_1 \leq 0.001$	5.24 ± 0.64 $p_1 \leq 0.01$ $p_2 -$	4.71 ± 0.45 $p_1 -$ $p_2 -$	4.11 ± 0.33 $p_1 -$ $p_2 \leq 0.05$
GRA ($10^9/\text{л}$) GRA ($10^9/\text{l}$)	6.16 ± 0.69	6.83 ± 0.69 $p_1 \leq 0.05$	7.2 ± 1.53 $p_1 -$ $p_2 -$	6.28 ± 1.19 $p_1 -$ $p_2 -$	5.41 ± 0.59 $p_1 \leq 0.05$ $p_2 \leq 0.05$
RBC ($10^{12}/\text{л}$) RBC ($10^{12}/\text{l}$)	5.63 ± 0.67	6.38 ± 0.48 $p_1 \leq 0.05$	6.09 ± 0.65 $p_1 -$ $p_2 -$	5.55 ± 0.46 $p_1 -$ $p_2 -$	5.34 ± 0.44 $p_1 -$ $p_2 -$
HGB (г/л) HGB (g/l)	135.5 ± 10.74	115.4 ± 7.92 $p_1 \leq 0.001$	111.8 ± 6.73 $p_1 \leq 0.001$ $p_2 -$	106.9 ± 8.59 $p_1 \leq 0.001$ $p_2 -$	102.6 ± 5.9 $p_1 \leq 0.001$ $p_2 -$
MCH (пг) MCH (pg)	29.18 ± 1.69	29.18 ± 2.37 $p_1 -$	27.06 ± 2.46 $p_1 \leq 0.05$ $p_2 -$	23.44 ± 2.02 $p_1 \leq 0.001$ $p_2 \leq 0.05$	21.95 ± 1.74 $p_1 \leq 0.001$ $p_2 \leq 0.001$
PLT ($10^9/\text{л}$) PLT ($10^9/\text{l}$)	335.2 ± 40.8	432.1 ± 44.3 $p_1 \leq 0.001$	523.6 ± 20.3 $p_1 \leq 0.001$ $p_2 \leq 0.05$	523.5 ± 18.9 $p_1 \leq 0.001$ $p_2 \leq 0.05$	576.1 ± 23.1 $p_1 \leq 0.001$ $p_2 \leq 0.001$

Примечания: WBC – лейкоциты; LYM – лимфоциты; GRA – гранулоциты; RBC – эритроциты; HGB – гемоглобин; MCH – среднечелочный гемоглобин; PLT – тромбоциты.

p_1 – при сравнении с данными по группе интактных животных; p_2 – при сравнении с данными по группе животных с экспериментальным атеросклерозом.

Notes: WBC – white blood cells; LYM – lymphocytes; GRA – granulocytes; RBC – red blood cells; HGB – hemoglobin; MCH – mean corpuscular hemoglobin; PLT – platelets.

p_1 – in comparison with values of the intact group; p_2 – in comparison with values of the group with experimental atherosclerosis.

Количество тромбоцитов спустя 30 и 60 сут после интоксикации было достоверно больше на 28 и 31 % соответственно в сравнении с данными группы после моделирования атеросклероза.

Интоксикация нитратом кобальта после моделирования атеросклероза показала следующие изменения гематологических показателей (табл. 3). Через 15 сут после интоксикации на фоне атеросклероза отмечалось достоверное снижение количества лейкоцитов на 17 %, однако количество лимфоцитов, эритроцитов, а также гемоглобина и среднего содержания гемоглобина в эритроцитах уменьшилось незначительно по сравнению с данными группы после моделирования атеросклероза. Количество тромбоцитов при этом сроке исследования было на 20 % больше, чем до начала интоксикации. В последующие сроки исследования количество форменных элементов крови начинало снижаться, и на 60-е сутки отмечались более выраженные изме-

cation with lead, cadmium and copper [19, 20] cause changes in hematological parameters, namely a decrease in the count of various blood cells, as well as hemoglobin concentration.

It is known that bioaccumulation of heavy metals (prone to covalent binding, which allows them to exhibit their toxic properties) have a systemic effect on human body [21] and lead to toxic effect on different tissues and organs. Meanwhile, the common mechanism in toxic effect of heavy metals is the formation of reactive oxygen species, weakening of antioxidant defense, inactivation of enzymes and oxidative stress [22, 23]. On exposure to toxic metals, organ dysfunction, metabolic disorders, hormonal imbalance, immune system dysfunction occur, up to the development of malignancies [24].

It is known that heavy metals have a tendency to accumulate in various tissues, including blood and bones (for example, in chronic cadmium [25] and lead [26] poisoning). At the same time, accumulation

нения. Так, статистически значимо снизилось количество лейкоцитов – на 40 %, лимфоцитов – на 26 %, гранулоцитов – на 21%, эритроцитов – на 16 % соответственно в сравнении с данными в группе после моделирования атеросклероза. Содержание гемоглобина и среднее содержание гемоглобина в эритроцитах было снижено уже на 11 и 25 % соответственно. Количество тромбоцитов было достоверно больше на 33 % в сравнении с данными до начала интоксикации.

ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные нами данные по изменению гематологического статуса после интоксикации кадмием, никелем и кобальтом на фоне экспериментального атеросклероза согласуются с литературными данными последних лет о токсическом действии тяжелых металлов на гематологические показатели даже у здоровых людей и экспериментальных животных. Так, в экспериментальных работах на крысах отмечается, что при интоксикации свинцом, кадмием и медью [19, 20] происходят гематологические изменения, выражающиеся в основном в снижении количества тех или иных форменных элементов крови, а также гемоглобина.

Известно, что бионакопление тяжелых металлов (склонных образовывать ковалентные связи, что позволяет им проявлять токсические свойства) оказывает системное воздействие на организм человека [21] и приводит к различному токсическому воздействию на различные ткани и органы организма. При этом общим механизмом токсического действия тяжелых металлов является генерация активных форм кислорода, ослабление антиоксидантной защиты, инактивация ферментов и окислительный стресс [22, 23]. При воздействии токсичных металлов возникают дисфункция органов, нарушения обмена веществ, гормональный дисбаланс, нарушение функции иммунной системы, вплоть до развития злокачественных новообразований [24].

Известно, что тяжелые металлы имеют тенденцию накапливаться в различных тканях, включая кровь и кости – например, при хроническом отравлении кадмием [25], свинцом [26]. При этом происходит накопление тяжелых металлов в почках и костном мозге, что также является патогенетическим звеном нарушения процесса кроветворения и отражается на гематологическом статусе.

Учитывая вышеуказанные патологические сдвиги, происходящие под воздействием тяжелых металлов, можно объяснить токсическое

of heavy metals in kidneys and bone marrow takes place, which is also a component of pathogenic mechanism in the impairment of hematopoiesis and affects hematologic profile.

Taking into account the abovementioned pathological changes in hematological parameters caused by an exposure to heavy metals, we can explain the toxic effect of the studied heavy metals on hematological parameters in experimental atherosclerosis.

Besides, it was shown that an excess of essential metals, such as copper, leads to destruction of erythrocytes [27] and kidney tissue fibrosis, while iron [29] and cobalt [30] excess is associated with increased susceptibility to cardiovascular diseases. The obtained data on toxic effect of essential element cobalt on hematological parameters in experimental atherosclerosis are consistent with the above findings.

Thus, changes in hematological parameters after intoxication with one or another heavy metal occur also in experimental atherosclerosis and necessitate the development of preventive and effective treatment of hematological disorders in chronic heavy metal poisoning, especially in older patients with atherosclerotic damage of vessels.

CONCLUSION

The study results showed that after modeling atherosclerosis, there were changes in hematological parameters expressed mainly in an increase in the counts of leukocytes, lymphocytes, granulocytes and platelets. The subsequent chronic intoxication with salts of various heavy metal was accompanied with a gradual decrease in almost all blood cells, except for platelets.

The maximal changes were observed by the end of the second month of intoxication, certain quantitative changes in particular hematological parameters were recorded. A directly proportional dependence between the level of hematological disturbances and duration of heavy metal exposure was noted. The most pronounced hematological changes were found by the end of 60th day of intoxication.

According to the degree of severity of changes in hematologic parameters, the studied metals can be arranged in descending order: cadmium sulfate → nickel nitrate → cobalt nitrate. The presence of hematological disorders during long-term exposure to heavy metals necessitates to take these disorders into account in the comprehensive treatment of heavy metal poisoning, especially in older patients with atherosclerotic vascular damage.

влияние изученных нами тяжелых металлов на гематологические параметры при экспериментальном атеросклерозе.

Кроме того, имеются литературные данные о том, что избыток необходимых металлов, таких как медь, приводит к разрушению эритроцитов [27] и фиброзу почечной ткани [28], а избыток железа [29] и кобальта [30] связаны с повышенной восприимчивостью к сердечно-сосудистым заболеваниям. Полученные нами данные о токсическом действии эссенциального элемента кобальта при экспериментальном атеросклерозе на гематологические показатели согласуются с приведенными выше сведениями.

Таким образом, изменения гематологических показателей при хронической интоксикации тем или иным тяжелым металлом вследствие их токсического воздействия возникают также и при экспериментальном атеросклерозе и диктуют необходимость разработки профилактического и эффективного лечения гематологических нарушений в клинике хронических отравлений тяжелыми металлами, в особенности у пациентов с атеросклеротическими повреждениями сосудов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты проведенных исследований показали, что после моделирования атеросклероза

отмечались изменения гематологических показателей, выражавшиеся в основном в повышении количества лейкоцитов, лимфоцитов, гранулоцитов и тромбоцитов. Последующая хроническая интоксикация солями различных тяжелых металлов сопровождалась постепенным снижением количества почти всех форменных элементов крови, за исключением тромбоцитов.

Максимальные сдвиги наблюдались к концу 2-го месяца интоксикации, имелись лишь определенные количественные отличия тех или иных гематологических показателей. Отмечалась прямо пропорциональная зависимость между уровнем гематологических нарушений и продолжительностью воздействия тяжелых металлов. Максимальные нарушения наблюдались к концу 60-х суток интоксикации.

По степени выраженности изменений гематологических показателей в убывающем порядке изученные металлы можно расположить в ряд: сульфат кадмия → нитрат никеля → нитрат кобальта. Наличие гематологических нарушений при хронической интоксикации тяжелыми металлами на фоне экспериментального атеросклероза диктует необходимость учета данных нарушений в комплексном лечении отравлений тяжелыми металлами, особенно в старших возрастных группах пациентов, имеющих атеросклеротические повреждения сосудов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Риски для здоровья от воздействия тяжелых металлов в результате трансграничного загрязнения воздуха на большие расстояния (2007). ВОЗ. URL: <https://who-sandbox.squid.cloud/ru/publications/abstracts/health-risks-of-heavy-metals-from-long-range-transboundary-air-pollution-2007> (дата обращения: 19.09.2024).
2. Jaishankar M., Mathew B.B., Shah M.S. et al. Biosorption of few heavy metal ions using agricultural wastes // *J. Environ. Pollut. Hum. Health*. 2014;2(1):1-6. DOI: 10.12691/jephh-2-1-1.
3. Vennam S., Georgoulas S., Khawaja A. et al. Heavy metal toxicity and the aetiology of glaucoma // *Eye (Lond)*. 2020;34(1):129-137. DOI: 10.1038/s41433-019-0672-z.
4. Sadighara P., Abedini A.H., Irshad N. et al. Association between non-alcoholic fatty liver disease and heavy metal exposure: a systematic review // *Biol. Trace Elem. Res.* 2023;201(12):5607-5615. DOI: 10.1007/s12011-023-03629-9.
5. Renu K., Chakraborty R., Myakala H. et al. Molecular mechanism of heavy metals (Lead, Chromium, Arsenic, Mercury, Nickel and Cadmium)-induced hepatotoxicity – A review // *Chemosphere*. 2021;271:129735. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2021.129735.

REFERENCES

1. Health risks of heavy metals from long-range transboundary air pollution (2007). WHO. URL: <https://who-sandbox.squid.cloud/ru/publications/abstracts/health-risks-of-heavy-metals-from-long-range-transboundary-air-pollution-2007> (accessed 19.09.2024)
2. Jaishankar M., Mathew B.B., Shah M.S. et al. Biosorption of few heavy metal ions using agricultural wastes. *J. Environ. Pollut. Hum. Health*. 2014;2(1):1-6. DOI: 10.12691/jephh-2-1-1.
3. Vennam S., Georgoulas S., Khawaja A. et al. Heavy metal toxicity and the aetiology of glaucoma. *Eye (Lond)*. 2020;34(1):129-137. DOI: 10.1038/s41433-019-0672-z.
4. Sadighara P., Abedini A.H., Irshad N. et al. Association between non-alcoholic fatty Liver disease and heavy metal exposure: a systematic review. *Biol. Trace Elem. Res.* 2023;201(12):5607-5615. DOI: 10.1007/s12011-023-03629-9.
5. Renu K., Chakraborty R., Myakala H. et al. Molecular mechanism of heavy metals (Lead, Chromium, Arsenic, Mercury, Nickel and Cadmium)-induced hepatotoxicity – A review. *Chemosphere*. 2021;271:129735. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2021.129735.
6. Wen W.L., Wang C.W., Wu D.W. et al. Associations of heavy metals with metabolic syndrome and anthro-

6. Wen W.L., Wang C.W., Wu D.W. et al. Associations of heavy metals with metabolic syndrome and anthropometric indices // *Nutrients*. 2020;12(9):2666. DOI: 10.3390/nu12092666.
7. Bot Y.S., Sugun W.Y., Bot D.Y., Bala N.Y. Chronic heavy metal exposure causes alterations in hemopoieses, hematological indices and liver biomarkers among artisans and petrol attendants in Jos, Nigeria // *Acta Scientific Gastrointestinal Disorders*. 2022;5(5):74-80.
8. Soltani N., Sadeghi T., Mahmoodi M.R. et al. The biotoxic effects of heavy metals exposure in miners and non-miners // *J. Trace Elem. Med. Biol.* 24:84:127423. DOI: 10.1016/j.jtemb.2024.127423.
9. Raeeszadeh M., Karimi P., Khademi N., Mortazavi P. The effect of broccoli extract in arsenic-induced experimental poisoning on the hematological, biochemical, and electrophoretic parameters of the liver and kidney of rats // *Evid. Based Complement. Alternat. Med.* 2022;2022:3509706. DOI: 10.1155/2022/3509706.
10. Capitão C., Martins R., Santos O. et al. Exposure to heavy metals and red blood cell parameters in children: A systematic review of observational studies // *Front. Pediatr.* 2022;10:921239. DOI: 10.3389/fped.2022.921239.
11. Li C., Ni Z.M., Ye L.X. et al. Dose-response relationship between blood lead levels and hematological parameters in children from central China // *Environ. Res.* 2018;164:501-506. DOI: 10.1016/j.envres.2018.03.018.
12. Manjarres-Suarez A., Olivero-Verbel J. Hematological parameters and hair mercury levels in adolescents from the Colombian Caribbean // *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* 2020;27(12):14216-14227. DOI: 10.1007/s11356-020-07738-z.
13. Kobiyama K., Ley K. Atherosclerosis // *Circ. Res.* 2018;123(10):1118-1120. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.118.313816.
14. Buldak 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.
15. Tinkov A., Filippini T., Ajsuvakova O. 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.
16. Pan Z., Gong T., Liang P. Heavy metal exposure and cardiovascular disease // *Circ. Res.* 2024;134(9):1160-1178. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.123.323617.
17. Patwa J., Flora S.J.S. Heavy metal-induced cerebral small vessel disease: insights into molecular mechanisms and possible reversal strategies // *Int. J. Mol. Sci.* 2020;21(11):3862-3872. DOI: 10.3390/ijms21113862.
18. Савицкий И.В., Слюсарь А.А., Мясковская И.В. Мультифакторное моделирование атеросклероза на крысах // *Журнал образования, здоровья и спорта*. 2016;6(3):233-240. DOI: 10.5281/zenodo.55402.
19. Nikolić R., Krstić N., Radosavljević-Stevanović N. Monitoring the toxic effects of Pb, Cd and Cu on hematological parameters of Wistar rats and potential protective role of lipoic acid and glutathione // *Toxicol. Ind. Health.* 2015;31(3):239-246. DOI: 10.1177/0748233712469652.
20. Nakhaee S., Amirabadizadeh A., Brent J., Mehrpour O. Impact of chronic lead exposure on liver and kidney function and haematologic parameters. *Basic* pometric indices. *Nutrients*. 2020;12(9):2666. DOI: 10.3390/nu12092666.
7. Bot Y.S., Sugun W.Y., Bot D.Y., Bala N.Y. Chronic heavy metal exposure causes alterations in hemopoieses, hematological indices and liver biomarkers among artisans and petrol attendants in Jos, Nigeria. *Acta Scientific Gastrointestinal Disorders*. 2022;5(5):74-80.
8. Soltani N., Sadeghi T., Mahmoodi M.R. et al. The biotoxic effects of heavy metals exposure in miners and non-miners. *J. Trace Elem. Med. Biol.* 24:84:127423. DOI: 10.1016/j.jtemb.2024.127423.
9. Raeeszadeh M., Karimi P., Khademi N., Mortazavi P. The effect of broccoli extract in arsenic-induced experimental poisoning on the hematological, biochemical, and electrophoretic parameters of the liver and kidney of rats. *Evid. Based Complement. Alternat. Med.* 2022;2022:3509706. DOI: 10.1155/2022/3509706.
10. Capitão C., Martins R., Santos O. et al. Exposure to heavy metals and red blood cell parameters in children: A systematic review of observational studies. *Front. Pediatr.* 2022;10:921239. DOI: 10.3389/fped.2022.921239.
11. Li C., Ni Z.M., Ye L.X. et al. Dose-response relationship between blood lead levels and hematological parameters in children from central China. *Environ. Res.* 2018;164:501-506. DOI: 10.1016/j.envres.2018.03.018.
12. Manjarres-Suarez A., Olivero-Verbel J. Hematological parameters and hair mercury levels in adolescents from the Colombian Caribbean. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* 2020;27(12):14216-14227. DOI: 10.1007/s11356-020-07738-z.
13. Kobiyama K., Ley K. Atherosclerosis. *Circ. Res.* 2018;123(10):1118-1120. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.118.313816.
14. Buldak 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.
15. Tinkov A., Filippini T., Ajsuvakova O. 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.
16. Pan Z., Gong T., Liang P. Heavy metal exposure and cardiovascular disease. *Circ. Res.* 2024;134(9):1160-1178. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.123.323617.
17. Patwa J., Flora S.J.S. Heavy metal-induced cerebral small vessel disease: insights into molecular mechanisms and possible reversal strategies. *Int. J. Mol. Sci.* 2020;21(11):3862-3872. DOI: 10.3390/ijms21113862.
18. Savitskiy I.V., Sliusar A.A., Miastkovskaja I.V. Multifactorial modeling of atherosclerosis in rats. *Journal of Education, Health and Sport*. 2016;6(3):233-240. DOI: 10.5281/zenodo.55402.
19. Nikolić R., Krstić N., Radosavljević-Stevanović N. Monitoring the toxic effects of Pb, Cd and Cu on hematological parameters of Wistar rats and potential protective role of lipoic acid and glutathione. *Toxicol. Ind. Health.* 2015;31(3):239-246. DOI: 10.1177/0748233712469652.
20. Nakhaee S., Amirabadizadeh A., Brent J., Mehrpour O. Impact of chronic lead exposure on liver and kidney function and haematologic parameters. *Basic*

20. Nakhaee S., Amirabadizadeh A., Brent J., Mehrpour O. Impact of chronic lead exposure on liver and kidney function and haematologic parameters // *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.* 2018;124(5):621-628. DOI: 10.1111/bcpt.13179.
21. Parida L., Patel T.N. Systemic impact of heavy metals and their role in cancer development: a review // *Environ. Monit. Assess.* 2023;195(6):766. DOI: 10.1007/s10661-023-11399-z.
22. Ercal N., Gurer-Orhan H., Aykin-Burns N. Toxic metals and oxidative stress part I: mechanisms involved in metal-induced oxidative damage // *Curr. Top. Med. Chem.* 2001;1(6):529-539. DOI: 10.2174/1568026013394831.
23. Balali-Mood M., Naseri K., Tahergorabi Z. et al. Toxic mechanisms of five heavy metals: mercury, lead, chromium, cadmium, and arsenic // *Front. Pharmacol.* 2021;12:643972. DOI: 10.3389/fphar.2021.643972.
24. Deng Y., Wang M., Tian T. et al. The effect of hexavalent chromium on the incidence and mortality of human cancers: A meta-analysis based on published epidemiological cohort studies // *Front. Oncol.* 2019;9:24. DOI: 10.3389/fonc.2019.00024.
25. Yan L.J., Allen D.C. Cadmium-induced kidney injury: oxidative damage as a unifying mechanism // *Biomolecules.* 2021;11(11):1575. DOI: 10.3390/biom11111575.
26. Charkiewicz A.E., Backstrand J.R. Lead toxicity and pollution in Poland // *Int. J. Environ. Res. Public Health.* 2020;17(12):4385. DOI: 10.3390/ijerph17124385.
27. Pourahmad J., Salami M., Zarei M.H. Comparative toxic effect of bulk copper oxide (CuO) and CuO nanoparticles on human red blood cells // *Biol. Trace Elem. Res.* 2023;201(1):149-155. DOI: 10.1007/s12011-022-03149-y.
28. Niu Y., Zhang Y.Y., Zhu Z. et al. Elevated intracellular copper contributes a unique role to kidney fibrosis by lysyl oxidase mediated matrix crosslinking // *Cell Death Dis.* 2020;11(3):211. DOI: 10.1038/s41419-020-2404-5.
29. Quezada-Pinedo H.G., Cassel F., Duijts L. et al. Maternal iron status in pregnancy and child health outcomes after birth: A systematic review and meta-analysis // *Nutrients.* 2021;13(7):2221. DOI: 10.3390/nu13072221.
30. Linna A., Uitti J., Oksa P. et al. Effects of occupational cobalt exposure on the heart in the production of cobalt and cobalt compounds: A 6-year follow-up // *Int. Arch. Occup. Environ. Health.* 2020;93(3):365-374. DOI: 10.1007/s00420-019-01488-3.
- Clin. Pharmacol. Toxicol.* 2018;124(5):621-628. DOI: 10.1111/bcpt.13179.
21. Parida L., Patel T.N.. Systemic impact of heavy metals and their role in cancer development: a review. *Environ. Monit. Assess.* 2023;195(6):766. DOI: 10.1007/s10661-023-11399-z.
22. Ercal N., Gurer-Orhan H., Aykin-Burns N. Toxic metals and oxidative stress part I: mechanisms involved in metal-induced oxidative damage. *Curr. Top. Med. Chem.* 2001;1(6):529-539. DOI: 10.2174/1568026013394831.
23. Balali-Mood M., Naseri K., Tahergorabi Z. et al. Toxic mechanisms of five heavy metals: mercury, lead, chromium, cadmium, and arsenic. *Front. Pharmacol.* 2021;12:643972. DOI: 10.3389/fphar.2021.643972.
24. Deng Y., Wang M., Tian T. et al. The effect of hexavalent chromium on the incidence and mortality of human cancers: A meta-analysis based on published epidemiological cohort studies. *Front. Oncol.* 2019;9:24. DOI: 10.3389/fonc.2019.00024.
25. Yan L.J., Allen D.C. Cadmium-induced kidney injury: oxidative damage as a unifying mechanism. *Biomolecules.* 2021;11(11):1575. DOI: 10.3390/biom11111575.
26. Charkiewicz A.E., Backstrand J.R. Lead toxicity and pollution in Poland. *Int. J. Environ. Res. Public Health.* 2020;17(12):4385. DOI: 10.3390/ijerph17124385.
27. Pourahmad J., Salami M., Zarei M.H. Comparative toxic effect of bulk copper oxide (CuO) and CuO nanoparticles on human red blood cells. *Biol. Trace Elem. Res.* 2023;201(1):149-155. DOI: 10.1007/s12011-022-03149-y.
28. Niu Y., Zhang Y.Y., Zhu Z. et al. Elevated intracellular copper contributes a unique role to kidney fibrosis by lysyl oxidase mediated matrix crosslinking. *Cell Death Dis.* 2020;11(3):211. DOI: 10.1038/s41419-020-2404-5.
29. Quezada-Pinedo H.G., Cassel F., Duijts L. et al. Maternal iron status in pregnancy and child health outcomes after birth: A systematic review and meta-analysis. *Nutrients.* 2021;13(7):2221. DOI: 10.3390/nu13072221.
30. Linna A., Uitti J., Oksa P. et al. Effects of occupational cobalt exposure on the heart in the production of cobalt and cobalt compounds: A 6-year follow-Up. *Int. Arch. Occup. Environ. Health.* 2020;93(3):365-374. DOI: 10.1007/s00420-019-01488-3.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРЕ

Ибрагимов Рашад Ибрагим – канд. фармацевт. наук, старший научный сотрудник отдела фармакологии Научно-исследовательский центра Азербайджанского медицинского университета, Баку, Азербайджан.

ABOUT THE AUTHOR

Rashad I. Ibragimov – Cand. Sci. (Pharmaceut.), Senior Researcher, Department of Pharmacology, Scientific Research Center, Azerbaijan Medical University, Baku, Azerbaijan.

Оценка эффективности пробиотиков в коррекции дисбиоза и синдрома эндогенной интоксикации у больных лимфопролиферативными заболеваниями

М.С. Войтко¹, О.В. Сорокин², С.Н. Зинатулин², Н.В. Скворцова¹, А.А. Коротченко¹, А.А. Трубникова¹

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

²ООО «ВедаГенетика», Новосибирск, Россия

АННОТАЦИЯ

В в е д е н и е . В основе развития гастроинтестинальных осложнений химиолучевой терапии у больных гемобластомами лежат дисбиотические процессы, характеризующиеся подавлением нормальной микрофлоры кишечника, активизацией оппортунистических микроорганизмов, высоким риском их транслокации в несвойственные биотопы и эндогенным инфицированием. Еще одним этиологическим фактором развития дисбиоза кишечника у больных гемобластомами является применение антибактериальной терапии (АБТ) на фоне фебрильной нейтропении. Таким образом, актуальность поиска лечебно-профилактических мероприятий для уменьшения количества осложнений со стороны желудочно-кишечного тракта, возникающих на фоне противоопухолевого лечения, не вызывает сомнений. Решением данной проблемы является рациональная АБТ и поддерживающая терапия пробиотиками.

Ц е л ь и с с л е д о в а н и я . Оценить эффективность применения пробиотиков у больных лимфомами в дебюте заболевания с целью коррекции дисбиотических процессов и синдрома эндогенной интоксикации (СЭИ). **М а т е р и а л ы и м е т о д ы .** В проспективное рандомизированное исследование было включено 40 больных лимфомами. Средний возраст пациентов составил 45 (34; 54.5) лет. Распределение больных по полу было следующим: мужчин – 4 (10 %), женщин – 36 (90 %). Среди обследуемых преобладали пациенты с III и IV стадиями заболевания ($n = 26$, 65 %). С целью оценки эффективности пробиотика методом случайной выборки пациенты были разделены на 2 группы: 20 человек, которые, помимо полихимиотерапии (ПХТ), получали перорально пробиотик в сочетании с метабиотиком, и 20 пациентов с лимфомами из группы контроля, которые получали только стандартную терапию. Комплексная оценка состояния микрофлоры кишечника выполнялась методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени. Статистическая обработка данных проводилась с использованием программы IBM SPSS Statistics 26.0.

Р е з у л ь т а т ы . В дебюте заболевания выраженный дефицит общей бактериальной массы наблюдался у 7 (17.5 %) больных, дефицит бифидобактерий – у 29 (72.5 %) пациентов, снижение количества лактобактерий – у 34 (85 %) обследуемых. Анаэробный дисбаланс преобладал у пациентов с агрессивными В-клеточными лимфомами в сравнении с больными, имеющими индолентный вариант опухоли ($\chi^2 = 4.1$, $p = 0.04$). Микробиом, обогащенный *E. coli*, чаще диагностировался у пациентов с локализованным опухолевым процессом в сравнении с обследуемыми с III и IV стадиями заболевания ($\chi^2 = 4.6$, $p = 0.03$). Клинические проявления дисбиоза кишечника в дебюте заболевания характеризовались следующими симптомами: боль в животе ($n = 4$, 10 %), метеоризм ($n = 6$, 15 %), чувство неполного опорожнения кишечника ($n = 2$, 5 %), диарея ($n = 8$, 20 %). У больных, получавших в качестве сопроводительной терапии пробиотики, количество *Bifidobacterium* spp. ($p = 0.000005$), *Lactobacillus* spp. ($p = 0.00007$) и *Faecalibacterium prausnitzii* ($p = 0.003$) было достоверно больше в сравнении с результатами пациентов, которые получали только стандартные курсы ПХТ. Сравнительная оценка медиан концентраций биохимических показателей продемонстрировала, что у больных, получавших пробиотик, концентрация ЛДГ ($p = 0.000001$) и СРБ ($p = 0.04$) была достоверно ниже в сравнении с группой контроля, не получавшей про- и метабиотик. Более выраженные лейкоцитоз ($p = 0.0005$) и ускорение оседания эритроцитов ($p = 0.002$) были отмечены у пациентов из группы контроля. Вместе с тем установлено, что в группе больных, получавших пробиотик до начала противоопухолевого лечения, достоверно реже встречались тошнота ($\chi^2 = 10.9$, $p = 0.0009$), метеоризм ($\chi^2 = 4.3$, $p = 0.03$), диарея ($\chi^2 = 4.2$, $p = 0.04$), ассоциированные с химиотерапией.

Поступила в редакцию 19.08.2024
Прошла рецензирование 20.09.2024
Принята к публикации 29.11.2024

Автор, ответственный за переписку
Войтко Мария Сергеевна: ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России. 630091, г. Новосибирск, Красный просп., 52.
E-mail: voytko.marie@yandex.ru

Received 19.08.2024
Revised 20.09.2024
Accepted 29.11.2024

Corresponding author
Maria S. Voitko: Novosibirsk State Medical University, 52, Krasny prosp., Novosibirsk, 630091, Russia.
E-mail: voytko.marie@yandex.ru

З а к л ю ч е н и е . Дисбиоз кишечника у больных гемобластозами имеет многофакторный характер, обусловленный деструктивными процессами в организме вследствие роста и развития опухоли, нарушением функционального состояния различных органов, массивной антибактериальной терапией и назначением высоких доз цитостатических препаратов. Использование пробиотиков в составе комплексной терапии больных лимфомами позволит существенно уменьшить степень выраженности дисбиоза кишечника и улучшить результаты полихимиотерапии.

Ключевые слова: лимфома, дисбиоз, пробиотик, синдром эндогенной интоксикации, реабилитация, ВетаБиотик.

Образец цитирования: Войтко М.С., Сорокин О.В., Зинатулин С.Н., Скворцова Н.В., Коротченко А.А., Трубникова А.А. Оценка эффективности пробиотиков в коррекции дисбиоза и синдрома эндогенной интоксикации у больных лимфопролиферативными заболеваниями // Journal of Siberian Medical Sciences. 2024;8(4):33-50. DOI: 10.31549/2542-1174-2024-8-4-33-50

Evaluation of probiotics' effectiveness for correction of dysbiosis and endogenous intoxication in patients with lymphoproliferative diseases

M.S. Voitko¹, O.V. Sorokin², S.N. Zinatulin², N.V. Skvortsova¹, A.A. Korotchenko¹, A.A. Trubnikova¹

¹Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia

²VedaGenetika, LLC, Novosibirsk, Russia

ABSTRACT

I n t r o d u c t i o n . The development of gastrointestinal complications of chemoradiotherapy in patients with hematologic malignancies is based on dysbiotic processes characterized by suppression of normal intestinal microflora, activation of opportunistic microorganisms, high risk of their translocation to non-specific biotopes, and endogenous infection. Another etiological factor in the development of intestinal dysbiosis in patients with hematologic malignancies is the use of antibacterial therapy (ABT) amid febrile neutropenia. Thus, the relevance of searching for therapeutic and preventive measures to reduce the number of gastrointestinal complications that arise in antitumor treatment is beyond doubt. The solution to this problem is rational ABT and maintenance therapy with probiotics.

A i m . To evaluate the effectiveness of probiotics in patients with lymphomas at the onset of the disease in order to correct dysbiosis and endogenous intoxication (EI).

M a t e r i a l s a n d m e t h o d s . A total of 40 patients with lymphomas were included in a prospective randomized study. The average age of the patients was 45 (34; 54.5) years. The distribution of patients by gender was as follows: 4 men (10%), 36 women (90%). Among the subjects, patients with stages III and IV of the disease predominated ($n = 26$, 65%). In order to evaluate the efficacy of a probiotic, the patients were randomly divided into 2 groups: 20 people who, in addition to polychemotherapy (PCT), received the probiotic orally in combination with a metabiotic, and 20 patients with lymphomas from the control group who received only conventional therapy. A comprehensive assessment of the state of the intestinal microbiome was performed using real-time polymerase chain reaction. Statistical data processing was performed using IBM SPSS Statistics 26.0 program.

R e s u l t s . At the disease onset, a pronounced deficiency of the total bacterial load was observed in 7 patients (17.5%), a deficiency of bifidobacteria – in 29 patients (72.5%), a decrease in the lactobacilli count – in 34 (85%) patients. An imbalance in anaerobic flora prevailed in patients with aggressive B-cell lymphomas compared to patients with indolent tumor ($\chi^2 = 4.1$, $p = 0.04$). The microbiome with abundance of *E. coli* was more often diagnosed in patients with localized tumors compared to those with stages III and IV of the disease ($\chi^2 = 4.6$, $p = 0.03$). Clinical manifestations of intestinal dysbiosis at the onset of the disease were characterized by the following symptoms: abdominal pain ($n = 4$, 10%), flatulence ($n = 6$, 15%), a feeling of incomplete evacuation ($n = 2$, 5%), diarrhea ($n = 8$, 20%). In patients receiving probiotics as maintenance therapy, the count of *Bifidobacterium* spp. ($p = 0.000005$), *Lactobacillus* spp. ($p = 0.000007$) and *Faecalibacterium prausnitzii* ($p = 0.003$) was significantly higher compared to the results of patients who received only standard courses of polychemotherapy. Comparative assessment of median concentrations of biochemical parameters demonstrated that in patients receiving the probiotic, the concentration of lactate dehydrogenase ($p = 0.000001$) and C-reactive protein ($p = 0.04$) was significantly lower compared to the control group who did not receive pro- and metabiotics. More pronounced leukocytosis ($p = 0.0005$) and accelerated erythrocyte sedimentation ($p = 0.002$) were noted in patients from the control group. At the same time, it was found that in the group of patients who received the probiotic before the start of antitumor treatment, nausea ($\chi^2 = 10.9$, $p = 0.0009$), flatulence ($\chi^2 = 4.3$, $p = 0.03$), and diarrhea ($\chi^2 = 4.2$, $p = 0.04$) associated with chemotherapy were significantly less common.

С o n c l u s i o n . Intestinal dysbiosis in patients with hematologic malignancies has a multifactorial nature, caused by destructive processes in the body due to growth and spread of tumor, disorder of the functional state of various organs, empiric antibacterial therapy and the administration of high doses of cytostatic drugs. The use of probiotics as part of combined therapy for patients with lymphomas will significantly reduce the severity of intestinal dysbiosis and improve polychemotherapy results.

Keywords: lymphoma, dysbiosis, probiotic, endogenous intoxication, rehabilitation, VedaBiotic.

Citation example: Voitko M.S., Sorokin O.V., Zinatulin S.N., Skvortsova N.V., Korotchenko A.A., Trubnikova A.A. Evaluation of probiotics' effectiveness for correction of dysbiosis and endogenous intoxication in patients with lymphoproliferative diseases. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2024;8(4):33-50. DOI: 10.31549/2542-1174-2024-8-4-33-50

ВВЕДЕНИЕ

Достигнутые в последние десятилетия значительные успехи в терапии онкогематологических заболеваний, связанные с внедрением в клиническую практику стандартизированных протоколов комбинированной химиолучевой терапии, новых лекарственных агентов (моноклональных антител, ингибиторов иммунных контрольных точек, ингибиторов тирозинкиназы, иммуномодуляторов) и трансплантационных технологий, закономерно привели к увеличению общей выживаемости больных. Так, в настоящее время при использовании современной программной химиотерапии можно достичь ремиссии у 90 % пациентов [1], при острых миелоидных лейкозах пятилетняя общая выживаемость больных в возрасте до 60 лет, по данным крупных исследовательских групп, в среднем составляет 40–50 %, варьируя от 10 до 90 % в зависимости от молекулярно-генетических особенностей опухоли [2–5]. В группе больных лимфомой Ходжкина (ЛХ) общая пятилетняя выживаемость составляет 85–90 % даже при распространенных стадиях заболевания, а пятилетняя безрецидивная выживаемость – 75–80 % [6–10]. В лечении неходжкинских злокачественных лимфом (НХЛ) использование полихимиотерапии в сочетании с моноклональными антителами приводит к достижению полных ремиссий у 50–60 % больных с агрессивными лимфомами и у 70–80 % пациентов с индолентными лимфопролиферативными заболеваниями [11]. Целью современной терапии первой линии у пациентов с ЛХ является излечение, т.е. достижение для большинства больных такой же продолжительности жизни, как у здоровых сверстников. Основным современным методом, позволяющим добиться поставленной цели, является полихимиотерапия (ПХТ), а для отдельных групп больных – ее соче-

INTRODUCTION

Significant advances in the treatment of oncohematological diseases achieved in recent decades and associated with the introduction of standardized regimens of combined chemoradiation therapy, new drugs (monoclonal antibodies, immune checkpoint inhibitors, tyrosine kinase inhibitors, immunomodulators) and transplantation methods into clinical practice, have naturally led to an increase in overall survival of patients. Thus, at present, with the use of modern combined chemotherapy, remission can be achieved in 90% of patients [1]; in acute myeloid leukemia, five-year overall survival of patients under 60 years of age, according to large research groups, averages 40–50%, varying from 10 to 90% depending on the molecular genetic characteristics of the tumor [2–5]. In the group of patients with Hodgkin lymphoma (HL), five-year overall survival is 85–90% even at advanced stages of the disease, and five-year relapse-free survival is 75–80% [6–10]. In the treatment of non-Hodgkin malignant lymphomas (NHL), the use of polychemotherapy (PCT) in combination with monoclonal antibodies leads to complete remissions in 50–60% of patients with aggressive lymphomas, and in 70–80% of patients with indolent lymphoproliferative diseases [11]. The goal of modern first-line therapy in patients with HL is a cure, i.e. to achieve for by most patients the same life expectancy as their healthy peers. The main modern method that allows achieving this goal is PCT, and for certain groups of patients – its combination with radiation therapy. High doses of cytostatic drugs and glucocorticosteroids, as well as high total focal doses, have serious impact on the function of internal organs and, as a consequence, the quality of life of patients.

At the same time, the consequences of chemoradiation therapy become a serious problem for patients with oncohematological diseases, among which a special place is given to lesions of the cardio-

тание с лучевой терапией. Высокие дозы цитостатических препаратов и глюкокортикостероидов, а также высокие суммарные очаговые дозы оказывают серьезное влияние на функцию внутренних органов и, как следствие, качество жизни пациентов.

Вместе с тем серьезной проблемой для пациентов с онкогематологическими заболеваниями становятся последствия химиолучевого лечения, среди которых особое место отводится поражениям сердечно-сосудистой и дыхательной систем (острый коронарный синдром, кардиомиопатия, пороки клапанного аппарата сердца, плевриты, перикардиты, хроническая дыхательная недостаточность, пневмофиброз); эндокринным расстройствам, костно-мышечным нарушениям, поражениям желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), печени и желчевыводящих путей, а также полинейропатии [12]. Свойственная цитостатическим агентам острая токсичность, прежде всего в отношении костного мозга и ЖКТ, развивается непосредственно в процессе проведения ПХТ, а осложнения, связанные с отдаленными ее проявлениями, могут возникать как непосредственно после лечения (гипогонадизм), так и в течение нескольких лет (пневмофиброз, эндомиокардиальный фиброз) и даже десятилетий (постметастатические злокачественные опухоли) после окончания ПХТ [13].

В основе развития гастроинтестинальных осложнений химиолучевой терапии у больных гемобластозами лежат дисбиотические процессы, характеризующиеся подавлением нормальной микрофлоры кишечника, активизацией оппортунистических микроорганизмов, высоким риском их транслокации в несвойственные биотопы и эндогенным инфицированием. Еще одним этиологическим фактором развития дисбиоза кишечника у больных гемобластозами является применение антибактериальной терапии (АБТ) на фоне фебрильной нейтропении.

В последние годы понимание биологической роли кишечной микробиоты значительно расширилось и составляет широкую область исследований, особенно в онкогематологии. Установлено, что кишечная микробиота – важный фактор, влияющий на метаболический гомеостаз и иммунную систему [14]. В настоящее время микробиом кишечника предлагается рассматривать как отдельный человеческий орган. Вместе с тем методов, которые позволили бы напрямую уменьшать степень цитостатического повреждения кишечной стенки, не существует. Таким образом, актуальность вопроса поиска лечебно-

vascular and respiratory systems (acute coronary syndrome, cardiomyopathy, valvular abnormalities, pleurisy, pericarditis, chronic respiratory failure, pneumofibrosis); endocrine disorders, musculoskeletal disorders, lesions of the gastrointestinal tract, liver and biliary tract, as well as polyneuropathy [12]. Acute toxicity inherent in cytostatic agents, primarily in relation to the bone marrow and gastrointestinal tract, develops directly during the course of chemotherapy, and complications associated with its long-term manifestations can occur both immediately after treatment (hypogonadism), and over several years (pneumofibrosis, endomyocardial fibrosis), and even decades (post-metastatic malignant tumors) after the chemotherapy completion [13].

At the same time, the development of gastrointestinal complications of chemoradiotherapy in patients with hematologic malignancies is based on dysbiotic processes characterized by suppression of the normal intestinal microbiome, activation of opportunistic microorganisms, high risk of their translocation to non-specific biotopes, and endogenous infection. Another etiological factor in the development of intestinal dysbiosis in patients with hematologic malignancies is the antibacterial therapy (ABT) amid febrile neutropenia.

In recent years, the understanding of the biological role of the intestinal microbiota has expanded significantly and is a broad area of research, especially in oncohematology. It has been established that the intestinal microbiota is an important factor affecting metabolic homeostasis and the immune system [14]. Currently, the intestinal microbiome is proposed to be considered as a separate human organ. To date, there are no methods that would directly reduce the degree of cytostatic damage to the intestinal wall. Thus, the relevance of the issue of finding therapeutic and preventive measures to reduce the number of neutropenia-induced gastrointestinal complications is beyond doubt. The main aspects in the approach to solving this problem are: rational ABT and syndrome-based maintenance therapy for which can be used probiotics.

In foreign literature, there are research results on the role of probiotics in the prevention and treatment of diarrhea caused by chemoradiation therapy. Thus, Chinese colleagues presented a meta-analysis involving a total of 1024 patients with cancer. The results of this meta-analysis showed that the administration of probiotics before the start of PCT and their addition to conventional symptomatic treatment can obviously reduce the total diarrhea rate in patients with cancer (odds ratio (OR) = 0.47, 95% confidence interval (CI) (0.35, 0.63), $p < 0.00001$),

профилактических мероприятий для уменьшения количества осложнений со стороны ЖКТ, возникающих на фоне нейтропении, не вызывает сомнения. Основными аспектами в подходе к решению данной проблеме являются: рациональная АБТ и синдромальная поддерживающая терапия, которой может стать терапия пробиотиками.

В зарубежной литературе встречаются результаты исследований о роли пробиотиков в профилактике и лечении диареи, вызванной химиолучевой терапией. Так, китайскими коллегами был представлен метаанализ с участием в общей сложности 1024 пациентов с онкологическими заболеваниями. Результаты этого метаанализа показали, что назначение пробиотиков до начала ПХТ и добавление их к традиционному симптоматическому лечению, очевидно, могут снизить общую частоту диареи у пациентов с раком (отношение шансов (ОШ) = 0.47, 95% доверительный интервал (ДИ) (0.35, 0.63), $p < 0.00001$), диарею III–IV степени (ОШ = 0.16, 95% ДИ (0.05, 0.42), $p = 0.0008$) и сократить продолжительность диареи (среднее расхождение (MD) = -1.92 , 95% ДИ (-1.96 , -1.88), $p < 0.00001$) [15]. Y.C. Liu et al. было проанализировано профилактическое действие пробиотиков в отношении развития мукозита полости рта, вызванного противоопухолевой терапией. В семи исследовательских центрах сообщалось о значительно более низкой частоте тяжелого мукозита полости рта в группе больных, принимавшей пробиотики до начала терапии (ОШ = 0.65, 95% ДИ = 0.53–0.81, $p < 0.0001$). Кроме того, отмечалось снижение потребности в энтеральном питании в данной группе пациентов (ОШ = 0.34, 95% ДИ = 0.13–0.92, $p < 0.05$) [16].

Не менее актуальной проблемой для онкологических больных является развитие энтеропатии, вызванной лучевой терапией. Известно, что острая радиационно-индуцированная энтеропатия возникает в течение 3 мес после назначения лучевой терапии. Типичные симптомы включают диарею, тошноту, рвоту и спазмы в животе. Эти проявления могут вызывать обезвоживание, электролитный дисбаланс и недоедание, что может отрицательно сказаться на состоянии пациента, потребовать прерывания терапии или изменений в первоначальном плане лечения, что, в свою очередь, может снизить вероятность контроля опухолевого заболевания. С целью оценки эффективности профилактического назначения пробиотиков у больных онкологического профиля, которым показана лучевая терапия, Y.J. Kim et al. было проведено двойное сле-

grade III–IV diarrhea (OR = 0.16, 95% CI (0.05, 0.42), $p = 0.0008$) and shorten the duration of diarrhea (mean difference (MD) = -1.92 , 95% CI (-1.96 , -1.88), $p < 0.00001$) [15]. Liu et al. analyzed the preventive effect of probiotics on the development of oral mucositis caused by antitumor therapy. Seven research centers reported a significantly lower incidence of severe oral mucositis in the group of patients taking probiotics before therapy (OR = 0.65, 95% CI = 0.53–0.81, $p < 0.0001$). In addition, a reduced need for enteral nutrition was noted in this group of patients (OR = 0.34, 95% CI: 0.13–0.92, $p < 0.05$) [16].

An equally pressing challenge for cancer patients is the development of radiation-induced enteropathy. It is known that acute radiation-induced enteropathy occurs within 3 months after the administration of radiation therapy. Typical symptoms include diarrhea, nausea, vomiting, and abdominal cramps. These manifestations can cause dehydration, electrolyte imbalance, and malnutrition, which can adversely affect the patient's condition, require discontinuation of therapy or changes in the original treatment regimen, which, in turn, can reduce the likelihood of tumor control. In order to assess the efficacy of prophylactic administration of probiotics in cancer patients who are prescribed radiation therapy, Kim et al. conducted a double-blind, placebo-controlled study. The study involved 248 patients. Patients were randomly divided into two groups. Patients of the main group were prescribed 2 capsules of the probiotic 3 thrice a day; intake began 2 weeks before the start of radiation therapy and ended on the last day of radiation therapy. It was found that the rate of radiation-induced diarrhea was significantly lower in the group of patients who received the probiotic prophylactically, compared with the placebo group (31.6 vs. 51.8%, $p < 0.001$) [17].

In addition, now, it has been established that microbial dysbiosis may be associated with a more aggressive course of disease and unfavorable clinical outcome in lymphomas. Thus, Diefenbach et al. studied the composition of the intestinal microbiota in patients with diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL). It was found that the intestinal microbiota profile before the treatment in patients with lymphomas already had significant differences compared to the healthy control group ($p < 0.001$). At the same time, the composition of the intestinal microbiota in patients with DLBCL differed significantly from patients with indolent lymphomas ($p = 0.01$), with a tendency to decrease in microbial diversity in patients with DLBCL ($p = 0.08$). The diversity and

пое плацебо-контролируемое исследование. В исследовании приняли участие 248 больных. Пациенты были разделены на две группы случайным образом. Больным, отнесенным к основной группе, назначались 2 капсулы пробиотика 3 раза в день, прием начинали за 2 нед до начала лучевой терапии и заканчивали последним днем лучевой терапии. Установлено, что частота диареи, вызванной лучевой терапией, была значительно ниже в группе пациентов, профилактически получавших пробиотик, в сравнении с группой плацебо (31.6 против 51.8 %, $p < 0.001$) [17].

Кроме того, в настоящее время установлено, что микробный дисбиоз может быть связан с более агрессивным вариантом течения заболевания и неблагоприятным клиническим исходом при лимфомах. Так, C.S. Diefenbach et al. был изучен состав кишечной микробиоты у пациентов с диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфомой (ДВКЛ). Установлено, что состав кишечной микробиоты до лечения у пациентов с лимфомами уже имел существенные отличия по сравнению со здоровой группой контроля ($p < 0.001$). При этом состав кишечной микробиоты у пациентов с ДВКЛ значительно отличался от пациентов с индолентными лимфомами ($p = 0.01$), с тенденцией к снижению микробного разнообразия у пациентов с ДВКЛ ($p = 0.08$). Разнообразие и состав кишечной микробиоты до лечения лимфомы были значимыми предикторами ответа на терапию ($p = 0.01$) [18]. Полученные результаты исследования демонстрируют, что дисбиоз приводит к снижению эффективности противоопухолевой терапии, а также в связи с развитием местной иммуносупрессии способствует более тяжелому и агрессивному течению заболевания.

Z. Lin et al. описали структуру микробиоты кишечника у пациентов с *de novo* ДВКЛ и выявили взаимосвязь состава микрофлоры кишечника с клиническими характеристиками пациентов. Эти маркеры включали стадию заболевания, стратификацию риска по International Prognostic Index (IPI) и ответ на иммунохимиотерапию. Исследование также показало корреляции между структурными вариациями состава микробиоты кишечника и иммунитетом пациента. *Proteobacteria* доминировали при ДВКЛ, в то время как количество *Bacteroides* было значительно снижено по сравнению со здоровой популяцией ($p < 0.05$) [14].

Учитывая фрагментарность и малую численность российских исследований по данной тематике, проведение собственного исследования по

composition of the intestinal microbiota before lymphoma treatment were significant predictors of response to therapy ($p = 0.01$) [18]. The results of the study demonstrate that dysbiosis leads to a decrease in the efficacy of antitumor therapy, and also, due to the development of local immunosuppression, contributes to a more severe and aggressive course of the disease.

Lin et al. described the gut microbiota profile in patients with DLBCL *de novo* and found relationship between the gut microbiota composition and clinical characteristics of patients. These markers included a disease stage, International Prognostic Index (IPI) risk stratification, and response to immunochemotherapy. The study also showed correlations between structural variations in the gut microbiota composition and patient immunity. *Proteobacteria* dominated in DLBCL, while *Bacteroides* abundance was significantly reduced compared to healthy controls ($p < 0.05$) [14].

Taking into account the fragmentary nature and small number of Russian studies on this topic, performing our own research on the composition of the intestinal microbiota and assess the effectiveness of probiotics in patients with lymphomas seems relevant.

AIM OF THE RESEARCH

To evaluate the efficacy of probiotics in patients with lymphomas at the onset of the disease in order to correct dysbiosis and endogenous intoxication (EI).

MATERIALS AND METHODS

A comparative prospective randomized study included 40 subjects aged 18 to 86 years. The patients were examined in the hematology department (head of the department, Cand. Sci. (Med.) I.N. Nechnaeva) of the Novosibirsk City Clinical Hospital No. 2 (chief physician, Dr. Sci. Med., professor L.A. Shpagina) as part of the provision of high-tech and specialized medical care. The patients were examined at baseline ($n = 40$) and after a course of chemotherapy ($n = 40$). The distribution of patients by gender was as follows: 4 men (10%), 36 women (90%). The average age of patients with lymphomas at the time of the study was 45 (34; 54.5) years (data are presented as median (25; 75th percentile)). Among the subjects, patients with advanced stages of the disease (stages III and IV) ($n = 26$, 65%) and a diagnosis of DLBCL ($n = 28$, 70%) predominated. The clinical, hematological and demographic characteristics of the patients are presented in Table 1.

The diagnosis of lymphomas was made in accordance with the Russian Clinical Guidelines for the

изучению состава микробиоты кишечника и оценке эффективности применения пробиотиков у больных лимфомами представляется актуальным.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценить эффективность применения пробиотиков у больных лимфомами в дебюте заболевания с целью коррекции дисбиотических процессов и синдрома эндогенной интоксикации (СЭИ).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В сравнительное проспективное рандомизированное исследование было включено 40 чел. в возрасте от 18 до 86 лет. Обследование больных осуществлялось в условиях гематологического отделения (заведующий отделением – канд. мед. наук И.Н. Нечунаева) ГБУЗ НСО «Городская клиническая больница № 2» (главный врач – д-р мед. наук, профессор Л.А. Шпагина) в рамках оказания высокотехнологичной и специализированной медицинской помощи. Больные были обследованы до начала лечения ($n = 40$) и после проведения курса ПХТ ($n = 40$). Распределение больных по полу было следующим: мужчин – 4 (10 %), женщин – 36 (90 %). Средний возраст пациентов с лимфомами на момент исследования составил 45 (34; 54.5) лет (данные представлены как медиана (25; 75-й перцентили)). Среди обследуемых преобладали пациенты с распространенными стадиями заболевания (III и IV стадии) ($n = 26$, 65 %) и диагнозом ДВКЛ ($n = 28$, 70 %). Клинико-гематологическая и демографическая характеристика обследуемых пациентов представлена в табл. 1.

Диагноз лимфом устанавливался в соответствии с Российскими клиническими рекомендациями по диагностике и лечению лимфопролиферативных заболеваний [11] на основании гистологического и иммуногистохимического исследования биопсированного лимфатического узла. Большинство обследуемых (26 пациентов, 65 %) имели В-симптомы, при этом лихорадка встречалась у 18 (45 %) обследуемых, снижение массы тела (>10 % за последние 6 мес) отметили 12 чел. (30 %), ночная профузная потливость до начала терапии выявлена у 20 (50%) обследуемых. Большая опухолевая масса – более 10 см (bulky disease) выявлена у 9 пациентов (22.5 %), из них у большинства она была локализована в области средостения. Спленомегалия диагностирована у 12 (30 %) больных. Экстранодальные поражения (ЭП) отмечены у 8 (20 %) пациентов. Наиболее частой локализацией ЭП были легкие ($n = 4$; 50 %). Реже наблюдались поражения

Diagnosis and Treatment of Lymphoproliferative Diseases [11] based on histological and immunohistochemical examination of biopsy samples of the lymph nodes. Most of the subjects (26 patients, 65%) had B-symptoms, fever occurring in 18 (45%) subjects, weight loss ($>10\%$ over the past 6 months) was observed in 12 people (30%), profuse night sweats at baseline were in 20 (50%) subjects. A large tumor mass – more than 10 cm (bulky disease) was detected in 9 patients (22.5%), of which most had it localized in the mediastinum. Splenomegaly was diagnosed in 12 (30%) patients. Extranodal lesions (EL) were in 8 patients (20%). The most common EL localization was the lungs ($n = 4$, 50%). The liver ($n = 2$, 25%), soft tissue ($n = 1$, 12.5%) and bone marrow ($n = 1$, 12.5%) were involved less commonly. All patients received first-line polychemotherapy for remission induction. Patients with DLBCL ($n = 28$) received the R-CHOP ($n = 24$), R-miniCHOP ($n = 2$), R-HyperCVAD ($n = 2$) chemotherapy. Patients with B-small lymphocytic lymphoma (B-CLL (chronic leukemia) phenotype) were administered polychemotherapy according to the FCR ($n = 4$) and RB ($n = 2$) regimens. Treatment of marginal zone lymphoma ($n = 2$) and follicular lymphoma ($n = 2$) was carried out according to the R-CVP regimen. The patient with angioimmunoblastic T-cell lymphoma was treated with the CHOEP regimen, and the patient with mantle cell lymphoma was treated with the R-HyperCVAD regimen.

In order to evaluate the effectiveness of the probiotic and probiotic lysate with the phytocomplex in the correction of dysbiosis and endogenous intoxication, the patients were randomly divided into 2 groups: group 1 (20 patients with stage II–IV NHL, who, in addition to PCT, received orally the biologically active supplement (BAS) “VedaBiotic” (probiotic), 1 capsule at night (in excess body weight, 2 capsules at night) and probiotic lysate with the phytocomplex “Phytolysate Gastro” 1 teaspoon, dissolved in 1/4 glass of water, twice a day 20 min before meals, in the period between chemotherapy cycles after one cycle of PCT. The course of administration was 21 days; group 2, 20 controls with stage II–IV NHL who received only conventional polychemotherapy. Clinical examination of patients was conducted in accordance with Russian Clinical Guidelines for the Diagnosis and Treatment of Lymphoproliferative Diseases.

Blood biochemistry test (the level of C-reactive protein (CRP), fibrinogen, creatinine, urea, uric acid, lactate dehydrogenase (LDH), alkaline phosphatase (ALP)) was performed by the colorimetric method using an XL-640 biochemistry analyzer with an ion-

Таблица 1. Клинико-гематологическая и демографическая характеристика обследуемых пациентов
Table 1. Clinical, hematological and demographic characteristics of the examined patients

Показатель / Parameter	n	%
Вся группа / Total group	40	100
Пол / Sex:		
женщины / females	36	90
мужчины / males	4	10
Стадия по Ann Arbor / Ann Arbor stage:		
II	14	35
III	10	25
IV	16	40
В-симптомы / B-symptoms	26	65
Bulky disease (большая опухолевая масса: >10 см в диаметре) (large tumor mass: >10 cm in diameter)	9	22,5
Нозологическая форма / Nosological form:		
диффузная В-клеточная крупноклеточная лимфома / diffuse large B-cell lymphoma	28	70
В-мелкоклеточная лимфома (фенотип В-ХЛЛ) B-small lymphocytic lymphoma (B-CLL phenotype)	6	15
лимфома из клеток маргинальной зоны / marginal zone lymphoma	2	5
ангиоиммунобластная Т-клеточная лимфома / angioimmunoblastic T-cell lymphoma	1	2.5
фолликулярная лимфома / follicular lymphoma	2	5
мантийноклеточная лимфома / mantle cell lymphoma	1	2.5

П р и м е ч а н и е . ХЛЛ – хронический лейкоцитарный лейкоз.
 N o t e . CLL – chronic lymphocytic leukemia.

печени ($n = 2$; 25 %), мягких тканей ($n = 1$; 12.5 %) и костного мозга ($n = 1$; 12.5 %). В качестве индукции ремиссии все пациенты получили ПХТ I линии. Пациенты с ДВКЛ ($n = 28$) получали химиотерапию по протоколам R-CHOP ($n = 24$), R-miniCHOP ($n = 2$), R-Нупер-CVAD ($n = 2$). Больным В-мелкоклеточной лимфомой (фенотип В-ХЛЛ (хронический лейкоцитарный лейкоз)) назначалась программная ПХТ по схемам FCR ($n = 4$) и RB ($n = 2$). Лечение лимфомы из клеток маргинальной зоны ($n = 2$) и фолликулярной лимфомы ($n = 2$) осуществлялось по протоколу R-CVP. Пациентке с ангиоиммунобластной Т-клеточной лимфомой назначалось лечение по схеме СНОЕР, а пациентке с мантийноклеточной лимфомой – по схеме R-Нупер-CVAD.

С целью оценки эффективности пробиотика и лизата пробиотиков с фитокомплексом в коррекции дисбиоза и синдрома эндогенной интоксикации методом случайной выборки пациенты были разделены на 2 группы: 1-я группа – 20 чел. – пациенты с НХЛ II–IV степени (ст.), которые, помимо ПХТ, получали перорально биологически активную добавку (БАД) «ВедаБиотик» (пробиотик) по 1 капсуле на ночь (в случае избыточной массы тела – по 2 капсулы на ночь) и лизата пробиотиков с фитокомплексом «Фитолизат гастро» по 1 чайной ложке, растворив в 1/4 стакана воды, 2 раза в день за 20 мин до еды, в межкурсовом пери-

selective electrodes (Erba Lachema s.r.o., Czech Republic) and the manufacturer's test kits. Determination of the blood serum concentrations of proinflammatory cytokines (IL-6, IL-1 β , TNF- α , IL-10) was carried out by enzyme immunoassay using the test kits of Vector-Best (Russia). A comprehensive assessment of the intestinal microbiome was performed using the Human Microflora test for 11 indicators using real-time polymerase chain reaction at Vector-BiAlgam, JSC (Koltsovo, Novosibirsk Region). Intestinal dysbiosis was diagnosed according to the following microbiological criteria (changes in the microbiome abundance in bacterial maps of feces):

- reduction of the total bacterial load to less than 10^{11} colony forming units (CFU)/g;
- reduction of the *Bifidobacterium* spp. count to less than 10^9 CFU/g;
- reduction of the *Lactobacillus* spp. count to less than 10^7 CFU/g;
- reduction of the *Escherichia coli* count to less than 10^6 CFU/g;
- reduction of the *Faecalibacterium prausnitzii* count to less than 10^8 CFU/g;
- increase in the *Bacteroides* spp. count more than 10^{12} CFU/g;
- imbalance in anaerobic flora (*Bacteroides* spp./*Faecalibacterium prausnitzii* ratio over 100);
- *Staphylococcus aureus* more than 10^4 CFU/g;

оде после одного стандартного курса ПХТ. Курс приема составил 21 день; 2-я группа – 20 чел. – группа сравнения, пациенты с НХЛ II–IV ст., которые получали только стандартные курсы ПХТ. Общеклиническое обследование больных проведено в соответствии с Российскими клиническими рекомендациями по диагностике и лечению лимфопролиферативных заболеваний.

Биохимическое исследование крови (уровень С-реактивного белка (СРБ), фибриногена, креатинина, мочевины, мочевой кислоты, лактатдегидрогеназы (ЛДГ), щелочной фосфатазы (ЩФ)) выполнено колориметрическим методом на аппарате XL-640 с ионоселективным блоком (ISE) (Erba Lachema s.r.o., Чехия), с помощью тест-систем производителя. Определение концентрации провоспалительных цитокинов (IL-6, IL-1 β , TNF- α , IL-10) в сыворотке крови проведено методом иммуноферментного анализа с помощью тест-систем компании «Вектор-Бест» (Россия). Комплексная оценка состояния микрофлоры кишечника выполнялась с помощью теста «Микрофлора человека» по 11 показателям методом полимеразной цепной реакции в реальном времени на базе АО «Вектор-БиАльгам» (Кольцово, Новосибирская обл.). Дисбиоз кишечника диагностировался по следующим микробиологическим критериям (изменениям количества микрофлоры в бактериальных картах фекалий):

- снижение общей бактериальной массы менее 10^{11} колониеобразующих единиц (КОЕ)/г;
- снижение количества *Bifidobacterium* spp. менее 10^9 КОЕ/г;
- снижение количества *Lactobacillus* spp. менее 10^7 КОЕ /г;
- снижение количества *Escherichia coli* менее 10^6 КОЕ/г;
- снижение количества *Faecalibacterium prausnitzii* менее 10^8 КОЕ /г;
- увеличение количества *Bacteroides* spp. более 10^{12} КОЕ/г;
- выявление анаэробного дисбаланса (соотношение *Bacteroides* spp. / *Faecalibacterium prausnitzii* более 100);
- обнаружение *Staphylococcus aureus* более 10^4 КОЕ/г;
- обнаружение *Klebsiella* spp. более 10^4 КОЕ/г;
- обнаружение *Candida* spp. более 10^4 КОЕ/г;
- обнаружение *Clostridium difficile*.

Статистическая обработка полученных данных проводилась с использованием программ IBM SPSS Statistics 26.0 (IBM, США) и Statistica 13.0 (Dell, США). Для определения нормальности распределения изучаемых данных использовали

- *Klebsiella* spp. more than 10^4 CFU/g;
- *Candida* spp. more than 10^4 CFU/g;
- detection of *Clostridium difficile*.

Statistical processing of the data was performed using IBM SPSS Statistics 26.0 (IBM, USA) and Statistica 13.0 (Dell, USA) programs. The Kolmogorov-Smirnov test was used to determine a normal distribution of the data. Considering that the distribution of most of the studied variables was non-normal, nonparametric statistics methods were used. Comparative intragroup assessments of the results were performed using the Mann-Whitney *U*-test. To assess the significance of differences between the qualitative characteristics of the sample, the Pearson goodness-of-fit test (χ^2) was used. Spearman's rank correlation was used to establish relationships between clinical and hematological characteristics and the results of lab tests. The critical level of significance of differences was taken to be $p < 0.05$.

RESULTS AND DISCUSSION

Analysis of the composition of the intestinal microbiota in patients with newly diagnosed lymphoma. According to the results of a comprehensive assessment of the intestinal microbiome in patients with lymphomas, a significant shift in the diversity of the colonic microbiome was noted, which was characterized by the presence of a severe imbalance in the biocenosis with a pronounced deficiency of bifidobacteria and lactobacilli, as well as a decrease in the total bacterial load. Thus, it was found that at the onset of the disease before the start of chemoradiation therapy, a pronounced deficiency of the total bacterial load had 7 (17.5%) patients, a deficiency of bifidobacteria – 29 (72.5%) patients, a decrease in the lactobacilli count – 34 (85%) patients with lymphomas. A decrease in the *Escherichia coli* count was diagnosed in 5 patients (12.5%), while the microbiome with abundance of *Escherichia coli* had 14 (350%) patients, a decrease in the *Faecalibacterium prausnitzii* count in the intestinal microbiota was detected in 9 patients (22.5%), an increase in the *Bacteroides* spp. count – in 13 (32.5%). At the same time, an imbalance of anaerobic bacteria was diagnosed in 20 (50%) patients with lymphomas. In patients with newly diagnosed lymphomas, *Clostridium difficile* and *Staphylococcus aureus* were not detected in the microbiome. In 1 patient with newly diagnosed DLBCL, overgrowth of *Candida* fungi (7×10^6 CFU/g) was detected. Pathological increase in *Klebsiella* spp. exceeding 10^4 CFU/g was diagnosed in 4 (10%) patients with lymphomas.

According to the Pearson χ^2 test, an imbalance in anaerobic bacteria was found to be more prevalent in

критерий Колмогорова – Смирнова. Учитывая, что распределение большинства изученных признаков было отличным от нормального, применяли методы непараметрической статистики. Сравнительные внутригрупповые оценки результатов проводились по *U*-критерию Манна – Уитни. Для оценки значимости различий между качественными характеристиками выборки использовали критерий согласия Пирсона (χ^2). Для установления взаимосвязей между клинико-гематологическими характеристиками и результатами лабораторных исследований использовали ранговый корреляционный анализ Спирмена. За критический уровень достоверности различий принимали $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ состава кишечной микробиоты у больных с впервые выявленной лимфомой. По результатам проведенной комплексной оценки состояния микрофлоры кишечника у больных лимфомами отмечено значительное изменение спектра микрофлоры толстой кишки, которое характеризовалось наличием тяжелого нарушения биоценоза с выраженным дефицитом бифидобактерий и лактобактерий, а также снижением общей бактериальной массы. Так, установлено, что в дебюте заболевания до начала химиолучевой терапии выраженный дефицит общей бактериальной массы наблюдался у 7 (17.5 %) больных, дефицит бифидобактерий выявлен у 29 (72.5 %) обследуемых, снижение количества лактобактерий отмечалось у 34 (85 %) больных лимфомами. Снижение количества *Escherichia coli* диагностировано у 5 (12.5 %) пациентов, при этом микробиом, обогащенный *Escherichia coli*, встречался у 14 (35.0 %) чел., снижение количества *Faecalibacterium prausnitzii* в составе микробиоты кишечника выявлено у 9 (22.5 %) пациентов, увеличение количества *Bacteroides* spp. – у 13 (32.5 %) обследуемых. При этом анаэробный дисбаланс диагностирован у 20 (50 %) обследуемых с лимфомами. У больных с впервые диагностированными лимфомами не выявлено в составе микробиома *Clostridium difficile* и *Staphylococcus aureus*. У 1 пациентки с впервые выявленной ДВКЛ определен избыточный рост грибов *Candida* (7×10^6 КОЕ/г). Патологическое увеличение *Klebsiella* spp. более 10^4 КОЕ/г диагностировано у 4 (10%) больных лимфомами.

В соответствии с критерием согласия Пирсона χ^2 установлено, что анаэробный дисбаланс преобладал у пациентов с более злокачественными вариантами лимфом (диффузная В-круп-

patients with more malignant lymphoma variants (diffuse large B-cell lymphoma, angioimmunoblastic T-cell lymphoma) compared to patients with an indolent tumor variant (B-small lymphocytic lymphoma (B-CLL phenotype), follicular lymphoma) ($\chi^2 = 4.11$, $p = 0.04$). The microbiome with abundance of *Escherichia coli* was more often diagnosed in patients with localized tumors compared to those with advanced stages of the disease (III–IV) ($\chi^2 = 4.64$, $p = 0.03$). In patients with clinical symptoms of tumor intoxication (fever, profuse night sweats, weight loss >10% over the past 6 months), a decrease in the *Faecalibacterium prausnitzii* count ($\chi^2 = 6.25$, $p = 0.01$) and an increase in *Bacteroides* spp. count ($\chi^2 = 4.33$, $p = 0.03$) were diagnosed significantly more often. At the same time, the grade of intestinal dysbiosis was associated with the biochemical activity of tumor. Thus, according to the Spearman's correlation, in patients with newly diagnosed lymphomas, the *Bifidobacterium* spp. count was positively correlated with the activity of LDH ($p = 0.04$), AST ($p = 0.01$), ALP ($p = 0.01$), CRP concentration ($p = 0.007$) and was negatively correlated with the percentage of lymphocytes ($p = 0.007$). The *Escherichia coli* count was negatively correlated with the erythrocyte sedimentation rate (ESR) ($p = 0.002$), and growth of *Lactobacillus* spp. correlated with higher ALP activity. When analyzing the concentration of cytokines depending on the study period, the concentration of IL-6 was 2 times higher ($p = 0.02$) in patients after chemotherapy compared to patients examined at the onset of the disease. No significant differences in the concentration of TNF- α and IL-1 β in the study groups were found. However, a tendency towards an increase in the concentration of IL-1 β ($p = 0.051$) was noted in patients who received antitumor treatment (Table 2). The results obtained are probably associated with the development of hematological toxicity and the chemotherapy-induced infectious complications, which, in turn, can contribute to the development of a systemic inflammatory response.

In patients at the onset of the disease, a positive correlation was observed between the concentration of IL-6 and IL-1 β ($r = 0.49$, $p = 0.001$), TNF- α ($r = 0.40$, $p = 0.009$), LDH activity ($r = 0.38$, $p = 0.01$), and ALP ($r = 0.36$, $p = 0.02$). The level of TNF- α correlated with the IL-1 β level ($r = 0.42$, $p = 0.006$). A positive correlation was observed between IL-1 β and LDH ($r = 0.33$, $p = 0.03$), and ALP ($r = 0.35$, $p = 0.02$). An analysis of relationships between the quantitative composition of the intestinal microbiota and the concentration of cytokines at the disease onset showed that a decrease in *Faecali-*

Таблица 2. Концентрация цитокинов (пг/мл) в сыворотке крови пациентов с лимфомами в зависимости от длительности заболевания**Table 2.** Serum concentration of cytokines (pg/ml) in patients with lymphomas depending on the duration of the disease

Цитокин Cytokine	Больные с впервые выявленной лимфомой (группа 1) Patients with newly diagnosed lymphoma (group 1) (n = 40)	Больные лимфомами после химиолучевой терапии (группа 2) Patients with lymphoma after chemoradiation therapy (group 2) (n = 40)	p
IL-6	2.02 (0.78; 4.96)	4.13 (1.85; 13.05)	0.02
TNF-α	0.59 (0; 2.31)	0.79 (0.12; 3.35)	0.35
IL-1β	1.73 (1.35; 3.17)	3.4 (1.7; 7.6)	0.051

ноклеточная лимфома, ангиоиммунобластная Т-клеточная лимфома) в сравнении с больными, имеющими индолентный вариант опухоли (В-мелкоклеточная лимфома (фенотип В-ХЛЛ), фолликулярная лимфома) ($\chi^2 = 4.11$, $p = 0.04$). Микробиом, обогащенный *Escherichia coli*, чаще диагностировался у обследуемых больных с локализованным опухолевым процессом в сравнении с обследуемыми с распространенными стадиями заболевания (III–IV) ($\chi^2 = 4.64$, $p = 0.03$). У пациентов с клиническими симптомами опухолевой интоксикации (лихорадка, профузная ночная потливость, снижение массы тела > 10 % за последние 6 мес) достоверно чаще диагностировалось снижение количества *Faecalibacterium prausnitzii* ($\chi^2 = 6.25$, $p = 0.01$) и увеличение *Bacteroides* spp. ($\chi^2 = 4.33$, $p = 0.03$). При этом глубина нарушений микробиоценоза кишечника была связана с биохимической активностью опухолевого процесса. Так, согласно корреляционному анализу Спирмена установлено, что у больных с впервые выявленными лимфомами количество *Bifidobacterium* spp. находилось в прямой зависимости от активности ЛДГ ($p = 0.04$), АСТ ($p = 0.01$), ЩФ ($p = 0.01$), концентрации СРБ ($p = 0.007$) и в обратной – от процентного соотношения лимфоцитов ($p = 0.007$). Количество *Escherichia coli* имело отрицательную связь со скоростью оседания эритроцитов (СОЭ) ($p = 0.002$), а увеличение популяции *Lactobacillus* spp. коррелировало с более высокой активностью ЩФ. При анализе концентрации цитокинов в зависимости от периода наблюдения установлено, что концентрация IL-6 была в 2 раза выше ($p = 0.02$) у больных, перенесших курс химиотерапии, в сравнении с больными, обследуемыми в дебюте заболевания. Достоверной разницы в концентрации TNF-α и IL-1β в исследуемых группах не выявлено. Однако отмечается тенденция к увеличению концентрации IL-1β ($p = 0.051$) у больных, получивших противоопухолевое лечение (табл. 2). Полученные результаты, вероятно,

bacterium prausnitzii count was associated with a higher concentration of the proinflammatory cytokine IL-6 (Table 3).

Clinical manifestations of intestinal dysbiosis in patients with lymphomas at the onset of the disease were characterized by the following symptoms: abdominal pain (dull or cramping) ($n = 4$, 10%); belching, aerophagia ($n = 2$, 5%); flatulence ($n = 6$, 15%); a feeling of incomplete evacuation, fecal urgency ($n = 2$, 5%); constipation ($n = 12$, 30%); diarrhea ($n = 8$, 20%); angulitis ($n = 2$; 5%); dry skin and mucous membranes ($n = 5$, 12.5%).

Evaluation of the effectiveness of the probiotic and probiotic lysate with a phytocomplex in correction of dysbiosis and endogenous intoxication. A comprehensive assessment of the intestinal microbiome, carried out dynamically, showed that in patients who received the probiotic and metabiotic as maintenance therapy, the counts of *Bifidobacterium* spp. ($p = 0.000005$), *Lactobacillus* spp. ($p = 0.000071$) and *Faecalibacterium prausnitzii* ($p = 0.003$) in the intestinal microbiome were significantly higher compared to the results of patients who received only conventional polychemotherapy (Table 4). No significant differences were found in the total bacterial load, the count of *Escherichia coli*, *Bacteroides* spp. or severity of an imbalance in aerobic bacteria.

It should be noted that *Clostridium difficile* and *Candida* spp. were not revealed in the microbiome of patients from both groups. In one patient with DLBCL who did not receive maintenance therapy, *Staphylococcus aureus* was detected in an amount of 5×10^6 CFU/g. In addition, in patients who did not receive probiotic and metabiotic therapy, an even more significant decrease in the *Bifidobacterium* spp. count in the intestinal microbiome was noted after chemotherapy compared to the values at the onset of the disease. Thus, the median count of *Bifidobacterium* spp. at baseline in this group of patients was 1×10^8 ($3 \times 10^7 - 3 \times 10^9$) CFU/g, and after chemotherapy – 3.5×10^6 ($1 \times 10^5 - 1 \times 10^7$) CFU/g

Таблица 3. Анализ взаимосвязей между количественным составом микробиоты кишечника и концентрацией цитокинов (пг/мл) у больных с впервые выявленной лимфомой

Table 3. The analysis of relationships between the quantitative composition of the intestinal microbiota and the concentration of cytokines (pg/ml) in patients with newly diagnosed lymphoma

Микроорганизм / Microorganism	IL-6	IL-1 β	TNF- α
Общая бактериальная масса Total bacterial load	$r = 0.17$ $p = 0.29$	$r = 0.02$ $p = 0.86$	$r = 0.07$ $p = 0.66$
<i>Bifidobacterium</i> spp., КОЕ/г CFU/g	$r = -0.13$ $p = 0.42$	$r = -0.11$ $p = 0.47$	$r = -0.14$ $p = 0.37$
<i>Lactobacillus</i> spp., КОЕ/г CFU/g	$r = 0.39$ $p = 0.01$	$r = -0.09$ $p = 0.58$	$r = 0.19$ $p = 0.23$
<i>Escherichia coli</i> , КОЕ/г	$r = 0.10$ $p = 0.54$	$r = 0.04$ $p = 0.79$	$r = -0.01$ $p = 0.94$
<i>Bacteroides</i> spp., КОЕ/г CFU/g	$r = 0.12$ $p = 0.46$	$r = 0.03$ $p = 0.82$	$r = 0.02$ $p = 0.89$
<i>Faecalibacterium prausnitzii</i> , КОЕ/г CFU/g	$r = -0.33$ $p = 0.04$	$r = 0.02$ $p = 0.87$	$r = -0.05$ $p = 0.76$
Соотношение <i>Bacteroides</i> spp. / <i>Faecalibacterium prausnitzii</i> <i>Bacteroides</i> spp. / <i>Faecalibacterium prausnitzii</i> ratio	$r = -0.01$ $p = 0.92$	$r = -0.06$ $p = 0.71$	$r = 0.02$ $p = 0.86$

связаны с развитием гематологической токсичности и вызванными ею инфекционными осложнениями после перенесенной химиотерапии, которые, в свою очередь, могут способствовать развитию системного воспалительного ответа.

У больных в дебюте заболевания было отмечено наличие положительной связи между концентрацией IL-6 и IL-1 β ($r = 0.49$, $p = 0.001$), TNF- α ($r = 0.40$, $p = 0.009$), активностью ЛДГ ($r = 0.38$, $p = 0.01$), ЩФ ($r = 0.36$, $p = 0.02$). Уровень TNF- α коррелировал с IL-1 β ($r = 0.42$, $p = 0.006$). Отмечено наличие положительной корреляции между IL-1 β и ЛДГ ($r = 0.33$, $p = 0.03$), ЩФ ($r = 0.35$, $p = 0.02$). Анализ взаимосвязей между количественным составом микробиоты кишечника и концентрацией цитокинов в дебюте опухоли показал, что снижение *Faecalibacterium prausnitzii* соотносилось с более высокой концентрацией провоспалительного цитокина IL-6 (табл. 3).

Клинические проявления дисбиоза кишечника у больных лимфомами в дебюте заболевания характеризовались следующими симптомами: боль в животе (тупая или схваткообразная) ($n = 4$, 10 %); отрыжка, аэрофагия ($n = 2$, 5 %); метеоризм ($n = 6$, 15 %); чувство неполного опорожнения кишечника, императивные позывы на дефекацию ($n = 2$, 5 %); обстипация ($n = 12$, 30 %); диарея ($n = 8$, 20 %); ангулит ($n = 2$; 5 %); сухость кожи и слизистых ($n = 5$, 12.5 %).

Оценка эффективности пробиотика и лизата пробиотиков с фитокомплексом в коррекции дисбиоза и синдрома эндогенной интоксикации. Комплексная оценка состояния микрофлоры кишечника, проведенная в динамике,

($p = 0.001$). A comparative assessment of median concentrations of biochemical parameters using the nonparametric Mann-Whitney test showed that in patients receiving the probiotic in combination with the metabiotic, the concentration of LDH and C-reactive protein was significantly lower compared to the control group naïve to such therapy. Thus, the median of LDH activity in patients receiving maintenance therapy for dysbiosis was 384.5 (346; 426) U/l, and in patients without maintenance therapy – 612 (486; 704) U/l ($p = 0.000001$). The median of the CRP level during treatment was 4 (3; 9.3) mg/l, and in the subjects who did not receive the probiotic and metabiotic – 6.2 (3.9; 15.9) mg/l ($p = 0.04$). More pronounced leukocytosis and accelerated erythrocyte sedimentation were in patients from the control group without maintenance therapy compared to the group of patients who received the probiotic and probiotic lysate with a phytocomplex before the start of chemotherapy. The median level of leukocytes in the peripheral blood of patients from the main group was 6.45 (4.95; 7) thousand/ μ l, and in the control group this index was 8 (6.5; 12.1) thousand/ μ l ($p = 0.0005$). The median value of ESR of patients from the control group was 28 (21; 34) mm/h, while ESR in patients receiving the probiotic and metabiotic was at the level of 21.5 (18; 25) mm/h ($p = 0.002$).

An analysis of the cytokine concentration dynamics in patients with lymphoproliferative diseases during treatment showed that the addition of the probiotic and probiotic lysate with a phytocomplex to maintenance therapy of patients led to a statistically significant decrease in the concentration of proinflammatory cytokines: TNF- α – by 9.2 times

Таблица 4. Оценка количественного состава микробиома кишечника у пациентов с лимфомами в зависимости от терапии

Table 4. The assessment of the quantitative composition of the intestinal microbiome in patients with lymphoma depending on therapy

Микроорганизм Microorganism	Пациенты, получавшие пробиотик и лизат пробиотиков Patients receiving the probiotic and probiotic lysate	Пациенты без поддерживающей терапии Patients without maintenance therapy	<i>p</i>
Общая бактериальная масса Total bacterial load	1×10^{12} ($7.5 \times 10^{11} - 3 \times 10^{12}$)	6×10^{11} ($2 \times 10^{11} - 2 \times 10^{12}$)	0.18
<i>Bifidobacterium</i> spp., КОЕ/г CFU/g	1.5×10^8 ($9 \times 10^7 - 7.5 \times 10^8$)	3.5×10^6 ($1 \times 10^5 - 1 \times 10^7$)	0.000005
<i>Lactobacillus</i> spp., КОЕ/г CFU/g	1×10^7 ($3.5 \times 10^6 - 4.5 \times 10^7$)	1×10^5 ($1 \times 10^5 - 1 \times 10^5$)	0.000071
<i>Escherichia coli</i> , КОЕ/г CFU/g	3×10^8 ($1.5 \times 10^8 - 6.5 \times 10^8$)	1×10^8 ($1 \times 10^7 - 1 \times 10^9$)	0.18
<i>Bacteroides</i> spp., КОЕ/г CFU/g	1×10^{12} ($7.5 \times 10^{11} - 3 \times 10^{12}$)	6×10^{11} ($1 \times 10^{11} - 3 \times 10^{12}$)	0.35
<i>Faecalibacterium prausnitzii</i> , КОЕ/г	2×10^{10} ($6.5 \times 10^9 - 3.5 \times 10^{10}$)	8.5×10^8 ($1 \times 10^8 - 7 \times 10^9$)	0.003
Соотношение <i>Bacteroides</i> spp. / <i>Faecalibacterium prausnitzii</i> <i>Bacteroides</i> spp. / <i>Faecalibacterium prausnitzii</i> ratio	53.9 (29.8–154.5)	93.7 (48.5–200)	0.52

показала, что у больных, получавших в качестве сопроводительной терапии пробиотик и метабиотик, количество *Bifidobacterium* spp. ($p = 0.000005$), *Lactobacillus* spp. ($p = 0.000071$) и *Faecalibacterium prausnitzii* ($p = 0.003$) в составе кишечного микробиома было достоверно больше в сравнении с результатами пациентов, которые получали только стандартные курсы ПХТ (табл. 4). Не выявлено достоверных отличий в объеме общей бактериальной массы, количестве *Escherichia coli*, *Bacteroides* spp., выраженности аэробного дисбаланса.

Следует отметить, что у больных из обеих групп *Clostridium difficile* и *Candida* spp. в составе микробиома не обнаружены. У 1 больной ДВКЛ, не получавшей сопроводительную терапию, выделен золотистый стафилококк (*Staphylococcus aureus*) в количестве 5×10^6 КОЕ/г. Кроме того, у пациентов, которым не проводилась терапия пробиотиком и метабиотиком, отмечалось еще более выраженное снижение количества *Bifidobacterium* spp. в микробиоме кишечника после химиотерапии в сравнении с показателями, полученными в дебюте заболевания. Так, медиана количества *Bifidobacterium* spp. до начала терапии в данной группе пациентов составляла 1×10^8 ($3 \times 10^7 - 3 \times 10^9$) КОЕ/г, а после проведения курса ПХТ – 3.5×10^6 ($1 \times 10^5 - 1 \times 10^7$) КОЕ/г ($p = 0.001$). Сравнительная оценка медиан концентраций биохимических показателей с помощью непараметрического критерия Ман-

($p = 0.001$), IL-6 – в 4 раза ($p = 0.04$), и значительное увеличение концентрации противовоспалительного цитокина IL-10 – в 1.37 раза ($p = 0.02$) (Таблица 5). Результаты, полученные, вместе с уменьшением концентрации маркеров острой фазы, подтверждают вклад использования пробиотика и пробиотического лизата с фитоконкомплексом в уменьшение проявлений системного воспалительного ответа у пациентов с лимфомами, и также демонстрируют возможность их использования в качестве высокоэффективного иммуномодулятора, противовоспалительного и детоксифицирующего агента.

В то же время, согласно критерию Пирсона χ^2 тест, такие симптомы, как головная боль ($p = 0.026$), тошнота ($p = 0.0009$), метеоризм ($p = 0.03$), и диарея ($p = 0.039$), ассоциированные с лечением, были значительно реже в группе пациентов, получавших пробиотик и метабиотик. Частота таких клинических проявлений эндогенной интоксикации, как слабость, бессонница, и ухудшение самочувствия не различалась между группами, что, вероятно, связано с отсутствием ремиссии и продолжающимся течением неопластического процесса на момент исследования. Структура инфекционных осложнений у пациентов, не получавших пробиотик для профилактических целей, представляли такие нозологии, как пневмония, абсцесс аноректальной области, герпетическая инфекция, кандидоз, лихорадка, и мукозитис. Кроме того, стоматит и гингивит были статистически значимо чаще в группе

Таблица 5. Концентрация цитокинов в сыворотке крови пациентов с лимфомами в динамике терапии пробиотиком и лизатом пробиотиков с фитокомплексом**Table 5.** Serum concentration of cytokines in patients with lymphomas in the dynamics of therapy with the probiotic and probiotic lysate with a phytocomplex

Цитокин, пг/мл Cytokine, pg/ml	До терапии At baseline	После терапии After therapy	<i>p</i>
IL-6	8.09 (1.72; 137)	1.98 (0.46; 3.48)	0.04
TNF-α	3.06 (0.6; 5.2)	0.33 (0.12; 0.86)	0.001
IL-1β	2.83 (1.39; 8.31)	2.15 (1.55; 3.51)	0.21
IL-10	5.25 (1.37; 8.73)	7.24 (4.27; 28.44)	0.02

Примечание. Произведен расчет Т-критерия Вилкоксона.

Note. According to the Wilcoxon T-test.

на – Уитни показала, что у больных, получавших пробиотик в сочетании с метабиотиком, концентрация ЛДГ и С-реактивного белка была достоверно ниже в сравнении с группой контроля, не получавшей такую терапию. Так, медиана активности ЛДГ у больных, получавших сопроводительную терапию по поводу дисбиоза, составляла 384.5 (346; 426) Ед/л, а у пациентов без сопроводительной терапии – 612 (486; 704) Ед/л ($p = 0.000001$). Медиана уровня СРБ на фоне лечения составляла 4 (3; 9.3) мг/л, а у обследуемых, не получавших пробиотик и метабиотик – 6.2 (3.9; 15.9) мг/л ($p = 0.04$). Более выраженные лейкоцитоз и ускорение оседания эритроцитов были отмечены у пациентов из группы контроля без сопроводительной терапии в сравнении с группой больных, получавших пробиотик и фитолизат до начала ПХТ. Медиана уровня лейкоцитов в периферической крови у пациентов из основной группы составила 6.45 (4.95; 7) тыс./мкл, а в группе контроля этот показатель был равен 8 (6.5; 12.1) тыс./мкл ($p = 0.0005$). Медианное значение СОЭ больных из контрольной группы было равно 28 (21; 34) мм/ч, в то время как СОЭ пациентов, получавших пробиотик и метабиотик, находилась на уровне 21.5 (18; 25) мм/ч ($p = 0.002$).

Анализ динамики концентрации цитокинов у пациентов с лимфопролиферативными заболеваниями на фоне лечения показал, что добавление в сопроводительную терапию пациентов пробиотика и лизата пробиотиков с фитокомплексом привело к статистически значимому снижению концентрации провоспалительных цитокинов TNF-α – в 9.2 раза ($p = 0.001$), IL-6 – в 4 раза ($p = 0.04$) и достоверному увеличению концентрации противовоспалительного цитокина IL-10 – в 1.37 раза ($p = 0.02$) (табл. 5). Полученные результаты, наряду со снижением концентрации острофазовых маркеров по данным биохимического исследования, подтверждают вклад

group of patients who received only conventional chemotherapy ($\chi^2 = 4.8$, $p = 0.029$).

Thus, at all stages of the neoplastic process, patients have many reasons for the development of intestinal dysbiosis. They are associated with destructive processes in the body due to the growth and spread of tumor, disorder of the functional state of various organs, empiric antibiotic therapy and the prescription of high doses of cytostatic drugs. The use of the probiotic and probiotic lysate with a phytocomplex in the comprehensive treatment of patients with lymphomas will significantly reduce the severity of intestinal dysbiosis and improve the results of polychemotherapy.

CONCLUSION

The research performed allows us to draw the following conclusions:

1. In patients with newly diagnosed lymphomas, significant changes in the diversity of the intestinal microbiome were detected, characterized by the presence of a severe imbalance of the biocenosis with a deficiency of bifidobacteria and lactobacilli, as well as a decrease in the total bacterial load.

2. Probiotics have cytoprotective, anti-inflammatory, antioxidant and immunomodulatory effects and are quite effective in the treatment and prevention of intestinal dysbiosis and endogenous intoxication in patients with non-Hodgkin's lymphomas.

3. The inclusion of probiotics in the comprehensive treatment of patients with non-Hodgkin's lymphomas will allow cytostatic therapy to be carried out at the appropriate time without reducing the dose of drugs.

4. The analysis of the cytokine concentration dynamics in patients with lymphomas during treatment showed that the addition of probiotics to maintenance therapy reduces the manifestations of the systemic inflammatory response syndrome and allows them to be used as a highly effective immuno-

применения пробиотика и лизата пробиотиков с фитокомплексом в уменьшение проявлений реакции системного воспаления у больных лимфомами, а также демонстрируют возможность их использования в качестве высокоэффективного иммуномодулирующего, противовоспалительного и детоксикационного средства.

Вместе с тем в соответствии с критерием согласия Пирсона χ^2 установлено, что в группе больных, получавших пробиотик и метабиотик, достоверно реже встречались головные боли ($p = 0.026$), тошнота ($p = 0.0009$), метеоризм ($p = 0.03$), диарея ($p = 0.039$), ассоциированные с лечением. Частота встречаемости таких клинических проявлений синдрома эндогенной интоксикации, как слабость, бессонница, снижение работоспособности, достоверно не различалась по группам, что, вероятно, связано с отсутствием ремиссии и все еще активным течением опухолевого процесса на момент исследования. Структура инфекционных осложнений у больных, не получавших с профилактической целью пробиотик, была представлена такими нозологиями, как пневмония, парапроктит, герпетическая инфекция, кандидоз, лихорадка, а также мукозит. При этом стоматит, гингивит встречались статистически значимо чаще именно в группе больных, получавших только стандартные курсы химиотерапии ($\chi^2 = 4.8, p = 0.029$).

Таким образом, на всех этапах опухолевого процесса у больных имеется множество причин для развития дисбиоза кишечника. Они связаны с деструктивными процессами в организме вследствие роста и развития опухолевой ткани, нарушением функционального состояния различных органов, эмпирическим приемом антибактериальных препаратов и назначением высоких доз цитостатических препаратов. Использование пробиотика и лизата пробиотиков в комплексной терапии больных лимфомами позволяют существенно уменьшить степень выраженности дисбиоза кишечника и улучшить результаты полихимиотерапии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное исследование позволяет сделать следующие выводы:

1. У больных с впервые диагностированными лимфомами выявлены значительные изменения спектра микрофлоры толстого кишечника, характеризующиеся наличием тяжелого нарушения биоценоза с дефицитом бифидобактерий и лактобактерий, а также снижением общей бактериальной массы.

modulatory, anti-inflammatory and detoxifying agent.

Funding. The study was performed as part of the research work of the Novosibirsk State Medical University "Assessment of the efficacy of multisynbiotic (trade mark *VedaBiotic*) and probiotic lysate with a phytocomplex (trade mark *Phitolysate Gastro*) in the correction of dysbiosis and endogenous intoxication in patients with lymphoproliferative diseases."

Author contributions

Concept and design: T.I. Pospelova, O.V. Sorokin, S.N. Zinatulin, M.S. Voitko, N.V. Skvortsova.

Data collection and processing: all authors.

Providing the research materials: O.V. Sorokin, S.N. Zinatulin.

Data analysis and interpretation: O.V. Sorokin, S.N. Zinatulin, M.S. Voitko, N.V. Skvortsova, A.A. Korotchenko, A.K. Trubnikova

Copy-editing: M.S. Voitko, T.I. Pospelova, O.V. Sorokin, S.N. Zinatulin.

Final approval of the text: T.I. Pospelova, O.V. Sorokin.

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

2. Пробиотики оказывают цитопротективный, противовоспалительный, антиоксидантный и иммуномодулирующий эффект и являются достаточно эффективными средствами лечения и профилактики дисбиоза кишечника и синдрома эндогенной интоксикации у больных неходжкинскими злокачественными лимфомами.

3. Включение пробиотиков в комплексную терапию больных неходжкинскими злокачественными лимфомами позволит проводить цитостатическую терапию в должные сроки без редукции дозы препаратов.

4. Анализ динамики концентрации цитокинов у пациентов с лимфомами на фоне лечения показал, что добавление в сопроводительную терапию пациентов пробиотиков уменьшает проявления реакции системного воспаления и позволяет использовать их в качестве высокоэффективного иммуномодулирующего, противовоспалительного и детоксикационного средства.

Источники финансирования. Исследование проведено в рамках научно-исследователь-

ской работы ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» «Оценка эффективности мультисинбиотика (торговая марка “ВедаБиотик”) и лизата пробиотиков с фитокомплексом (торговая марка “Фитоллизат Гастро”) в коррекции дисбиоза и синдрома эндогенной интоксикации у больных лимфопролиферативными заболеваниями».

Вклад авторов

Концепция и дизайн: Т.И. Поспелова, О.В. Сорокин, С.Н. Зинатулин, М.С. Войтко, Н.В. Скворцова.

Сбор и обработка данных: все авторы.

Предоставление материалов исследования: О.В. Сорокин, С.Н. Зинатулин.

Анализ и интерпретация данных: О.В. Сорокин, С.Н. Зинатулин, М.С. Войтко, Н.В. Скворцова, А.А. Коротченко, А.К. Трубникова

Подготовка рукописи: М.С. Войтко, Т.И. Поспелова, О.В. Сорокин, С.Н. Зинатулин.

Окончательное одобрение рукописи: Т.И. Поспелова, О.В. Сорокин

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бондаренко С.Н., Паровичникова Е.Н., Масчан А.А. и др. Блинатумомаб в терапии острого лимфобластного лейкоза: Российское многоцентровое исследование // Клиническая онкогематология. 2019;12(2):145-153. DOI: 10.21320/2500-2139-2019-12-2-145-153.
2. Овечкина В.Н., Бондаренко С.Н., Морозова Е.В. и др. Острый миелобластный лейкоз и миелодиспластический синдром: применение азацитидина с профилактической и превентивной целью после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток // Клиническая онкогематология. 2017;10(1):45-51. DOI: 10.21320/2500-2139-2017-10-1-45-51.
3. Schmid C., Labopin M., Nagler A. et al.; Acute Leukemia Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. Treatment, risk factors, and outcome of adult with relapsed AML after reduced intensity conditioning for allogeneic stem cell transplantation // Blood. 2012;119(6):1599-1606. DOI: 10.1182/blood-2011-08-375840.
4. Christopheit M., Kuss O., Finke J. et al. Second allograft for hematologic relapse of acute leukemia after first allogeneic stem-cell transplantation from related and unrelated donors: the role of donor change // J. Clin. Oncol. 2013;31(26):3259-3271. DOI: 10.1200/jco.2012.44.7961.
5. Kröger N., Stübiger T., Atanackovic D. Immune-modulating drugs and hypomethylating agents to prevent or treat relapse after allogeneic stem cell transplantation // Biol. Blood Marrow Transplant. 2014;20(2):168-172. DOI: 10.1016/j.bbmt.2013.09.009.
6. Никитин Е.А., Шаркунов Н.Н., Маркарян В.Г. и др. Диагностика и лечение лимфомы Ходжкина в практическом здравоохранении: анализ госпитального регистра Городской клинической больницы им. С.П. Боткина // Онкогематология. 2016; 11(3):8-19. DOI: 10.17650/1818-8346-2016-11-3-8-19.
7. Капланов К.Д., Волков Н.П., Клиточенко Т.Ю. и др. Лимфома Ходжкина: результаты анализа данных регионального регистра (Волгоград) // Клиническая онкогематология. 2019; 12(4):363-376. DOI: 10.21320/2500-2139-2019-12-4-363-376.
8. Мочкин Н.Е., Саржевский В.О., Дубинина Ю.Н. и др. Результаты лечения классической лимфомы

REFERENCES

1. Bondarenko S.N., Parovichnikova E.N., Maschan A.A. et al. Blinatumomab in the treatment of acute lymphoblastic leukemia: Russian multicenter clinical trial. *Clinical Oncohematology*. 2019;12(2):145-153. DOI: 10.21320/2500-2139-2019-12-2-145-153. (In Russ.)
2. Ovechkina V.N., Bondarenko S.N., Morozova E.V. et al. Acute myeloblastic leukemia and myelodysplastic syndrome: azacitidine for prophylactic and preventive purposes after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Clinical Oncohematology*. 2017;10(1):45-51. DOI: 10.21320/2500-2139-2017-10-1-45-51. (In Russ.)
3. Schmid C., Labopin M., Nagler A. et al.; Acute Leukemia Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. Treatment, risk factors, and outcome of adult with relapsed AML after reduced intensity conditioning for allogeneic stem cell transplantation. *Blood*. 2012;119(6):1599-1606. DOI: 10.1182/blood-2011-08-375840.
4. Christopheit M., Kuss O., Finke J. et al. Second allograft for hematologic relapse of acute leukemia after first allogeneic stem-cell transplantation from related and unrelated donors: the role of donor change. *J. Clin. Oncol*. 2013;31(26):3259-3271. DOI: 10.1200/jco.2012.44.7961.
5. Kröger N., Stübiger T., Atanackovic D. Immune-modulating drugs and hypomethylating agents to prevent or treat relapse after allogeneic stem cell transplantation. *Biol. Blood Marrow Transplant*. 2014;20(2):168-172. DOI: 10.1016/j.bbmt.2013.09.009.
6. Nikitin E.A., Sharkunov N.N., Markaryan V.G. et al. Treatment patterns, outcomes and long-term toxicity among patients with Hodgkin's lymphoma in real world: results of a hospital based registry. *Oncohematology*. 2016; 11(3):8-19. DOI: 10.17650/1818-8346-2016-11-3-8-19. (In Russ.)
7. Kaplanov K.D., Volkov N.P., Klitochenko T.Yu. et al. Hodgkin's lymphoma: analysis results of Volgograd regional registry. *Clinical Oncohematology*. 2019; 12(4):363-376. DOI: 10.21320/2500-2139-2019-12-4-363-376. (In Russ.)
8. Mochkin N.E., Sarzhevskii V.O., Dubinina Yu.N. et al. Outcome of classical Hodgkin's lymphoma treatment based on high-dose chemotherapy and autologous hematopoietic stem cell transplantation: the experi-

- Ходжкина, включающего высокодозную химиотерапию с трансплантацией аутологичных гемопоэтических стволовых клеток, в НМХЦ им. Н.И. Пирогова // Клиническая онкогематология. 2018;11(3):234-240. DOI: 10.21320/2500-2139-2018-11-3-234-240.
9. Von Treskow B., Kreissl S., Goergen H. et al. Intensive treatment strategies in advanced stage Hodgkin's lymphoma (HD9 and HD12): analysis of long-term survival in two randomised trial // *Lancet Haematol.* 2018;5(10):e462-e473. DOI: 10.1016/S2352-3026(18)30140-6.
 10. Войтко М.С., Пospelova Т.И., Нечунаева И.Н., Шебуняева Я.Ю. Отдаленные результаты лечения пациентов с классической лимфомой Ходжкина в реальной клинической практике: опыт гематологического отделения Новосибирска // Клиническая онкогематология. 2023;16(2):192-199. DOI: 10.21320/2500-2139-2023-16-2-192-199.
 11. Российские клинические рекомендации по диагностике и лечению лимфопролиферативных заболеваний / Рос. проф. общество онкогематологов; Рос. мед. акад. последиплом. образования МЗ РФ; Нац. гематол. общество; под ред. И.В. Поддубной, В.Г. Савченко. М.: Буки Веди, 2018.
 12. Пospelova Т.И., Солдатова Г.С., Пуртова Л.А. и др. Отдаленные последствия противоопухолевой терапии гемобластозов и подходы к реабилитации больных // Гематология и трансфузиология. 2012;57(S3):73-74.
 13. Даниленко А.А. Отдаленные последствия лучевой и химиолучевой терапии первичных больных лимфомой Ходжкина: автореф. дис. ... д-ра мед. наук / Национальный медицинский исследовательский центр радиологии. Обнинск, 2017. 52 с.
 14. Lin Z., Mao D., Jin C. et al. The gut microbiota correlate with the disease characteristics and immune status of patients with untreated diffuse large B-cell lymphoma // *Front. Immunol.* 2023;14:1105293. DOI: 10.3389/fimmu.2023.1105293.
 15. Lu D., Yan J., Liu F. et al. Probiotics in preventing and treating chemotherapy-induced diarrhea: a meta-analysis // *Asia Pac. J. Clin. Nutr.* 2019;28(4):701-710. DOI: 10.6133/apjcn.201912_28(4).0005.
 16. Liu Y.C., Wu C.R., Huang T.W. Preventive effect of probiotics on oral mucositis induced by cancer treatment: a systematic review and meta-analysis // *Int. J. Mol. Sci.* 2022;23(21):13268. DOI: 10.3390/ijms232113268.
 17. Kim Y.J., Yu J., Park S.P. et al. Prevention of radiotherapy induced enteropathy by probiotics (PREP): protocol for a double-blind randomized placebo-controlled trial // *BMC Cancer.* 2021;21(1):1032. DOI: 10.1186/s12885-021-08757-w.
 18. Diefenbach C.S., Peters B.A., Li H. et al. Microbial dysbiosis is associated with aggressive histology and adverse clinical outcome in B-cell non-Hodgkin lymphoma // *Blood Adv.* 2021;5(5):1194-1198. DOI: 10.1182/bloodadvances.2020003129.
 19. Pospelova T.I., Soldatova G.S., Purtova L.A. et al. Long-term results of antitumor therapy for hemoblastoses and approaches to patient rehabilitation. *Hematology and Transfusiology.* 2012;57(S3):73-74. (In Russ.)
 20. Danilenko A.A. (2017). Long-term results of radiation and chemoradiotherapy in primary patients with Hodgkin's lymphoma. Dr. Sci. (Med.) thesis. Obninsk. 52 p. (In Russ.)
 21. Lin Z., Mao D., Jin C. et al. The gut microbiota correlate with the disease characteristics and immune status of patients with untreated diffuse large B-cell lymphoma. *Front. Immunol.* 2023;14:1105293. DOI: 10.3389/fimmu.2023.1105293.
 22. Lu D., Yan J., Liu F. et al. Probiotics in preventing and treating chemotherapy-induced diarrhea: a meta-analysis. *Asia Pac. J. Clin. Nutr.* 2019;28(4):701-710. DOI: 10.6133/apjcn.201912_28(4).0005.
 23. Liu Y.C., Wu C.R., Huang T.W. Preventive effect of probiotics on oral mucositis induced by cancer treatment: a systematic review and meta-analysis. *Int. J. Mol. Sci.* 2022;23(21):13268. DOI: 10.3390/ijms232113268.
 24. Kim Y.J., Yu J., Park S.P. et al. Prevention of radiotherapy induced enteropathy by probiotics (PREP): protocol for a double-blind randomized placebo-controlled trial. *BMC Cancer.* 2021;21(1):1032. DOI: 10.1186/s12885-021-08757-w.
 25. Diefenbach C.S., Peters B.A., Li H. et al. Microbial dysbiosis is associated with aggressive histology and adverse clinical outcome in B-cell non-Hodgkin lymphoma. *Blood Adv.* 2021;5(5):1194-1198. DOI: 10.1182/bloodadvances.2020003129.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Войтко Мария Сергеевна – канд. мед. наук, ассистент кафедры терапии, гематологии и трансфузиологии ФГБОУ ВО «Новосибирский государ-

Maria S. Voitko – Cand. Sci. (Med.), Assistant Professor, Department of Therapy, Hematology and Transfusiology, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0002-5429-4011.

Oleg V. Sorokin – Cand. Sci. (Med.), Executive Director, National Ayurvedic Medical Association; Director Gen-

ственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0002-5429-4011.

Сорокин Олег Викторович – канд. мед. наук, исполнительный директор Национальной Аюрведической Медицинской Ассоциации, генеральный директор ООО «ВедаГенетика», Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0001-7227-4471.

Зинатулин Сергей Накифович – врач-консультант ООО «ВедаГенетика», Новосибирск, Россия.

Скворцова Наталия Валерьевна – д-р мед. наук, доцент кафедры терапии, гематологии и трансфузиологии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет», Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0001-8190-1414.

Коротченко Алена Артемовна – студент 6-го курса ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия.

Трубникова Арина Александровна – студент 4-го курса ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия.

eral, VedaGenetika, LLC, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0001-7227-4471.

Sergey N. Zinatulin – Medical Adviser, VedaGenetika, LLC, Novosibirsk, Russia.

Natalia V. Skvortsova – Dr. Sci. (Med.), Associate Professor, Department of Therapy, Hematology and Transfusiology, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0001-8190-1414.

Alena A. Korotchenko – 6-year Student, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia.

Arina A. Trubnikova – 4-year Student, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia.

Ширина тел шейных позвонков и поперечных отверстий с учетом хода позвоночных артерий и дегенеративно-дистрофических изменений позвоночника

А.С. Мошкин¹, В.Н. Николенко^{2,3}, М.А. Халилов¹

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

²ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России, Москва, Россия

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

АННОТАЦИЯ

Введение. Шейный отдел позвоночника обладает высокой подвижностью и подвержен развитию дегенеративно-дистрофических изменений (ДДИ). Расширение диапазона возможностей клинической диагностики требует активной разработки алгоритмов для специализированных средств анализа информации. Данные об индивидуальной изменчивости скелета востребованы при планировании малоинвазивных хирургических вмешательств. Важной задачей для исследователей стало сопоставление таких наблюдений с данными клинической практики. Изучение анатомической изменчивости актуально при поиске более эффективных способов выполнения нейрохирургических вмешательств.

Цель. Сравнительный анализ поперечных размеров тел шейных позвонков и поперечных отверстий с учетом хода позвоночных артерий (ПА) и проявлений ДДИ позвоночника.

Материалы и методы. Изучены 214 магнитно-резонансных томограмм. Определяли поперечный размер (ширину) тел шейных позвонков и средний поперечный размер (ширину) поперечных отверстий (расстояние между медиальной и латеральной стенками поперечных отверстий). Для оценки пропорциональности отношений между вышеуказанными параметрами рассчитывали среднее отношение ширины поперечных отверстий к поперечному размеру тела соответствующего позвонка. С учетом ДДИ шейного отдела позвоночника и характера хода ПА выделены 4 группы: 1-я группа – без признаков ДДИ и непрямолинейным ходом ПА ($n = 20$); 2-я группа – без признаков ДДИ и прямолинейным ходом ПА ($n = 89$); 3-я группа – с признаками ДДИ и непрямолинейным ходом ПА ($n = 49$); 4-я группа – с признаками ДДИ и прямолинейным ходом ПА ($n = 56$).

Результаты. Ширина поперечных отверстий позвонков С4–С6 различалась при сравнении 1-й и 2-й групп на 0.29–0.78 мм, при сравнении 1-й и 3-й групп – на 0.24–0.58 мм (слева отверстия были шире). Ширина тел позвонков С3, С6, С7 при сравнении 1-й и 4-й групп различалась на 0.8–1.2 мм; позвонков С3, С7 при сравнении 2-й и 3-й групп – на 0.35–0.53 мм. Средние значения отношения ширины поперечных отверстий к ширине тела позвонка во всех группах находились в диапазоне от 0.2 до 0.29. Значимыми были различия для позвонков С4–С6 при сравнении 1-й и 2-й групп; позвонков С4, С6 – 1-й и 3-й групп; позвонков С5, С6 – 1-й и 4-й групп.

Заключение. При диагностике ДДИ позвоночника и различном характере хода ПА достоверные различия были установлены для ширины тел позвонков С6, С7. Значимых различий не было отмечено для ширины тел позвонков в группах, различающихся только характером хода сосудов. В случаях отсутствия ДДИ различия отмечены для ширины поперечных отверстий позвонков С4–С6 и их отношения к ширине тел позвонков. При прямолинейном ходе сосудов статистически значимых различий, связанных с выявлением ДДИ, для позвонков и поперечных отверстий отмечено не было.

Ключевые слова: шейные позвонки, поперечные отверстия, ширина тела позвонка, ширина поперечных отверстий.

Образец цитирования: Мошкин А.С., Николенко В.Н., Халилов М.А. Ширина тел шейных позвонков и поперечных отверстий с учетом хода позвоночных артерий и дегенеративно-дистрофических изменений позвоночника // Journal of Siberian Medical Sciences. 2024;8(4):51-64. DOI: 10.31549/2542-1174-2024-8-4-51-64

Поступила в редакцию 14.02.2024
Прошла рецензирование 11.03.2024
Принята к публикации 25.03.2024

Автор, ответственный за переписку
Мошкин Андрей Сергеевич: ФГБОУ ВО «Орловский государственный университет им. И.С. Тургенева, Минобрнауки России. 302026, г. Орел, ул. Комсомольская, 95.
E-mail: as.moshkin@internet.ru

Received 14.02.2024
Revised 11.03.2024
Accepted 25.03.2024

Corresponding author
Andrey S. Moshkin: Orel State University named after I.S. Turgenev, 95, Komsomolskaya str., Orel, 302026, Russia.
E-mail: as.moshkin@internet.ru

The width of the cervical vertebral bodies and transverse foramina with regard to the course of vertebral arteries and degenerative and dystrophic changes of the spine

A.S. Moshkin¹, V.N. Nikolenko^{2,3}, M.A. Khalilov¹

¹Orel State University named after I.S. Turgenev, Orel, Russia

²Sechenov University, Moscow, Russia

³Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

ABSTRACT

Introduction. The cervical spine has a high mobility and is prone to the development of degenerative and dystrophic changes (DDCH). Expanding the range of clinical diagnostic capabilities requires the active development of algorithms for specialized information analysis tools. Data on individual variability of the skeleton are in demand when planning minimal invasive surgical interventions. The comparison of such information with clinical practice data has become an important task for researchers. The study of anatomical variability is relevant in the search for more effective ways of performing neurosurgical interventions.

Aim. A comparative analysis of transverse dimensions of the cervical vertebral bodies and transverse foramina in relation to the course of the vertebral arteries (VA) and manifestations of spinal DDCH.

Materials and methods. A total of 214 magnetic resonance images were studied. The transverse size (width) of the cervical vertebral bodies and the average transverse size (width) of the transverse foramina (the distance between the medial and lateral walls of the transverse foramina) were determined. To assess the proportionality of the relationship between the abovementioned parameters, the average ratio of the transverse foramen width to the width of the body of the corresponding vertebra was calculated. Considering the DDCH of the cervical spine and the course of VA, 4 groups were identified: 1st group – without signs of DDCH and indirect VA ($n = 20$); 2nd group – without signs of DDCH and direct VA ($n = 89$); 3rd group – with signs of DDCH and indirect VA ($n = 49$); 4th group – with signs of DDCH and direct VA ($n = 56$).

Results. The width of the transverse foramina of the C4–C6 vertebrae differed by 0.29–0.78 mm when comparing the 1st and 2nd groups, by 0.24–0.58 mm when comparing the 1st and 3rd groups (foramina on the left side were wider). The width of the C3, C6, C7 vertebral bodies when comparing the 1st and 4th groups differed by 0.8–1.2 mm; at the level of C3, C7 when comparing the 2nd and 3rd groups – by 0.35–0.53 mm. The mean values of the transverse foramina width/vertebral body width ratio in all groups ranged from 0.2 to 0.29. Significant differences were found for the C4–C6 vertebrae when comparing the 1st and 2nd groups; for the C4, C6 vertebrae – the 1st and 3rd groups; for the C5, C6 vertebrae – the 1st and 4th groups.

Conclusion. In the diagnosis of spinal DDCH and the different course of VA, significant differences were found for the vertebral body width at the level of C6, C7. No significant differences were noted for the vertebral body width in groups differing only in the course of VA. In the absence of DDCH, differences were revealed for the transverse foramina width of the C4–C6 vertebrae and the ratio of the width of transverse foramina to vertebral body width. With the direct course of the vessels, there were no statistically significant differences associated with the detection of DDCH for the vertebrae and transverse foramina.

Keywords: cervical vertebrae, transverse foramina, vertebral body width, width of transverse foramina.

Citation example: Moshkin A.S., Nikolenko V.N., Khalilov M.A. The width of the cervical vertebral bodies and transverse foramina with regard to the course of vertebral arteries and degenerative and dystrophic changes of the spine. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2024;8(4):51-64. DOI: 10.31549/2542-1174-2024-8-4-51-64

ВВЕДЕНИЕ

Шейный отдел позвоночника, являясь наиболее подвижной частью осевого скелета, подвержен развитию дегенеративно-дистрофических изменений, оказывающих значительное влияние на здоровье пациентов. На современном этапе развития инструмен-

INTRODUCTION

The cervical spine, being the most mobile part of the axial skeleton, is prone to developing degenerative and dystrophic changes that have a significant impact on the health of patients. At the current stage of development of clinical diagnostics, it has become to obtain the intravital highly informative diagnostic

тальной диагностики стало доступно получение прижизненных высокоинформативных диагностических изображений [1, 2]. Важным этапом в диагностическом процессе стал анализ взаимного отношения анатомических структур позвоночника. Использование в повседневной клинической практике морфометрии позволяет значительно расширить возможности дифференциальной диагностики [3, 4]. В частности, большое внимание отводится многими авторами изучению вопроса анатомической изменчивости сосудов и роли различных факторов, влияющих на церебральную гемодинамику [5–7]. Широко используется возможность анализировать диапазоны индивидуальной изменчивости костных структур и сопоставлять результаты с общедоступными сведениями, применяя устойчивые анатомические ориентиры [8]. В настоящее время наблюдается расширение диапазона возможностей применения клинических методов в диагностике, ведется активная разработка алгоритмов и специализированных средств анализа получаемой информации. Опираясь на данные об индивидуальной изменчивости, в частности костных структур, активно развиваются малоинвазивные техники хирургических вмешательств [2]. Важной задачей для исследователей становится сопоставление получаемых данных наблюдений с результатами, накопленными в клинической практике. При анализе рентгенограмм ведущая роль отводится оценке вертикальных размеров анатомических структур, для компьютерной и магнитно-резонансной томографии (КТ и МРТ) наиболее ценны изображения в поперечной (аксиальной) плоскости. Сравнение данных морфометрии поперечных размеров позвонков достаточно информативно для различных диагностических методов и позволяет проводить сопоставление данных в клинике [9, 10]. Изучение анатомической изменчивости оказалось одним из важнейших факторов, влияющих на планирование и разработку более эффективных способов выполнения нейрохирургических вмешательств. В настоящее время наблюдается увеличение количества научных работ, в которых указывается, что современная нейрохирургия с применением эндоскопических технологий требует особого, крайне внимательного отношения к вопросам анатомической вариативности и позволяет расширять оперативные доступы, при которых важен каждый дополнительный миллиметр [11].

images [1, 2]. An important milestone in the diagnostic course became the analysis of the mutual relationship of anatomical structures of the spine. The use of morphometry in routine clinical practice significantly expands the possibilities of differential diagnosis [3, 4]. In particular, many authors pay great attention to the study of anatomical variability of vessels and the role of various factors affecting cerebral hemodynamics [5–7]. The ability to analyze the ranges of individual variability in bone structures and compare the results with the available data by applying stable anatomical landmarks is widely used [8]. Currently, there is an expansion of the range of possibilities to apply clinical methods in diagnostics, and active development of algorithms and specialized tools for analysis of the information is underway. Based on the data on individual variability, particularly of bone structures, minimally invasive surgical techniques are being actively developed [2]. It becomes an important task for researchers to compare the data obtained with the results accumulated in clinical practice. When analyzing radiographs, the leading role is given to assessing vertical dimensions of anatomical structures, while for computed tomography and magnetic resonance imaging (CT and MRI), images in the transverse (axial) plane are most valuable. Comparison of morphometry data on vertebral transverse sizes is quite informative for different diagnostic methods and allows comparison of data in clinical practice [9, 10]. The study of anatomical variability has proven to be one of the most important factors influencing the planning and development of more effective ways to perform neurosurgical interventions. Currently, there is an increase in the number of scientific papers showing that modern neurosurgery with the use of endoscopic technologies requires special, extremely careful attention to the issues of anatomical variability and allows to expand surgical accesses in which every additional millimeter is important [11].

AIM OF THE RESEARCH

A comparative analysis of transverse dimensions of the cervical vertebral bodies and transverse foramina in relation to the course of the vertebral arteries and manifestations of degenerative and dystrophic changes of the spine.

MATERIALS AND METHODS

A study was based on the analysis of 214 magnetic resonance images of volunteers aged 18 to 84 years. Diagnostic images were recorded on digital media and were obtained during the examination of patients using conventional methods in T1- and T2-weighted

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Сравнительный анализ поперечных размеров тел шейных позвонков и поперечных отверстий с учетом хода позвоночных артерий и проявлений дегенеративно-дистрофических изменений позвоночника.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проведено на основе анализа 214 магнитно-резонансных томограмм добровольцев в возрасте от 18 до 84 лет. Диагностические изображения были представлены на цифровых носителях и получены в ходе обследования пациентов 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. Анализ томограмм выполнялся с помощью специализированного программного обеспечения Evorad RIS-PACS Workstation 2.1 и Merge Healthcare eFilm Workstation 3.1.0 (Merge Healthcare). Изучение диагностических изображений выполнялось в режиме T2-ВИ (взвешенное изображение). Аксиальные томограммы выполнены при области сканирования 200×200 мм, разрешении 512×512, глубине цвета 16 бит, толщине среза 3 мм (размер пикселя на изображении 0.39×0.39 мм). Сагиттальные и фронтальные томограммы выполнены при области сканирования 240×240 мм, разрешении 512×512, глубине цвета 16 бит, толщине среза 3 мм (размер пикселя на изображении 0.47×0.47 мм). На диагностических изображениях с использованием функций программного обеспечения определяли: 1) поперечный размер (ширину) тел шейных позвонков; 2) средний поперечный размер (ширину) поперечных отверстий (расстояние между медиальной и латеральной стенками поперечных отверстий) (рис. 1). Для оценки пропорциональности отношений между вышеуказанными параметрами рассчитывали среднее отношение ширины поперечных отверстий к поперечному размеру тела соответствующего позвонка. Нами была выбрана оценка поперечных размеров костных структур как способ, позволяющий использовать полученные данные не только для методов МРТ и КТ, но и рентгенографии в прямой проекции.

Полученные данные сгруппированы в таблицы Microsoft Excel 2007 с учетом характера хода позвоночных артерий и выраженности диа-

sequences and STIR sequence in three projections on 1–1.5 T GE Brivo MR355 and Philips Intera MR scanners. The images were analyzed with Evorad RIS-PACS Workstation 2.1 and Merge Healthcare eFilm Workstation 3.1.0 (Merge Healthcare) software. The study of diagnostic images was performed in T2-weighted sequence. Axial images were made with a field of view 200×200 mm, resolution 512×512, color depth 16 bits, and slice thickness 3 mm (pixel size on the image 0.39×0.39 mm). Sagittal and frontal images were performed with a field of view of 240×240 mm, resolution of 512×512, color depth of 16 bits, and slice thickness of 3 mm (pixel size in the image is 0.47×0.47 mm). On the images with the use of software functions, we have determined: 1) the transverse size (width) of the cervical vertebral bodies; 2) the average transverse size (width) of the transverse foramina (the distance between the medial and lateral walls of transverse foramina) (Fig. 1). To assess the proportionality of the relationship between the abovementioned parameters, the average ratio of the transverse foramen width to the transverse body size of the corresponding vertebra was calculated. We have chosen the assessment of the transverse dimensions of bone structures as a method that allows us to evaluate not only obtained MRI and CT images, but also frontal radiographs.

The data obtained were formed into Microsoft Excel 2007 data sheets considering the course of the vertebral arteries and the severity of the diagnosed degenerative and dystrophic changes at the level of the cervical spine.

Statistical analysis was performed with the IBM SPSS Statistics 20 and StatSoft Statistica 10 programs. The normality of distribution of quantitative variables was assessed using Kolmogorov-Smirnov and Shapiro-Wilk tests with the construction of histograms and distribution plots. As a result, the normal distribution was confirmed for all variables. Based on this, the mean value (M), error of the mean (m), standard deviation (σ) and coefficient of variation (CV, %) were determined for all parameters. The assessment of significance of differences between the studied variables was confirmed with the one-sample Student's *t*-test (the critical level of significance at $p \leq 0.05$).

In the analysis of the images, a direct course of the vertebral arteries was in 145 cases, indirect – in 69 cases (Fig. 2).

The structure of the vertebral bodies and intervertebral discs was also assessed according to the I.P. Thompson classification, 1990. In 109 cases, no significant degenerative and dystrophic changes of

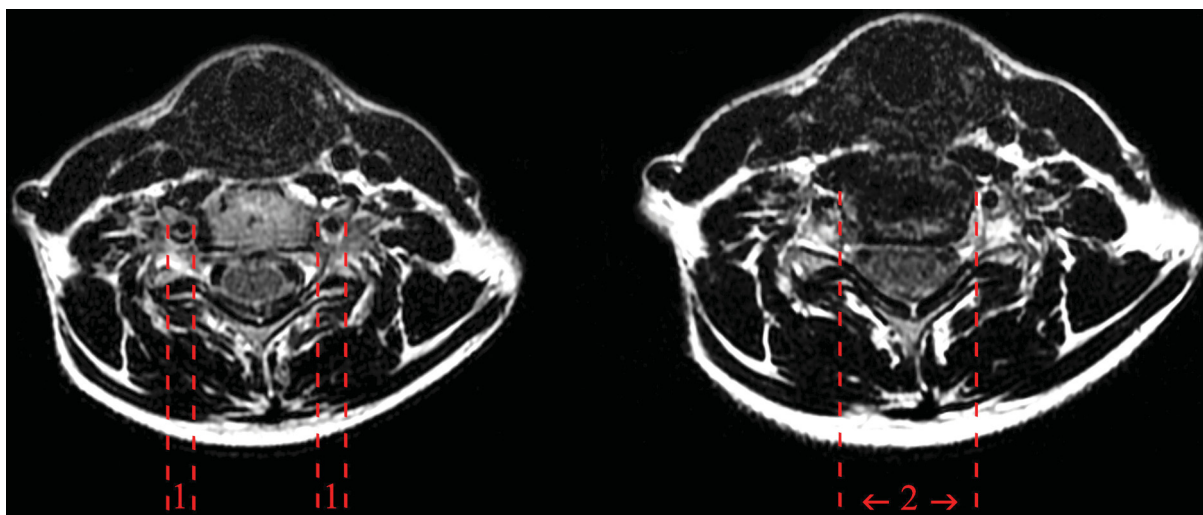


Рис. 1. Ориентиры, используемые при выполнении измерений, на магнитно-резонансной томограмме в аксиальной (поперечной) плоскости (женщина 50 лет, визуализация на уровне позвонка С6, режим Т2-ВИ)
(1 – ширина поперечных отверстий; 2 – ширина тела позвонка)

Fig. 1. Landmarks used for measurements on the magnetic resonance image in the axial (transverse) plane (50-year-old woman, visualization at the level of the C6 vertebra, T2-weighted sequence)
(1 – width of the transverse foramina; 2 – vertebral body width)

гностированных дегенеративно-дистрофических изменений на уровне шейного отдела позвоночника.

Статистический анализ выполнялся с использованием программ IBM SPSS Statistics 20 и StatSoft Statistica 10. Нормальность распределения количественных признаков оценивали с помощью критериев Колмогорова – Смирнова и Шапиро – Уилка с построением гистограмм и графиков распределения. В результате было подтверждено нормальное распределение для всех показателей в наблюдении. Исходя из этого для всех оцениваемых значений определялось среднее значение (M), ошибка среднего (m), стандартное отклонение (σ) и коэффициент вариации ($CV, \%$). Оценка значимости различий изучаемых признаков подтверждена расчетами одновыборочного t -критерия Стьюдента (критический уровень значимости для всех оцениваемых характеристик $p \leq 0.05$).

При анализе томограмм в 145 наблюдениях отмечен прямолинейный ход позвоночной артерии; в 69 случаях – непрямолинейный ход этого сосуда (рис. 2).

Также проводилась оценка структуры тел позвонков и межпозвоночных дисков по классификации I.P. Thompson et al., 1990. В 109 случаях на томограммах не было выраженных дегенеративно-дистрофических изменений позвоночника. В этой группе высота межпозвоночных дисков и сигналы от них в режиме Т2 были не

такие, как были в контрольной группе. В этой группе, высота межпозвоночных дисков и их сигналы в Т2 режиме не снижались, их структура соответствовала Thompson I–II, края тел позвонков были четкими и ровными. На остальных 105 изображениях, остеохондроз-связанные изменения в межпозвоночных дисках и телах позвонков были выявлены. Диагностические изображения показали значительные изменения в виде снижения интенсивности сигнала от межпозвоночных дисков и их высоты (Thompson III–V), спондилоз, структурные изменения в области тел позвонков, изменения в сигналах от тел позвонков (рис. 3).

Таким образом, учитывая выявление дегенеративных и дистрофических изменений и характер течения позвоночных артерий, были выделены четыре группы в исследовании:

1-я группа – отсутствие значительных изменений в шейном отделе позвоночника в сочетании с косвенными позвоночными артериями ($n = 20$);

2-я группа – отсутствие значительных изменений в шейном отделе позвоночника в сочетании с прямыми позвоночными артериями ($n = 89$);

3-я группа – значительные дегенеративные и дистрофические изменения в шейном отделе позвоночника в сочетании с косвенными позвоночными артериями ($n = 49$);

4-я группа – значительные дегенеративные и дистрофические изменения в шейном отделе позвоночника в сочетании с прямыми позвоночными артериями ($n = 56$).

Данные о возрасте добровольцев в исследовании представлены в таблице 1.

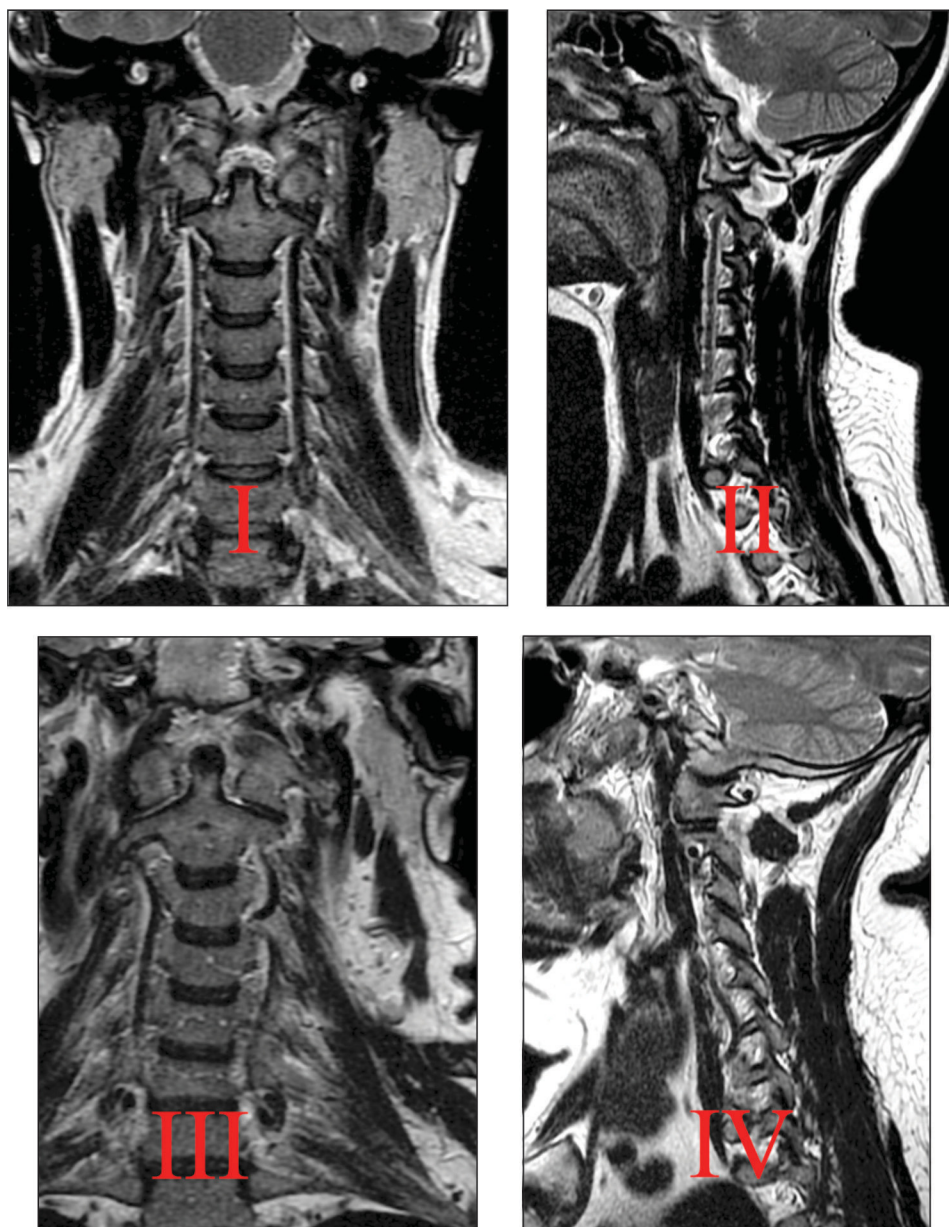


Рис. 2. Характер хода позвоночных артерий на магнитно-резонансных томограммах в сагиттальной и фронтальной плоскостях:

I, II – прямолинейный ход (женщина 27 лет, T2-ВИ): I – во фронтальной плоскости; II – в сагиттальной плоскости; III, IV – непрямолинейный ход (мужчина 40 лет, T2-ВИ): III – во фронтальной плоскости; IV – в сагиттальной плоскости

Fig. 2. The course of the vertebral arteries on the magnetic resonance images in the sagittal and frontal planes: I, II – direct (27-year-old woman, T2-weighted sequence): I – in the frontal plane; II – in the sagittal plane; III, IV – indirect (40-year-old man, T2-weighted sequence): III – in the frontal plane; IV – in the sagittal plane

снижены, структура их соответствовала I–II степени по классификации Thompson, края тел позвонков четкие, ровные. На других 105 томограммах были выявлены изменения межпозвоночных дисков и тел позвонков вследствие остеохондроза. На диагностических изображениях были выраженные изменения в виде снижения

RESULTS

The width of the transverse foramina was determined at the level of the C2–C7 cervical vertebrae (Table 2).

When comparing the width of the transverse foramina in groups 2 and 3, as well as in groups 3 and 4, no statistically significant differences were

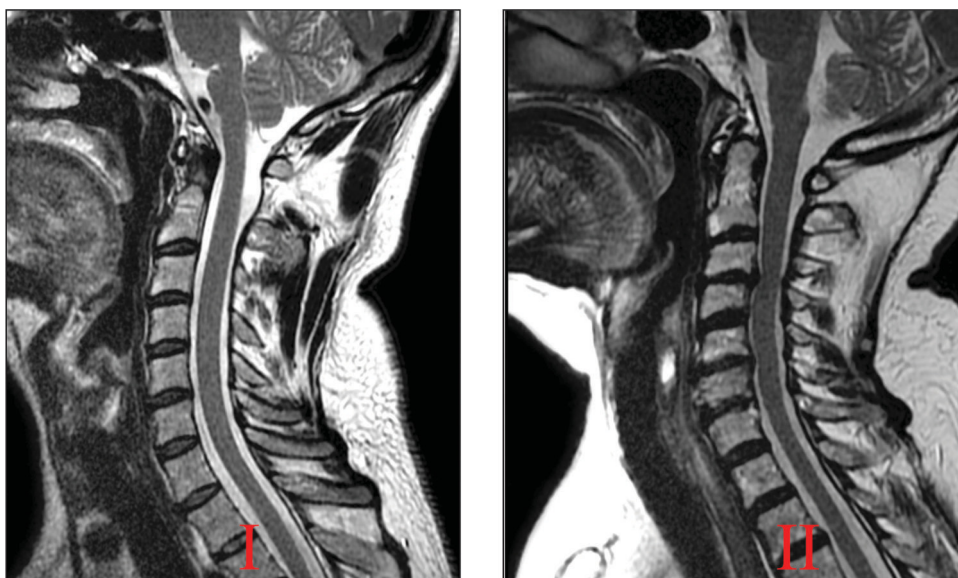


Рис. 3. Оценка значимости изменений в шейном отделе позвоночника на магнитно-резонансных томограммах в сагиттальной плоскости (T2-ВИ):

I – без значимо выраженных изменений в шейном отделе позвоночника (мужчина 27 лет); II – признаки выраженных дегенеративно-дистрофических изменений в шейном отделе позвоночника (женщина 79 лет)

Fig. 3. Assessment of the significance of changes in the cervical spine on the magnetic resonance images in the sagittal plane (T2-weighted sequence):

I – no significant changes in the cervical spine (27-year-old man); II – signs of significant degenerative and dystrophic changes in the cervical spine (79-year-old woman)

интенсивности сигналов от межпозвоночных дисков и их высоты (III–V степень по Thompson), явления спондилеза, структурные изменения в области замыкательных пластин, изменения сигналов от структур тел позвонков (рис. 3).

Таким образом, с учетом выявления дегенеративно-дистрофических изменений и характера хода позвоночных артерий были выделены четыре группы в исследовании:

1-я группа – отсутствие выраженных изменений в шейном отделе позвоночника в сочетании с непрямолинейным ходом позвоночных артерий ($n = 20$);

2-я группа – отсутствие выраженных изменений в шейном отделе позвоночника в сочетании с прямолинейным ходом позвоночных артерий ($n = 89$);

3-я группа – выраженные дегенеративно-дистрофические изменения в шейном отделе позвоночника в сочетании с непрямолинейным ходом позвоночных артерий ($n = 49$);

4-я группа – выраженные дегенеративно-дистрофические изменения в шейном отделе позвоночника в сочетании с прямолинейным ходом позвоночных артерий ($n = 56$).

Данные по возрасту добровольцев в группах исследования представлены в табл. 1.

registered ($p > 0.05$). The parameter of interest differed at the level of C4–C6 vertebrae between groups 1 and 2 ($p = 0.07–0.001$), with the difference between the mean values being 0.29–0.78 mm (the foramina on the left were 0.26–0.58 mm wider). Differences in the sizes of the C4–C6 vertebrae in the groups 1 and 3 ($p = 0.05–0.048$) averaged 0.24–0.58 mm (on the left, the foramina sizes were 0.2–0.37 mm larger than on the right). At the level of C5, differences were found when comparing the 1st and 4th groups ($p = 0.021$) with a difference in mean values of 0.32 mm (on the left, the width of the foramina was 0.48 mm larger); at the level of C4, when comparing groups 2 and 4 ($p = 0.049$), the difference between the mean values was 0.67 mm (the foramina on the left were 0.41 mm wider). In all groups, the mean sizes of the transverse foramina on the right were smaller than on the left.

The results of the vertebral body width measurements are presented in Table 3. The width of the vertebral bodies in the 1st and 2nd groups, as well as in the 3rd and 4th groups did not differ ($p > 0.05$). Significant differences were noted for the C2 and C3 vertebrae ($p = 0.011–0.033$) when comparing groups 1 and 3, the difference between the mean values was 0.1–0.47 mm. The parameter value for the C3, C6 and C7 vertebrae differed when comparing the

Таблица 1. Возраст участников в группах исследования
Table 1. Age of participants in the study groups

Статистический показатель Statistical indicator	1-я группа 1st group (n = 20)	2-я группа 2nd group (n = 89)	3-я группа 3rd group (n = 49)	4-я группа 4th group (n = 56)
M ± m, лет / years	36.1 ± 9.7	32.8 ± 7.8	54.3 ± 11.2	47.8 ± 10.1
σ, лет / years	13.1	10.1	14.3	12.5
CV, %	36.2	30.8	26.3	26.2

РЕЗУЛЬТАТЫ

Ширину поперечных отверстий определяли на уровне шейных позвонков С2–С7 (табл. 2).

При сравнении ширины поперечных отверстий 2-й и 3-й, а также 3-й и 4-й групп статистически значимые различия отсутствуют ($p > 0.05$). Изученный параметр различался на уровне позвонков С4–С6 между 1-й и 2-й группами ($p = 0.07–0.001$), при этом разница между средними значениями составила 0.29–0.78 мм (слева отверстия были на 0.26–0.58 мм шире). Различия размеров позвонков С4–С6 1-й и 3-й групп ($p = 0.05–0.048$) составили в среднем 0.24–0.58 мм (слева размеры отверстий были на 0.2–0.37 мм больше, чем справа). На уровне позвонка С5 различия были отмечены при сравнении 1-й и 4-й групп ($p = 0.021$) при разнице между средними значениями 0.32 мм (слева ширина отверстий была на 0.48 мм больше); на уровне позвонка С4 – при сравнении 2-й и 4-й групп ($p = 0.049$) с

groups 1 and 4 ($p = 0.01–0.04$) (differences from 0.8 to 1.2 mm); for the C3 and C7 vertebrae, when comparing groups 2 and 3 ($p = 0.04–0.035$), the mean values differed by 0.35–0.53 mm.

An assessment of the proportionality of the relationship between the morphometric characteristics of various structures is necessary for a comprehensive analysis, since these relationships reflect the influence of deformation factors on the vertebral anatomy. Therefore, the next stage of our study was to calculate the ratio of the transverse foramina width to the width of the bodies of the corresponding vertebrae (Table 4).

When comparing the proportional ratios between the groups 2 and 3, 2 and 4, 3 and 4, no differences were found ($p > 0.05$). Statistically significant differences were noted for the C4–C6 vertebrae when comparing the 1st and 2nd groups ($p = 0.003–0.035$); for the C4, C6 vertebrae – when comparing the 1st and 3rd groups ($p = 0.023–0.048$); for the

Таблица 2. Ширина поперечных отверстий шейных позвонков в группах исследования
Table 2. The width of the transverse foramina of the cervical vertebrae in the study groups

Позвонок Vertebra	Статистический показатель Statistical indicator	1-я группа 1st group (n = 20)	2-я группа 2nd group (n = 89)	3-я группа 3rd group (n = 49)	4-я группа 4th group (n = 56)
C7	M ± m, мм / mm	5.31 ± 0.64	5.65 ± 0.83	5.77 ± 1.28	5.89 ± 1.09
	σ, мм / mm	0.81	1.06	1.57	1.42
	CV, %	15.27	18.79	27.19	24.09
C6	M ± m, мм / mm	6.35 ± 0.87	6.06 ± 1.02	6.11 ± 0.99	6.24 ± 1.06
	σ, мм / mm	1.18	1.33	1.47	1.49
	CV, %	18.52	22.01	24.0	23.89
C5	M ± m, мм / mm	6.44 ± 1.07	5.82 ± 0.66	5.91 ± 0.68	6.12 ± 0.76
	σ, мм / mm	1.26	0.81	0.88	0.76
	CV, %	19.58	13.88	14.93	15.51
C4	M ± m, мм / mm	6.67 ± 0.89	5.89 ± 0.59	6.09 ± 0.80	6.00 ± 0.80
	σ, мм / mm	1.04	0.73	1.06	0.80
	CV, %	15.57	12.46	17.38	18.89
C3	M ± m, мм / mm	6.48 ± 1.11	5.89 ± 0.63	5.92 ± 0.60	6.18 ± 0.79
	σ, мм / mm	1.52	0.97	0.80	1.03
	CV, %	23.38	16.42	13.59	16.60
C2	M ± m, мм / mm	6.80 ± 0.77	6.52 ± 0.83	6.48 ± 0.75	6.80 ± 0.80
	σ, мм / mm	0.98	1.06	0.98	1.05
	CV, %	14.41	16.33	15.08	15.42

Таблица 3. Ширина тел позвонков в группах исследования
Table 3. The width of the vertebral bodies in the study groups

Позвонки Vertebra	Статистический показатель Statistical indicator	1-я группа 1st group (n = 20)	2-я группа 2nd group (n = 89)	3-я группа 3rd group (n = 49)	4-я группа 4th group (n = 56)
C7	M ± m, мм / mm	25.99 ± 1.64	26.70 ± 1.42	27.05 ± 1.46	26.79 ± 1.84
	σ, мм / mm	2.02	1.85	1.75	2.34
	CV, %	7.77	6.94	6.48	8.75
C6	M ± m, мм / mm	25.00 ± 1.2	25.55 ± 1.36	26.2 ± 1.48	26.03 ± 1.52
	σ, мм / mm	1.46	1.65	1.82	2.02
	CV, %	5.83	6.46	6.96	7.74
C5	M ± m, мм / mm	24.86 ± 1.31	25.22 ± 1.38	25.38 ± 1.47	25.80 ± 1.51
	σ, мм / mm	1.95	1.71	1.94	1.92
	CV, %	7.84	6.79	7.65	7.45
C4	M ± m, мм / mm	24.47 ± 0.84	24.82 ± 1.41	24.62 ± 1.35	25.03 ± 1.45
	σ, мм / mm	1.21	1.75	1.60	1.93
	CV, %	4.94	7.06	6.49	7.73
C3	M ± m, мм / mm	23.50 ± 1.32	24.50 ± 1.43	23.97 ± 1.23	24.70 ± 1.44
	σ, мм / mm	1.70	1.70	1.49	1.99
	CV, %	7.23	6.95	6.20	8.05
C2	M ± m, мм / mm	23.02 ± 1.04	23.74 ± 1.41	23.12 ± 1.34	24.21 ± 1.39
	σ, мм / mm	1.33	1.74	1.53	1.80
	CV, %	5.76	7.32	6.62	7.45

разницей средних значений 0.67 мм (слева отверстия были на 0.41 мм шире). Во всех группах средние размеры поперечных отверстий справа были меньше, чем слева.

Результаты измерения ширины тел позвонков представлены в табл. 3. Ширина тел позвонков в 1-й и 2-й группах, а также в 3-й и 4-й группах не различалась ($p > 0.05$). Значимые различия отмечены для позвонков C2 и C3 ($p = 0.011-0.033$) при сравнении 1-й и 3-й групп, разница между средними значениями составляла 0.1–0.47 мм. Величина параметра для позвонков C3, C6, C7 различается при сравнении 1-й и 4-й групп ($p = 0.01-0.04$) (различия от 0.8 до 1.2 мм), для позвонков C3 и C7 при сравнении 2-й и 3-й групп ($p = 0.04-0.035$) средние значения отличались на 0.35–0.53 мм.

Оценка пропорциональности отношений между морфометрическими характеристиками различных структур необходима для комплексного анализа, поскольку эти отношения отражают влияние деформационных факторов на анатомию позвонков. Поэтому следующим этапом нашего исследования был расчет отношения ширины поперечных отверстий к ширине тел соответствующих позвонков (табл. 4).

При сравнении пропорциональных отношений между 2-й и 3-й, 2-й и 4-й, 3-й и 4-й группами различий не отмечено ($p > 0.05$). Статисти-

C5, C6 vertebrae – when comparing the 1st and 4th groups ($p = 0.011-0.049$). The mean values of the ratios in all groups ranged from 0.2 to 0.29.

DISCUSSION

The indirect course of the vertebral arteries, which can be associated with both spinal abnormalities [4, 9] and progressing degenerative and dystrophic changes [1, 6], remains an urgent issue for modern medical practice due to the possible effect on cerebral hemodynamics. The morphological studies of the cervical vertebrae show the significant anatomical variability in different national groups [12–15]. The authors presented the results of studying individual vertebrae from the morphological collections of national educational institutions, which makes it possible to evaluate bone structures with the greatest accuracy and in depth, but without their association with clinical data. It should be noted that lifestyle changes the redistribution of functional load experienced by various segments of the spinal column, which inevitably influences human health and adaptive abilities [3]. The complex of clinical tasks resulting from the progressing degenerative and dystrophic changes in combination with the vascular bed variability has to be solved by specialists of various profiles [8].

This study complements the available data on assessing the size of the of the cervical spine structures using MRI [10, 11] and CT [2, 9, 16]. The results

Таблица 4. Отношение ширины поперечных отверстий к ширине тел позвонков
Table 4. The ratio of the transverse foramina width to the vertebral body width

Позвонок Vertebra	Статистический показатель Statistical indicator	1-я группа 1st group (n = 20)	2-я группа 2nd group (n = 89)	3-я группа 3rd group (n = 49)	4-я группа 4th group (n = 56)
C7	M ± m	0.20 ± 0.02	0.21 ± 0.03	0.21 ± 0.05	0.22 ± 0.04
	σ	0.03	0.04	0.06	0.06
	CV, %	13.83	20.10	28.15	26.41
C6	M ± m	0.25 ± 0.03	0.24 ± 0.04	0.23 ± 0.04	0.24 ± 0.04
	σ	0.04	0.05	0.06	0.06
	CV, %	17.00	22.68	24.97	25.40
C5	M ± m	0.26 ± 0.05	0.23 ± 0.03	0.23 ± 0.03	0.24 ± 0.03
	σ	0.06	0.03	0.04	0.04
	CV, %	22.32	14.39	18.93	16.61
C4	M ± m	0.27 ± 0.04	0.24 ± 0.03	0.25 ± 0.04	0.24 ± 0.03
	σ	0.05	0.03	0.05	0.05
	CV, %	16.95	13.20	20.60	19.93
C3	M ± m	0.28 ± 0.05	0.24 ± 0.03	0.25 ± 0.03	0.25 ± 0.03
	σ	0.07	0.04	0.04	0.04
	CV, %	25.01	17.23	15.06	17.15
C2	M ± m	0.29 ± 0.03	0.28 ± 0.04	0.28 ± 0.04	0.28 ± 0.04
	σ	0.04	0.05	0.05	0.05
	CV, %	11.98	17.40	16.01	17.47

чески значимые различия отмечены для позвонков C4–C6 при сравнении 1-й и 2-й группы ($p = 0.003–0.035$); для позвонков C4, C6 – при сравнении 1-й и 3-й группы ($p = 0.023–0.048$); для позвонков C5, C6 при сравнении 1-й и 4-й группы ($p = 0.011–0.049$). Средние значения коэффициентов во всех группах находились в диапазоне от 0.2 до 0.29.

ОБСУЖДЕНИЕ

Непрямолинейность хода позвоночных артерий, которая может быть связана как с аномалиями позвоночника [4, 9], так и с прогрессированием дегенеративно-дистрофических изменений [1, 6], остается актуальным вопросом для современной медицинской практики в связи с возможным влиянием на церебральную гемодинамику. Морфологические исследования шейных позвонков демонстрируют значительную анатомическую вариативность в различных национальных группах [12–15]. Авторы представили результаты изучения отдельных позвонков из морфологических коллекций национальных образовательных учреждений, что позволяет оценивать костные структуры с наибольшей точностью и детализацией, но при этом без их связи с клиническими данными. Следует отметить, что изменение образа жизни отражается на перераспределении функциональной

demonstrated by Nell et al. [17] were similar to ours which were obtained for the cervical vertebral bodies using CT data. The authors pointed to the larger sizes of the vertebral bodies of C6, C7. Remes et al. [18] evaluated the structure of the cervical spine in children and adults under the age of 39 years. The authors focused on the proportionality of vertebral growth, the dynamics of changes in the ratios of the width of the spinal canal based on the analysis of radiographs. Chazono et al. [16] studied ethnic differences in the morphometric characteristics of the cervical vertebrae analyzing literature data obtained with CT. The authors identified certain patterns in the proportional relationships of the sizes of the vertebral bodies and the highest values for the C6, C7 vertebrae. Tuncer et al. [2] studied a role of the anatomical variability of the transverse foramina when planning fixation surgeries based on CT data.

In our work, we tried to clarify data on the morphometry of vertebral bodies, transverse foramina in the absence and presence of signs of degenerative and dystrophic changes at the level of the cervical spine, considering differences in the course of the vessels. The results of the study showed the large sizes of the C6, C7 vertebral bodies, the larger width of the transverse foramina on the left side, statistically significant differences in morphometric characteristics for the studied parameters between the groups with degenerative and dystrophic changes,

нагрузки, испытываемой различными сегментами позвоночного столба, что неизбежно влияет на состояние здоровья и адаптационные способности человека [3]. Комплекс клинических задач, обусловленных прогрессированием дегенеративно-дистрофических изменений в сочетании с изменчивостью сосудистого русла, приходится решать специалистам различного профиля [8].

Настоящее исследование дополняет имеющиеся данные по оценке размеров структур шейного отдела позвоночника на основе МРТ [10, 11] и КТ [2, 9, 16]. С. Nell et al. [17] приводят близкие нашим результаты, которые были получены для тел шейных позвонков по данным КТ. Авторы отмечали большие размеры тел позвонков С6, С7. V.M. Remes et al. [18] оценили структуру шейного отдела позвоночника у детей и взрослых в возрасте до 39 лет. Авторы акцентировали внимание на пропорциональности роста позвонков, динамике изменений отношений ширины позвоночного канала на основе анализа рентгенограмм. М. Chazono et al. [16] изучили этнические различия морфометрических характеристик шейных позвонков по данным литературы, используя данные КТ. Авторы выявили закономерности в пропорциональных отношениях размеров тел позвонков и наибольшие значения для позвонков С6, С7. I. Tuncer et al. изучали значение анатомической вариативности поперечных отверстий при планировании стабилизирующих оперативных вмешательств на основании данных КТ [2].

В своей работе мы постарались уточнить сведения о морфометрии тел позвонков, поперечных отверстий при отсутствии и наличии признаков дегенеративно-дистрофических изменений на уровне шейного отдела позвоночника с учетом различий в характере хода сосудов. Результаты исследования продемонстрировали большие размеры тел позвонков С6, С7, большую ширину поперечных отверстий слева, статистически значимые различия морфометрических характеристик для изучаемых показателей между группами при развитии дегенеративно-дистрофических изменений и различном характере хода сосудов. Были выявлены статистически значимые различия для ширины тел позвонков С3, С6, С7, а также достоверные различия для ширины поперечных отверстий позвонков С4–С6 с большими значениями в случаях отсутствия значимых изменений шейного отдела позвоночника и меньшей шириной отверстий справа.

and different course of the vessels. Statistically significant differences were found for the width of the C3, C6, and C7 vertebral bodies, as well as significant differences for the width of transverse foramina of the C4–C6 vertebrae with the large values in the absence of significant changes in the cervical spine and a smaller foramen width on the right.

Statistically significant differences for the vertebral foramen width/ vertebral body size ratios were recorded for the C4–C6 vertebrae without signs of degenerative and dystrophic changes, but with different pattern of the artery course. Statistically significant differences were established for the C4, C6 vertebrae in cases of indirect course of vessels. Differences between the size ratios of the C5, C6 vertebrae were also significant when comparing the group without signs of degeneration in the cervical spine and the indirect course of vessels with the group, characterized by degenerative and dystrophic changes and the direct course of vessels.

Non-obvious statistically significant patterns in assessing the sizes of the cervical spine bone structures are important when searching for objective information for a biomechanical assessment of the functional load redistribution, identifying the areas most susceptible to change. The collection and analysis of morphometric characteristics of vertebrae can serve as a basis for evaluating the possibilities of minimally invasive and microsurgical interventions in neurosurgery [11].

CONCLUSION

In the diagnosis of degenerative and dystrophic changes in the cervical spine and the different course of the vessels at the cervical spine, significant differences were revealed only for the width of the vertebral bodies C6, C7. No statistically significant differences were found for the width of the vertebral bodies in groups which were notable for the vessel course pattern only. When comparing the results of the participants with the direct vertebral arteries in diagnosis of degenerative and dystrophic changes in the cervical spine, significant differences were determined for the width of the vertebral bodies C2, C3. In the absence of significant changes in the cervical spine, statistically significant differences were found for the width of transverse foramina of the C4–C6 vertebrae, and the ratio of their width to the width of corresponding vertebral bodies. In the direct course of the vessels, no statistically significant differences associated with the degenerative and dystrophic changes were revealed in the morphometric characteristics of the vertebral bodies and transverse foramina.

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

Статистически значимые различия для пропорциональных отношений между шириной позвоночных отверстий и размером тел позвонков были отмечены для позвонков С4–С6 при отсутствии признаков дегенеративно-дистрофических изменений, но при различном характере хода сосудов. При непрямолинейном прохождении сосудов статистически значимые различия были установлены для позвонков С4, С6. Также значимыми оказались различия между отношениями размеров позвонков С5, С6 при сравнении группы без признаков изменений шейного отдела позвоночника и непрямолинейным ходом сосудов с группой с дегенеративно-дистрофическими изменениями и прямолинейным ходом сосудов.

Неявно выраженные статистически значимые закономерности при оценке размеров костных структур шейного отдела позвоночника важны при поиске объективных сведений для биомеханической оценки перераспределения функциональной нагрузки, выявления наиболее подверженных изменениям областей. Сбор и анализ морфометрических характеристик позвонков может служить основой для оценки возможностей применения малоинвазивных и микрохирургических оперативных вмешательств в нейрохирургии [11].

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абрамов А.С., Терновой С.К., Серова Н.С. Возможности рентгеновских методов диагностики в оценке нестабильности позвоночно-двигательных сегментов шейного отдела позвоночника // Современные проблемы науки и образования. 2019;3:184.
2. Tuncer I., Alkan E. Morphometric study of cervical spinal canal and transverse foramen diameter using computed tomography: Sex difference and relationship to age in Turkish population // *Medicine (Baltimore)*. 2023;102(49):e36155. DOI: 10.1097/MD.00000000000036155.
3. Алексеенко С.Н., Костылев А.Н., Бондина В.М. и др. Распространенность раннего шейного остеохондроза у студентов в вузе и его влияние на адаптационные возможности организма // Кубанский научный медицинский вестник. 2019;26(1):36-44. DOI: 10.25207/1608-6228-2019-26-1-36-44.
4. Яхьяева С.А., Гарабова Н.И., Буржунова М.Г. Конкресценция шейных позвонков и неврологические осложнения // Вестник неврологии, психиатрии и нейрохирургии. 2021;3:195-201. DOI: 10.33920/med-01-2103-03.
5. 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.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При диагностике дегенеративно-дистрофических изменений шейного отдела позвоночника и различном характере хода сосудов шейного отдела позвоночника достоверные различия были отмечены только для ширины тел позвонков С6, С7. Статистически значимых различий не было выявлено для ширины тел позвонков в группах, различающихся только характером хода сосудов. При сравнении результатов обследования участников с непрямолинейным ходом сосудов при определении дегенеративно-дистрофических изменений шейного отдела позвоночника определялись значимые различия для ширины тел позвонков С2, С3. В случаях отсутствия выраженных изменений шейного отдела позвоночника статистически достоверные различия установлены для ширины поперечных отверстий позвонков С4–С6 и их отношения к ширине тел позвонков. При прямолинейном ходе сосудов статистически значимых различий, связанных с выявлением дегенеративно-дистрофических изменений, в морфометрических характеристиках тел позвонков и поперечных отверстий отмечено не было.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

REFERENCES

1. Abramov A.S., Ternovoy S.K., Serova N.S. Possibilities of the methods of radiation diagnostics in the estimation of cervical spine vertebral-motor segment instability. *Modern Problems of Science and Education*. 2019;3:184. (In Russ.)
2. Tuncer I., Alkan E. Morphometric study of cervical spinal canal and transverse foramen diameter using computed tomography: Sex difference and relationship to age in Turkish population. *Medicine (Baltimore)*. 2023;102(49):e36155. DOI: 10.1097/MD.00000000000036155.
3. Alekseenko S.N., Kostylev A.N., Bondina V.M. et al. Prevalence of early cervical osteochondrosis in university students and its effect on the adaptive capabilities of the organism. *Kubanskii Nauchnyi Meditsinskii Vestnik*. 2019;26(1):36-44. DOI: 10.25207/1608-6228-2019-26-1-36-44. (In Russ.)
4. Yakhyayeva 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.)
5. Gavrilenko A.V., Nikolenko V.N., Al-Yusef N.N. et al. Correlation between morphological and biomechanical 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.)

6. Николенко В.Н., Фомкина О.А., Гладиллин Ю.А. Анатомия внутричерепных артерий вертебробазилярной системы. М.: Первый Сеченовский Университет, 2014. 108 с.
7. 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.
8. Демьянова Л.М., Гуркина О.В. Остеохондроз шейного отдела позвоночника: основы профилактики и лечения // Аллея науки. 2018; 5(5(21)):334-338.
9. Tuncel Çini N., Nalla S., Mata-Escolano F. et al. Double transverse foramina – an anatomical basis for possible vertebrobasilar insufficiency risk and vertebral artery injury // *Diagnostics (Basel)*. 2023;13(19):3029. DOI: 10.3390/diagnostics13193029.
10. Omami G. Foramen transversarium enlargement caused by vertebral artery tortuosity: Diagnosis with cone-beam computed tomography and magnetic resonance angiography // *Imag. Sci. Dent.* 2021;51(3):329-332. DOI: 10.5624/isd.20210003.
11. Shkarubo A.N., Nikolenko V.N., Chernov I.V. et al. Anatomical aspects of the transnasal endoscopic access to the craniovertebral junction // *World Neurosurgery*. 2020;133:e293-e302. DOI: 10.1016/j.wneu.2019.09.011.
12. Chaityamoon A., Yannasithinon S., Sae-Jung S. et al. Anatomical variation and morphometric study on foramen transversarium of the upper cervical vertebrae in the Thai population // *Asian Spine J.* 2021;15(5):557-565. DOI: 10.31616/asj.2020.0406.
13. Zaw A.K., Olojede S.O., Lawal S.K. et al. Preliminary study on foramen transversarium of typical cervical vertebrae in KwaZulu-Natal population: age and gender related changes // *Transl. Res. Anat.* 2020;22:100099. DOI: 10.1016/j.tria.2020.100099.
14. Ulusoy M., Bolatli G., Acar S., Zararsiz I. Anatomical variations in foramen transversarium // *EJMI*. 2020;4(3):312-314. DOI: 10.14744/ejmi.2019.15468.
15. Akbulut Y., Karaka Ş., Tanir A.B. et al. Morphometric analysis and incidence of accessory foramen transversarium in a population in Eastern Turkey // *Int. J. Med. Sci. Clin. Res. Stud.* 2023;3(9):2075-2079. DOI: 10.47191/ijmscrs/v3-i9-48.
16. Chazono M., Tanaka T., Kumagae Y. et al. Ethnic differences in pedicle and bony spinal canal dimensions calculated from computed tomography of the cervical spine: A review of the English-language literature // *Eur. Spine J.* 2012;21(8):1451-1458. DOI: 10.1007/s00586-012-2295-y.
17. Nell C., Bülow R., Hosten N. et al. Reference values for the cervical spinal canal and the vertebral bodies by MRI in a general population // *PLoS One*. 2019;14(9):e0222682. DOI: 10.1371/journal.pone.0222682.
18. Remes V.M., Heinänen M.T., Kinnunen J.S., Marttinen E.J. Reference values for radiological evaluation of cervical vertebral body shape and spinal canal // *Pediatr. Radiol.* 2000;30(3):190-195. DOI: 10.1007/s002470050044.
6. Nikolenko V.N., Fomkina O.A., Gladilin Yu.A. (2014). *The Anatomy of Intracranial Arteries of the Vertebrobasilar System*. Moscow: First Sechenov University. 108 p. (In Russ.)
7. 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. (In Russ.)
8. Demyanova L.M., Gurkina O.V. Osteochondrosis of the cervical spine: Fundamentals of prevention and treatment. *Alley of Science*. 2018; 5(5(21)):334-338. (In Russ.)
9. Tuncel Çini N., Nalla S., Mata-Escolano F. et al. Double transverse foramina – an anatomical basis for possible vertebrobasilar insufficiency risk and vertebral artery injury. *Diagnostics (Basel)*. 2023;13(19):3029. DOI: 10.3390/diagnostics13193029.
10. Omami G. Foramen transversarium enlargement caused by vertebral artery tortuosity: Diagnosis with cone-beam computed tomography and magnetic resonance angiography. *Imag. Sci. Dent.* 2021;51(3):329-332. DOI: 10.5624/isd.20210003.
11. Shkarubo A.N., Nikolenko V.N., Chernov I.V. et al. Anatomical aspects of the transnasal endoscopic access to the craniovertebral junction. *World Neurosurgery*. 2020;133:e293-e302. DOI: 10.1016/j.wneu.2019.09.011.
12. Chaityamoon A., Yannasithinon S., Sae-Jung S. et al. Anatomical variation and morphometric study on foramen transversarium of the upper cervical vertebrae in the Thai population. *Asian Spine J.* 2021;15(5): 557-565. DOI: 10.31616/asj.2020.0406.
13. Zaw A.K., Olojede S.O., Lawal S.K. et al. Preliminary study on foramen transversarium of typical cervical vertebrae in KwaZulu-Natal population: age and gender related changes. *Transl. Res. Anat.* 2020;22:100099. DOI: 10.1016/j.tria.2020.100099.
14. Ulusoy M., Bolatli G., Acar S., Zararsiz I. Anatomical variations in foramen transversarium. *EJMI*. 2020;4(3):312-314. DOI: 10.14744/ejmi.2019.15468.
15. Akbulut Y., Karaka Ş., Tanir A.B. et al. Morphometric analysis and incidence of accessory foramen transversarium in a population in Eastern Turkey. *Int. J. Med. Sci. Clin. Res. Stud.* 2023;3(9):2075-2079. DOI: 10.47191/ijmscrs/v3-i9-48.
16. Chazono M., Tanaka T., Kumagae Y. et al. Ethnic differences in pedicle and bony spinal canal dimensions calculated from computed tomography of the cervical spine: A review of the English-language literature. *Eur. Spine J.* 2012;21(8):1451-1458. DOI: 10.1007/s00586-012-2295-y.
17. Nell C., Bülow R., Hosten N. et al. Reference values for the cervical spinal canal and the vertebral bodies by MRI in a general population. *PLoS One*. 2019;14(9):e0222682. DOI: 10.1371/journal.pone.0222682.
18. Remes V.M., Heinänen M.T., Kinnunen J.S., Marttinen E.J. Reference values for radiological evaluation of cervical vertebral body shape and spinal canal. *Pediatr. Radiol.* 2000;30(3):190-195. DOI: 10.1007/s0024700500441111.

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.

Николенко Владимир Николаевич – д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой анатомии и гистологии человека 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: 0000-0001-9532-9957.

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: 0000-0003-3529-0557.

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 Human Anatomy and Histology, Sechenov University; Head, Department of Normal and Topographic Anatomy, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia. ORCID: 0000-0001-9532-9957.

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: 0000-0003-3529-0557.

Особенности продукции цитокинов у больных туберкулезом легких при проведении специфической химиотерапии

М.А. Алыменко^{1, 2}, Р.Ш. Валиев¹, Н.Р. Валиев¹, О.К. Поздеев¹, Н.П. Балобанова²,
Н.В. Турсунова³, В.А. Липатов⁴, Р.Н. Шепель⁵, Р.В. Полибин⁶, Н.Э. Колчанова⁷,
Н.В. Шеенков⁸, А.В. Полоников⁴, Г.С. Маль⁴, В.М. Коломиец⁴, В.А. Рагулина⁴,
И.Э. Гарбузова², В.Е. Корсакова², Я.А. Сафонов², А.В. Батищев²

¹Казанская государственная медицинская академия – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, Казань, Россия

²Университет «Синергия», Москва, Россия

³ФГБУЗ «Новосибирский научно-исследовательский институт туберкулеза» Минздрава России, Новосибирск, Россия

⁴ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет», Курск, Россия

⁵ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр терапии и профилактической медицины» Минздрава России, Москва, Россия

⁶ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова», Москва, Россия

⁷Гомельский государственный медицинский университет, Гомель, Республика Беларусь

⁸ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия

АННОТАЦИЯ

В в е д е н и е . В настоящее время одним из приоритетных направлений в области туберкулеза являются иммунологические исследования, поскольку эффективность лечения и, следовательно, исход заболевания в большинстве случаев определяются иммунными и генетическими особенностями макроорганизма.

Ц е л ь . Изучить динамику цитокинов (IL-6, IL-8, IL-4, IL-10, ФНО-α, IFN-γ) у больных с диссеминированным туберкулезом (ДСТ) и фиброзно-кавернозным туберкулезом (ФКТ) легких после 2 мес специфической химиотерапии.

М а т е р и а л ы и м е т о д ы . Группа исследования представлена 100 больными туберкулезом легких (ДСТ – 48 чел., ФКТ – 52 чел.) в возрасте от 40 до 69 лет, получавших специфическую химиотерапию в интенсивной фазе. Определяли концентрацию цитокинов (IL-6, IL-8, IL-4, IL-10, ФНО-α, IFN-γ) до химиотерапии и после 2 мес химиотерапии, а также цитокиновый баланс (IL-6 + IL-8/IL-4 + IL-10) до химиотерапии и после 2 нед химиотерапии.

Р е з у л ь т а т ы . После 2 мес химиотерапии у больных с ДСТ установлено достоверное снижение уровня IFN-γ, ФНО-α, IL-6, IL-10, а уровень IL-8 имел тенденцию к повышению, однако данная динамика носила статистически незначимый характер; у больных с ФКТ наблюдалось достоверное снижение уровня IFN-γ, IL-8, IL-6, а также IL-4 – с 5,6 до 5,11 пг/мл, ФНО-α – с 3,6 до 3,1 пг/мл, однако данная тенденция не носила статистически значимый характер. Цитокиновый баланс имел тенденцию к снижению: у больных с ДСТ – с 7,7 до 7,48, а у больных с ФКТ – с 7,69 до 4,97.

З а к л ю ч е н и е . Система цитокинов играет важную роль в регуляции воспалительных процессов у больных с ДСТ и ФКТ.

Ключевые слова: диссеминированный туберкулез легких, фиброзно-кавернозный туберкулез легких, противовоспалительные цитокины, цитокиновый баланс.

Образец цитирования: Алыменко М.А., Валиев Р.Ш., Валиев Н.Р., Поздеев О.К., Балобанова Н.П., Турсунова Н.В., Липатов В.А., Шепель Р.Н., Полибин Р.В., Колчанова Н.Э., Шеенков Н.В., Полоников А.В., Маль Г.С., Коломиец В.М., Рагулина В.А., Гарбузова И.Э., Корсакова В.Е., Сафонов Я.А., Батищев А.В. Особенности продукции цитокинов у больных туберкулезом легких при проведении специфической химиотерапии // Journal of Siberian Medical Sciences. 2024;8(4):65-75. DOI: 10.31549/2542-1174-2024-8-4-65-75

Поступила в редакцию 15.05.2024
Прошла рецензирование 10.06.2024
Принята к публикации 30.06.2024

Автор, ответственный за переписку
Алыменко Максим Алексеевич: Казанская государственная медицинская академия. 420012, Республика Татарстан, г. Казань, ул. Муштары, 11.
E-mail: maxim.alymenko@gmail.com

Received 15.05.2024
Revised 10.06.2024
Accepted 30.06.2024

Corresponding author
Maxim A. Alymenko: Kazan State Medical Academy, Branch of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, 11, Mushtari str., Kazan, 420012, Republic of Tatarstan.
E-mail: maxim.alymenko@gmail.com

Features of cytokine production in patients with pulmonary tuberculosis during specific chemotherapy

M.A. Alymenko^{1,2}, R.Sh. Valiyev¹, N.R. Valiyev¹, O.K. Pozdeev¹, N.P. Balobanova², N.V. Tursunova³, V.A. Lipatov⁴, R.N. Shepel⁵, R.V. Polibin⁶, N.E. Kolchanova⁷, N.V. Sheenkov⁸, A.V. Polonikov⁴, G.S. Mal⁴, V.M. Kolomiets⁴, V.A. Ragulina⁴, I.E. Garbuzova², V.E. Korsakova², Ya.A. Safonov², A.V. Batishchev²

¹Kazan State Medical Academy, Branch of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, Kazan, Russia

²Synergy University, Moscow, Russia

³Novosibirsk Research Institute of Tuberculosis, Novosibirsk, Russia

⁴Kursk State Medical University, Kursk, Russia

⁵National Medical Research Center for Therapy and Preventive Medicine, Moscow, Russia

⁶I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia

⁷Gomel State Medical University, Gomel, Belarus

⁸The Gamaleya National Center for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia

ABSTRACT

I n t r o d u c t i o n . Currently, immunological research is one of the priorities in the field of tuberculosis, since the effectiveness of treatment and, consequently, the outcome of the disease in most cases are determined by the immune and genetic characteristics of the macroorganism.

A i m . To study the dynamics of cytokines (IL-6, IL-8, IL-4, IL-10, TNF- α , IFN- γ) in patients with pulmonary disseminated tuberculosis (DST) and fibrous-cavernous tuberculosis (FCT) after 2 months of specific chemotherapy.

M a t e r i a l s a n d m e t h o d s . The study group consisted of 100 patients with pulmonary tuberculosis (DST – 48 people, FCT – 52 people) aged 40 to 69 years who received specific chemotherapy in the intensive phase. The concentration of cytokines (IL-6, IL-8, IL-4, IL-10, TNF- α , IFN- γ) was determined at baseline and after 2 months of chemotherapy, as well as the cytokine balance (IL-6 + IL-8/IL-4 + IL-10) at baseline and after 2 weeks of chemotherapy.

R e s u l t s . After 2 months of chemotherapy, patients with DST showed a significant decrease in the level of IFN- γ , TNF- α , IL-6, IL-10, and the level of IL-8 tended to increase, however, this dynamic was not statistically significant; in patients with FCT, there was a significant decrease in the level of IFN- γ , IL-8, IL-6, as well as IL-4 – from 5.6 to 5.11 pg/ml, TNF- α – from 3.6 to 3.1 pg/ml, however, this trend was not statistically significant. The cytokine balance values tended to decrease: in patients with DST – from 7.7 to 7.48, and in patients with FCT – from 7.69 to 4.97.

C o n c l u s i o n . The cytokine system plays an important role in the regulation of inflammatory processes in patients with DST and FCT of lungs.

Keywords: disseminated and fibrous-cavernous pulmonary tuberculosis, anti-inflammatory cytokines, cytokine balance.

Citation example: Alymenko M.A., Valiyev R.Sh., Valiyev N.R., Pozdeev O.K., Balobanova N.P., Tursunova N.V., Lipatov V.A., Shepel R.N., Polibin R.V., Kolchanova N.E., Sheenkov N.V., Polonikov A.V., Mal G.S., Kolomiets V.M., Ragulina V.A., Garbuzova I.E., Korsakova V.E., Safonov Ya.A., Batishchev A.V. Features of cytokine production in patients with pulmonary tuberculosis during specific chemotherapy. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2024;8(4):65-75. DOI: 10.31549/2542-1174-2024-8-4-65-75

ВВЕДЕНИЕ

По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) в 2022 г. туберкулез являлся второй по распространенности причиной смертности от инфекционных заболеваний, вызванных одним возбудителем [1]. К 2021 г. Россия добилаcь снижения уровня заболеваемости и

INTRODUCTION

According to the World Health Organization (WHO), in 2022 tuberculosis was the second most common cause of death from infectious diseases caused by a single pathogen [1]. By 2021, Russia had achieved a reduction in the incidence and mortality from tuberculosis (the incidence was 31.1 per

смертности от туберкулеза (заболеваемость составила 31.1 на 100 тыс. населения, смертность – 4.3) и была исключена ВОЗ из списка стран с высоким бременем туберкулеза. Тем не менее в России сохраняется высокое бремя туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью и сочетания туберкулеза с ВИЧ-инфекцией.

В настоящее время одним из приоритетных направлений в области туберкулеза являются иммуногенетические исследования, поскольку эффективность лечения и, следовательно, исход заболевания в большинстве случаев определяются иммунными и генетическими особенностями макроорганизма [2–5].

Известно, что противотуберкулезный иммунитет характеризуется повышением уровня интерлейкина (IL) IL-2, фактора некроза опухоли – альфа (TNF- α), интерферона гамма (IFN- γ) [5–8]. Именно протективная роль иммунитета связана с продукцией IFN- γ , а низкая эффективность обусловлена хелперами второго порядка и, как следствие, продукцией IL-4 [9–11]. Считается, что прогрессирование туберкулеза легких связано с повышенной продукцией провоспалительных цитокинов [12, 13]. Следует отметить важную роль IL-10 в формировании противотуберкулезного иммунитета. Известно, что данный цитокин подавляет активацию макрофагов [14, 15]. При туберкулезной инфекции IL-10 синтезируется легочными макрофагами и дендритными клетками [16]. Установлено, что более высокие уровни IL-4 и IL-10 могут оказывать неблагоприятное воздействие на течение туберкулеза легких. Ранее нами проведены исследования [17], показывающие, что более высокие уровни IL-4 и IL-10 могут оказывать неблагоприятное воздействие на течение туберкулеза легких.

Таким образом, исследование динамики цитокинового профиля у больных туберкулезом легких является перспективным направлением и имеет высокое практическое значение для повышения эффективности комплексного лечения больных туберкулезом.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучить динамику цитокинов (IL-6, IL-8, IL-4, IL-10, ФНО- α , IFN- γ) у больных с диссеминированным туберкулезом (ДСТ) и фиброзно-кавернозным туберкулезом (ФКТ) легких после 2 мес специфической химиотерапии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Группа исследования представлена 100 больными, страдающими туберкулезом легких в воз-

ражении (100 000, mortality was 4.3) and was excluded by WHO from the list of countries with a high burden of tuberculosis. Nevertheless, the burden of multidrug-resistant tuberculosis and tuberculosis-HIV co-infection remains high in Russia.

Currently, immunogenetic research is one of the priorities in the field of tuberculosis, since the effectiveness of treatment and, consequently, the outcome of the disease in most cases are determined by the immune and genetic characteristics of the macroorganism [2–5].

It is known that anti-tuberculosis immunity is characterized by an increase in the level of interleukin (IL) 2, tumor necrosis factor alpha (TNF- α), interferon gamma (IFN- γ) [5–8]. It is the protective role of immunity that is associated with IFN- γ production, and the low effectiveness is because of the second-order helpers and, as a result, IL-4 production [9–11]. It is believed that progression of pulmonary tuberculosis is associated with an increased production of proinflammatory cytokines [12, 13]. It should be noted the important role of IL-10 in the formation of anti-tuberculosis immunity. It is a fact that this cytokine suppresses the activation of macrophages [14, 15]. In tuberculosis infection, IL-10 is synthesized by pulmonary macrophages and dendritic cells [16]. It has been established that the higher levels of IL-4 and IL-10 can have an adverse effect on the course of pulmonary tuberculosis. Previously, we have carried out studies [17] showing that higher levels of IL-4 and IL-10 can impact adversely the course of pulmonary tuberculosis.

Thus, the study of the dynamics of the cytokine profile in patients with pulmonary tuberculosis is a promising direction, and is of high practical importance for improving the effectiveness of comprehensive treatment of tuberculosis patients.

AIM OF THE RESEARCH

To study the dynamics of cytokines (IL-6, IL-8, IL-4, IL-10, TNF- α , IFN- γ) in patients with pulmonary disseminated tuberculosis (DST) and fibrous-cavernous tuberculosis (FCT) after 2 months of specific chemotherapy.

MATERIALS AND METHODS

The study group comprised 100 patients who suffered from pulmonary tuberculosis, aged 40 to 69 years who received chemotherapy in the intensive phase. The mean age of the patients, accord-

расте от 40 до 69 лет, получавшими химиотерапию в интенсивной фазе. Средний возраст пациентов, включенных в исследование, согласно ретроспективному анализу, составил 54.5 ± 14.5 года. В исследовании преобладали лица мужского пола – 88 чел.

В группе исследования ДСТ выявлен у 48 чел. ($48.7 \pm 0.8 \%$), ФКТ – у 52 чел. ($52.9 \pm 0.7 \%$). Бактериовыделение имело место у 74 исследуемых ($68.8 \pm 1.8 \%$), отсутствовало у 26 чел. ($26.1 \pm 1.7 \%$). Длительность заболевания составила 31.4 ± 1.6 дня.

Определяли концентрацию цитокинов (IL-6, IL-8, IL-4, IL-10, ФНО- α , IFN- γ) в сыворотке венозной крови у больных двух вышеуказанных групп до химиотерапии и по прошествии 2 мес лечения, а также цитокиновый баланс (IL-6 + IL-8/IL-4 + IL-10) до лечения и после 2 нед лечения.

В группе исследования у больных ДСТ в 52.4 % случаев не было зарегистрировано сопутствующей патологии, в $15 \pm 0.9 \%$ случаев течение туберкулеза легких осложнялось хронической сердечной недостаточностью (ХСН), не требующей фармакологической коррекции. В остальных случаях ДСТ сопутствовали остеохондроз – $13.5 \pm 0.8 \%$ случаев, хронический гастрит – $9 \pm 0.5 \%$, хронический бронхит – $6.5 \pm 0.4 \%$, хронический тонзиллит – $2.1 \pm 0.2 \%$, язвенная болезнь – $1.5 \pm 0.4 \%$ случаев.

ФКТ в 60.2 % случаев не сопровождался сопутствующей патологией. В ходе анализа было выявлено, что в $12.7 \pm 1.14 \%$ случаев ФКТ осложнялся наличием ХСН, не требующей фармакологической коррекции, в $12.4 \pm 1.1 \%$ – остеохондрозом, в $5.9 \pm 0.7 \%$ – хроническим бронхитом, в $5 \pm 0.71 \%$ – хроническим гастритом, в $2.7 \pm 0.74 \%$ случаев – хроническим тонзиллитом.

Наличие факторов риска в ходе проведенного ретроспективного анализа больных ДСТ и ФКТ представлено в табл. 1.

ing to a retrospective analysis, was 54.5 ± 14.5 years. The study was dominated by males – 88 people.

In the study group, DST was detected in 48 people ($48.7 \pm 0.8 \%$), FCT – in 52 people ($52.9 \pm 0.7 \%$). Sputum smear positive were 74 subjects ($68.8 \pm 1.8 \%$), and sputum smear negative – 26 ($26.1 \pm 1.7 \%$). Duration of the disease was 31.4 ± 1.6 days.

The concentration of cytokines (IL-6, IL-8, IL-4, IL-10, TNF- α , IFN- γ) in venous blood serum in patients of the two groups was determined at baseline and after 2 months of treatment, as well as the cytokine balance (IL-6 + IL-8/IL-4 + IL-10) before treatment and after 2 weeks of specific therapy.

In the study group, in 52.4% of patients with DST had no concomitant pathology, in $15 \pm 0.9 \%$ of cases the course of pulmonary tuberculosis was complicated by chronic heart failure (CHF), which does not require pharmacotherapy. In the rest cases, DST was accompanied by osteochondrosis – $13.5 \pm 0.8 \%$, chronic gastritis – $9 \pm 0.5 \%$, chronic bronchitis – $6.5 \pm 0.4 \%$, chronic tonsillitis – $2.1 \pm 0.2 \%$, peptic ulcer disease – $1.5 \pm 0.4 \%$.

In 60.2% of patients with FCT, a concomitant pathology was not revealed. During the analysis, it was found that in $12.7 \pm 1.14 \%$ of cases, FCT was complicated by CHF that did not require pharmacotherapy, in $12.4 \pm 1.1 \%$ – osteochondrosis, in $5.9 \pm 0.7 \%$ – chronic bronchitis, in $5 \pm 0.71 \%$ – chronic gastritis, in $2.7 \pm 0.74 \%$ of cases – chronic tonsillitis.

The analysis of risk factors revealed during the retrospective analysis of patients with DST and FCT is presented in Table 1.

Statistical processing of the results of the study was carried out using SPSS Statistics 26.0 program. The study used the Wilcoxon's test for analysis of paired independent samples, and error of the mean was determined. The differences were deemed statistically significant at $p < 0.05$.

Таблица 1. Распространенность факторов риска у пациентов с диссеминированным и фиброзно-кавернозным туберкулезом легких по данным ретроспективного анализа ($n = 100$)

Table 1. The prevalence of risk factors in patients with disseminated and fibrous-cavernous pulmonary tuberculosis according to the retrospective analysis ($n = 100$)

Показатель Risk factor	Диссеминированный туберкулез Disseminated tuberculosis ($n = 48$)	Фиброзно-кавернозный туберкулез Fibrous-cavernous tuberculosis ($n = 52$)
Возраст, годы / Age, years	53.1 ± 1.1	57.3 ± 1.9
Курение, абс. / Smoking, abs. (M $\pm$ m, %)	34 (7.2 ± 1.3)	25 (5.3 ± 1.1)
Употребление алкоголя, абс. Alcohol consumption, abs. (M $\pm$ m, %)	14 (4.7 ± 1.5)	27 (6.8 ± 1.3)

Статистическая обработка результатов исследования проводилась с использованием программы SPSS Statistics 26.0. В исследовании использовался парный тест Вилкоксона для зависимых выборок, а также определялась ошибка средней. Различия считались статистически значимыми при $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Ближайшие результаты лечения оценивались в течение 2 мес с момента госпитализации пациентов. В результате проводимого лечения прекращение бактериовыделения, выявленное бактериоскопическим и бактериологическими методами, было достигнуто у 87 % пациентов.

Результаты определения содержания IL-6, IL-8, IL-4, IL-10, ФНО- α и IFN- γ до лечения и после 2 мес лечения у больных с ДСТ и ФКТ представлены на рис. 1. Содержание IFN- γ в сыворотке крови у больных с ДСТ имело тенденцию к снижению с 65 до 23.2 пг/мл в результате проведения 2-месячной химиотерапии ($p < 0.01$). У больных с ДСТ отмечалось также достоверное снижение уровня ФНО- α в результате проведенной 2-месячной фармакотерапии – с 4.1 до 2.6 пг/мл ($p < 0.05$), IL-6 – с 48.6 до 12.37 пг/мл ($p < 0.01$), IL-10 – с 7.62 до 4.05 пг/мл ($p < 0.05$), а уровень IL-8 имел тенденцию к повышению с 40.5 до 42.5 пг/мл, однако данная динамика носила статистически не значимый характер ($p > 0.05$) (см. рис. 1).

RESULTS

The immediate results of treatment were evaluated within 2 months from the date of hospitalization of patients. In response to the treatment, the bacterioscopically and bacteriologically confirmed conversion was detected in 87% of patients.

The results of determining the content of IL-6, IL-8, IL-4, IL-10, TNF- α and IFN- γ at baseline and after 2 months of treatment in patients with DST and FCT are shown in Fig. 1. The serum concentration of IFN- γ in patients with DST tended to decrease from 65 to 23.2 pg/ml as a result of a 2-month chemotherapy ($p < 0.01$). In patients with DST, there was also a significant decrease in TNF- α levels as a result of a 2-month pharmacotherapy – from 4.1 to 2.6 pg/ml ($p < 0.05$), IL-6 – from 48.6 to 12.37 pg/ml ($p < 0.01$), IL-10 – from 7.62 to 4.05 pg/ml ($p < 0.05$), and the level of IL-8 tended to increase from 40.5 to 42.5 pg/ml, however, this dynamic was not statistically significant ($p > 0.05$) (Fig. 1).

The results of the cytokine profile determination in patients with FCT are shown in Fig. 2. In patients with FCT, a significant decrease in the level of IFN- γ from 65.5 to 30.6 pg/ml ($p < 0.01$), IL-8 – from 50.69 to 41.04 pg/ml ($p < 0.05$), IL-6 – from 31.57 to 9.58 pg/ml ($p < 0.01$), as well as IL-4 – from 5.6 to 5.11 pg/ml, TNF- α – from 3.6 to 3.1 pg/ml was found, however, this tendency was not statistically significant ($p > 0.05$).

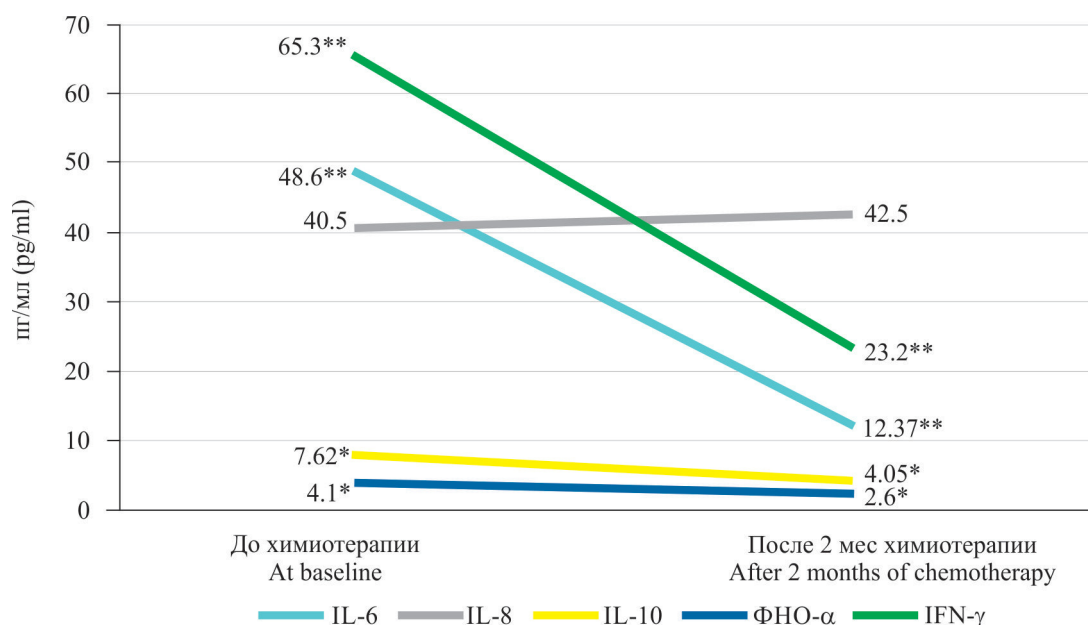


Рис. 1. Динамика цитокинового профиля у больных с диссеминированным туберкулезом легких до лечения и после 2-месячной химиотерапии ($n = 48$) (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ в парном тесте Вилкоксона)
Fig. 1. Dynamics of the cytokine profile in patients with disseminated pulmonary tuberculosis at baseline and after 2 months of chemotherapy ($n = 48$) (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, Wilcoxon's test)

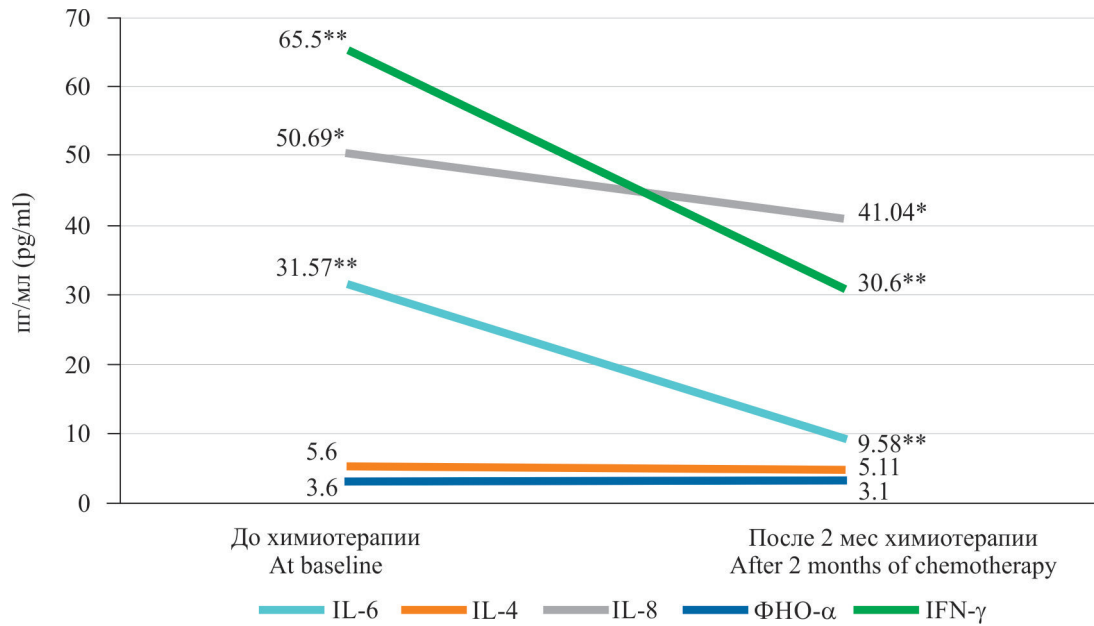


Рис. 2. Динамика цитокинового профиля у больных с фиброзно-кавернозным туберкулезом легких до лечения и после 2-месячной химиотерапии ($n = 52$) (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ в парном тесте Вилкоксона)

Fig. 2. Dynamics of the cytokine profile in patients with fibrous-cavernous pulmonary tuberculosis at baseline and after 2 months of chemotherapy ($n = 52$) (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, Wilcoxon's test)

Результаты определения цитокинового профиля у больных с ФКТ представлены на рис. 2. У больных с ФКТ отмечалось достоверное снижение уровня IFN-γ с 65.5 до 30.6 пг/мл ($p < 0.01$), IL-8 – с 50.69 до 41.04 пг/мл ($p < 0.05$), IL-6 – с 31.57 до 9.58 пг/мл ($p < 0.01$), а также IL-4 – с 5.6 до 5.11 пг/мл, ФНО-α – с 3.6 до 3.1 пг/мл, однако

The results of cytokine balance assessment in patients with DST and FCT at baseline and after 2 weeks of specific chemotherapy are presented in Fig. 3. In patients with DST and FCT, there was a tendency to decrease the cytokine balance towards normalization: from 7.7 to 7.48 and from 7.69 to 4.97, respectively.

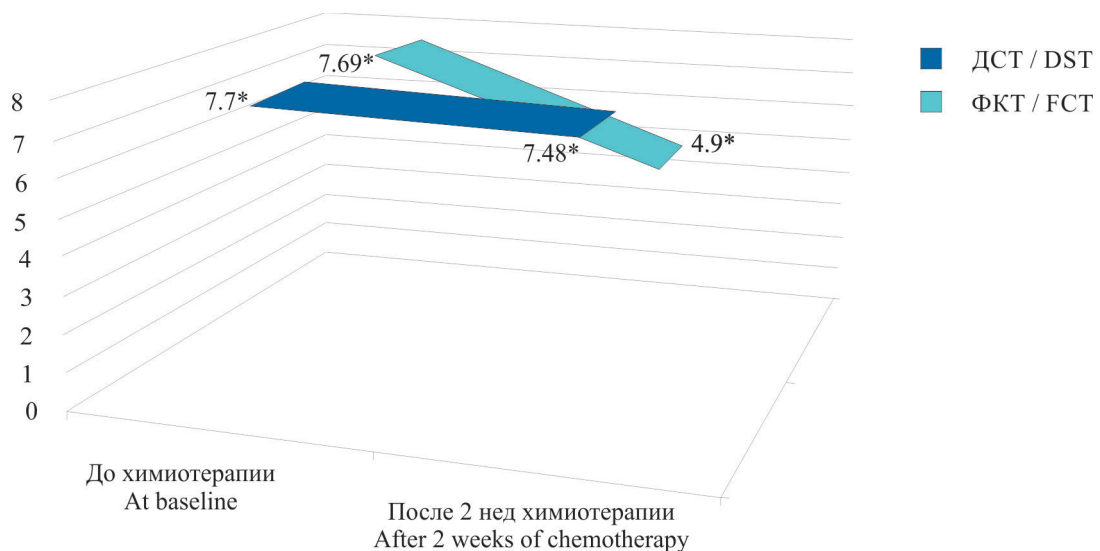


Рис. 3. Динамика цитокинового баланса у больных с диссеминированным и фиброзно-кавернозным туберкулезом легких (ДСТ и ФКТ) до лечения и после 2 нед специфической химиотерапии ($n = 100$) (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ в парном тесте Вилкоксона)

Fig. 3. Dynamics of the cytokine balance in patients with disseminated and fibrous-cavernous pulmonary tuberculosis (DST and FCT) at baseline and after 2 weeks of specific chemotherapy ($n = 100$) (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, Wilcoxon's test)

данная тенденция не носила статистически значимый характер ($p > 0.05$).

Результаты оценки цитокинового баланса у больных с ДСТ и ФКТ до и после 2 нед специфической химиотерапии представлены на рис. 3. У больных с ДСТ и ФКТ отмечена тенденция к снижению цитокинового баланса в сторону нормализации: с 7.7 до 7.48 и с 7.69 до 4.97 соответственно.

ОБСУЖДЕНИЕ

В результате нашего исследования установлено, что система цитокинов играет важную роль в регуляции воспалительных процессов у больных с ДСТ и ФКТ.

М.И. Китаевым и соавт. установлено, что цитокиновый баланс больных с внелегочным туберкулезом до лечения и после интенсивной фазы химиотерапии существенно превышал аналогичный показатель здоровых доноров ($p \leq 0.05$) и показал сдвиг в провоспалительном направлении. В процессе лечения у больных с внелегочным туберкулезом отмечена тенденция к снижению цитокинового баланса в сторону нормализации. В группе больных с костно-суставным туберкулезом этот показатель в процессе химиотерапии снизился в 1.45 раза, а в группе больных туберкулезом мочеполовой системы – в 1.74 раза [18]. Эти данные согласуются с результатами проведенного нами исследования.

Таким образом, взаимодействие микро- и макроорганизма при туберкулезной инфекции является достаточно сложным механизмом, в который вовлекаются многие звенья иммунной системы, а взаимодействие участников этой системы регулируется медиаторами клеточной системы – цитокинами.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное исследование позволяет сделать следующие выводы:

1. В результате 2-месячной химиотерапии у больных с диссеминированным туберкулезом легких наблюдалось достоверное снижение уровня IFN- γ , ФНО- α , IL-6, IL-10, а уровень IL-8 имел тенденцию к повышению, однако данная динамика носила статистически не значимый характер.

2. У больных с фиброзно-кавернозным туберкулезом легких по окончании 2-месячной специфической химиотерапии отмечалось достоверное снижение уровня IFN- γ , IL-8, IL-6, а также IL-4 – с 5.6 до 5.11 пг/мл, ФНО- α – с 3.6 пг/мл до 3.1 пг/мл, однако данная тенденция не носила статистически значимый характер.

DISCUSSION

Our study revealed that the cytokine system plays an important role in regulating inflammatory processes in patients with DST and FCT.

Kitaev et al. found that the cytokine balance of patients with extrapulmonary tuberculosis at baseline and after the intensive phase of chemotherapy significantly exceeded that of healthy donors ($p < 0.05$) and had a shift in the pro-inflammatory direction. In the course of treatment in patients with extrapulmonary tuberculosis, a tendency to decrease the cytokine balance towards normalization was noted. In the group of patients with osteoarticular tuberculosis, this index decreased by 1.45 times during chemotherapy, and in the group of patients with genitourinary tuberculosis – by 1.74 times [18]. These data are consistent with the results of our research.

Thus, the interaction of the micro- and macroorganism in tuberculosis infection is a rather complex mechanism that involves many links of the immune system, and the interaction of participants in this system is regulated by mediators of the cellular system – cytokines.

CONCLUSION

The research conducted allows us to draw the following conclusions:

1. As a result of 2 month chemotherapy in patients with disseminated pulmonary tuberculosis, there was a significant decrease in the level of IFN- γ , TNF- α , IL-6, IL-10, and the level of IL-8 tended to increase, however, this dynamics was not statistically significant.

2. In patients with fibrous-cavernous pulmonary tuberculosis, at the end of 2 months of specific chemotherapy, there was a significant decrease in the levels of IFN- γ , IL-8, IL-6, and IL-4 – from 5.6 to 5.11 pg/ml, TNF- α – from 3.6 to 3.1 pg/ml, however, this trend was not statistically significant.

3. At the end of 2 weeks of specific chemotherapy in patients with disseminated pulmonary tuberculosis, the cytokine balance tended to decrease – from 7.7 to 7.48, and in patients with fibrous-cavernous tuberculosis – from 7.69 to 4.97.

4. Pro- and anti-inflammatory cytokines play an essential role in the course of tuberculosis infection.

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

3. По окончании 2 нед специфической химиотерапии у больных с диссеминированным туберкулезом легких цитокиновый баланс имел тенденцию к снижению – с 7.7 до 7.48, а у больных с фиброзно-кавернозным туберкулезом – с 7.69 до 4.97.

4. Провоспалительные и противовоспалительные цитокины играют существенную роль в течении туберкулезной инфекции.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Global Tuberculosis Report/World Health Organization. 2022. URL: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240061729>.
2. Bo H., Moure U., Yang Y. et al. *Mycobacterium tuberculosis* – macrophage interaction // Front. Cell. Infect. Microbiol. 2023;13:1-14. DOI: 10.3389/fcimb.2023.1062963.
3. Ndong Sima C.A.A., Smith D., Petersen D. et al. The immunogenetics of tuberculosis (TB) susceptibility // Immunogenetics. 2023;75(3):215-230. DOI: 10.1007/s00251-022-91-01-290-5.
4. da Silva Graça Amoras E., Morais T., do Nascimento Ferreira R. et al. Association of cytokine gene polymorphism and their impact on active and latent tuberculosis in Brazil's Amazon Region // Biomolecules. 2023;13(10):1541. DOI: 10.3390/biom13101541.
5. Natarajan S., Ranganathan M., Hanna L.E., Tripathy S. Transcriptional profiling and deriving a seven-gene signature that discriminates active and latent tuberculosis: An integrative bioinformatics approach // Genes (Basel). 2022;3(4):616. DOI: 10.3390/genes13040616.
6. Suzukawa M., Takeda K., Akashi S. et al. Evaluation of cytokine levels using QuantiFERON-TB Gold Plus in patients with active tuberculosis // J. Infect. 2020;80(5):547-553. DOI: 10.1016/j.jinf.2020.02.007.
7. Bade P., Simonetti F., Sans S. et al. Integrative analysis of human macrophage inflammatory response related to *Mycobacterium tuberculosis* virulence // Front. Immunol. 2021;12:668060. DOI: 10.3389/fimmu.2021.668060.
8. Boni F.G., Hamdi I., Koundi L.M. et al. Cytokine storm in tuberculosis and IL-6 involvement // Infect. Genet. Evol. 2022;97:105166. DOI: 10.1016/j.meegid.2021.105166.
9. Горещкая М.В. Особенности системы иммунитета при инфицировании *Mycobacterium tuberculosis* // Актуальные вопросы микробиологии, иммунологии и инфектологии: сб. материалов науч.-практ. конф. Гродно, 2017. С. 24–27.
10. Saghazadeh A., Rezaei N. Central inflammatory cytokines in tuberculous meningitis: A systematic review and metaanalysis // J. Interferon Cytokine Res. 2022;42(3):95-107. DOI: 10.1089/2021.0176.
11. Barnacle J.R., Davis A.G., Wilkinson R.J. Recent advances in understanding the human host immune response in tuberculous meningitis // Front. Immunol. 2024;14:1326651. DOI: 10.3389/fimmu.2023.1326651.
12. Живечкова Е.А., Лапштаева А.В. Современный взгляд на роль цитокинов в инициации и течении туберкулеза легких // Астраханский медицинский журнал. 2019;14(4):17-28. DOI: 10.17021/2019.14.4.17.28.
13. Стаханов В.А., Захарова М.В., Зотова И.Ф. и др. Цитокины как маркеры развития инфильтратив-

REFERENCES

1. Global Tuberculosis Report/World Health Organization. 2022. URL: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240061729>.
2. Bo H., Moure U., Yang Y. et al. *Mycobacterium tuberculosis* – macrophage interaction. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2023;13:1-14. DOI: 10.3389/fcimb.2023.1062963.
3. Ndong Sima C.A.A., Smith D., Petersen D. et al. The immunogenetics of tuberculosis (TB) susceptibility. *Immunogenetics.* 2023;75(3):215-230. DOI: 10.1007/s00251-022-91-01-290-5.
4. da Silva Graça Amoras E., Morais T., do Nascimento Ferreira R. et al. Association of cytokine gene polymorphism and their impact on active and latent tuberculosis in Brazil's Amazon Region. *Biomolecules.* 2023;13(10):1541. DOI: 10.3390/biom13101541.
5. Natarajan S., Ranganathan M., Hanna L.E., Tripathy S. Transcriptional profiling and deriving a seven-gene signature that discriminates active and latent tuberculosis: An integrative bioinformatics approach. *Genes (Basel).* 2022;3(4):616. DOI: 10.3390/genes13040616.
6. Suzukawa M., Takeda K., Akashi S. et al. Evaluation of cytokine levels using QuantiFERON-TB Gold Plus in patients with active tuberculosis. *J. Infect.* 2020;80(5):547-553. DOI: 10.1016/j.jinf.2020.02.007.
7. Bade P., Simonetti F., Sans S. et al. Integrative analysis of human macrophage inflammatory response related to *Mycobacterium tuberculosis* virulence. *Front. Immunol.* 2021;12:668060. DOI: 10.3389/fimmu.2021.668060.
8. Boni F.G., Hamdi I., Koundi L.M. et al. Cytokine storm in tuberculosis and IL-6 involvement. *Infect. Genet. Evol.* 2022;97:105166. DOI: 10.1016/j.meegid.2021.105166.
9. Goretskaya M.V. (2017). Features of the immune system in infection with *Mycobacterium tuberculosis*. In *Actual Questions of Microbiology, Immunology and Infectology: Collection of writings of scientific and practical conference*. Grodno. 24–27 p. (In Russ.)
10. Saghazadeh A., Rezaei N. Central inflammatory cytokines in tuberculous meningitis: A systematic review and metaanalysis. *J. Interferon Cytokine Res.* 2022;42(3):95-107. DOI: 10.1089/2021.0176.
11. Barnacle J.R., Davis A.G., Wilkinson R.J. Recent advances in understanding the human host immune response in tuberculous meningitis. *Front. Immunol.* 2024;14:1326651. DOI: 10.3389/fimmu.2023.1326651.
12. Zhivechkova E.A., Lapshchaeva A.V. The role of cytokines in the initiation and course of lung tuberculosis: a modern view. *Astrakhan medical journal.* 2019;14(4):17-28. DOI: 10.17021/2019.14.4.17.28. (In Russ.)

- ного туберкулеза легких // Инфекция и иммунитет. 2011. 1(4):367-362.
14. Marino S., Myers A., Flynn J., Kirschner D. TNF and IL-10 are major factors in modulation of the phagocytic cell environment in lung and lymph node in tuberculosis: A next-generation two-compartmental model // *J. Theor. Biol.* 2010;265(4):586-598. DOI: 10.1016/j.jtbi.2010.05.012.
 15. Чурина Е.Г., Уразова О.И., Новицкий В.В. и др. Функциональный полиморфизм генов провоспалительных цитокинов при туберкулезе легких // *Медицинская иммунология.* 2019;21(1):149-156. DOI: 10.15789/1563-0625-2019-1-149-156.
 16. Чурина Е.Г., Уразова О.И., Ситникова А.В. и др. Дифференцировка моноцитов крови и особенности цитокинового статуса у больных туберкулезом легких // *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2020;64(4):79-87. DOI: 0.25557/0031-2991.2020.04.79-87.
 17. Алыменко М.А., Валиев Р.Ш., Валиев Н.Р. и др. Ассоциации полиморфизма генов цитокинов с уровнем их продукции у больных туберкулезом легких // *Сибирское медицинское обозрение.* 2024;2(146):56-63. DOI: 10.20333/25000136-2024-2-56-63.
 18. Китаев М.И., Дуденко Е.В., Сыдыкова С.С. и др. Динамика продукции цитокинов у больных внелегочными формами туберкулеза в процессе лечения // *Вестник Кыргызско-Российского Славянского университета.* 2014;14(4):98-100.
 13. Mezentseva M.V., Stakhanov V.A., Zakharova M.V. et al. Cytokines as markers of the infiltrative pulmonary tuberculosis development. *Infection and Immunity.* 2011. 1(4):367-362. (In Russ.)
 14. Marino S., Myers A., Flynn J., Kirschner D. TNF and IL-10 are major factors in modulation of the phagocytic cell environment in lung and lymph node in tuberculosis: A next-generation two-compartmental model. *J. Theor. Biol.* 2010;265(4):586-598. DOI: 10.1016/j.jtbi.2010.05.012.
 15. Churina E.G., Urazova O.I., Novitsky V.V. et al. Functional polymorphism of the pro-inflammatory cytokine genes in pulmonary tuberculosis. *Medical Immunology (Russia).* 2019;21(1):149-156. DOI: 10.15789/1563-0625-2019-1-149-156. (In Russ.)
 16. Churina E.G., Urazova O.I., Sitnikova A.V. et al. Differentiation of blood monocytes and features of the cytokine status in patients with lung tuberculosis. *Pathological physiology and experimental therapy.* 2020;64(4):79-87. DOI: 0.25557/0031-2991.2020.04.79-87. (In Russ.)
 17. Alymenko M.A., Valiev R.Sh., Valiev N.R. et al. Associations between the gene polymorphism of cytokines and the level of their production in patients with pulmonary tuberculosis. *Siberian Medical Review.* 2024;2(146):56-63. DOI: 10.20333/25000136-2024-2-56-63. (In Russ.)
 18. Kitaev M.I., Dudenko E.V., Sydykova S.S. et al. Production dynamics of cytokines in patients with extrapulmonary tuberculosis under treatment. *Herald of the Kyrgyz-Russian Slavic University.* 2014;14(4):98-100. (In Russ.)

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Алыменко Максим Алексеевич – канд. мед. наук, ассистент кафедры фтизиатрии и пульмонологии Казанской государственной медицинской академии – филиала ФГБОУ ВО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, Казань, Россия; доцент кафедры общей биологии и фармации Университета «Синергия», Москва, Россия. ORCID: 0000-0001-7341-3648.

Валиев Равиль Шамилович – д-р мед. наук, профессор, главный фтизиатр Приволжского федерального округа, заслуженный врач России и Республики Татарстан, заведующий кафедрой фтизиатрии и пульмонологии Казанской государственной медицинской академии – филиала ФГБОУ ВО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, Казань, Россия. ORCID: 0000-0001-8353-8655.

Валиев Наиль Равилович – канд. мед. наук, доцент кафедры фтизиатрии и пульмонологии Казанской государственной медицинской академии – филиала ФГБОУ ВО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, Казань, Россия. ORCID: 0000-0002-6702-6243.

Поздеев Оскар Кимович – д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой микробиологии Казанской государственной медицинской академии – филиала ФГБОУ ВО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образо-

ABOUT THE AUTHORS

Maxim A. Alymenko – Cand. Sci. (Med.), Assistant, Department of Phthysiology and Pulmonology, Kazan State Medical Academy, Branch of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, Kazan, Russia; Associate Professor, Departments of General Biology and Pharmacy, Synergy University, Moscow, Russia. ORCID: 0000-0001-7341-3648.

Ravil Sh. Valiyev – Dr. Sci. (Med.), Professor, Chief Phthysiolgist of the Volga Federal District, Honored Doctor of Russia and the Republic of Tatarstan, Head, Department of Phthysiology and Pulmonology, Kazan State Medical Academy, Branch of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, Kazan, Russia. ORCID: 0000-0001-8353-8655.

Nail R. Valiyev – Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Department of Phthysiology and Pulmonology, Kazan State Medical Academy, Branch of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, Kazan, Russia. ORCID: 0000-0002-6702-6243.

Oscar K. Pozdeev – Dr. Sci. (Med.), Professor, Head, Department of Microbiology, Kazan State Medical Academy, Branch of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, Kazan, Russia. ORCID: 0000-0002-6855-3387.

Natalia P. Balobanova – Cand. Sci. (Bio.), Associate Professor, Head, Department of General Biology

- вания» Минздрава России, Казань, Россия. ORCID: 0000-0002-6855-3387.
- Балобанова Наталья Петровна** – канд. биол. наук, доцент, заведующий кафедрой общей биологии и фармации Университета «Синергия», Москва, Россия. ORCID: 0000-0003-1946-1379.
- Турсунова Наталья Владимировна** – канд. биол. наук, ученый секретарь ФГБУ «Новосибирский научно-исследовательский институт туберкулеза» Минздрава России, Новосибирск, Россия, ORCID: 0009-0003-7796-6292.
- Липатов Вячеслав Александрович** – д-р мед. наук, профессор кафедры оперативной хирургии и топографической анатомии, заведующий лабораторией экспериментальной хирургии и онкологии НИИ экспериментальной медицины, проректор по научной работе и инновационному развитию ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Минздрав России, Курск, Россия. ORCID: 0000-0001-6121-7412.
- Шепель Руслан Николаевич** – канд. мед. наук, главный внештатный специалист-терапевт Центрального федерального округа Минздрава России, доцент кафедры общественного здравоохранения и организации здравоохранения, ведущий научный сотрудник, руководитель отдела научно-стратегического развития первичной медико-санитарной помощи, заместитель директора по перспективному развитию медицинской деятельности ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр терапии и профилактической медицины» Минздрава России, Москва, Россия. ORCID: 0000-0002-8984-9056.
- Полибин Роман Владимирович** – канд. мед. наук, главный внештатный специалист-эпидемиолог Минздрава России, доцент кафедры эпидемиологии и доказательной медицины, заместитель директора по научной работе Института общественного здоровья им. Ф.Ф. Эрисмана ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова», Москва, Россия. ORCID: 0000-0003-4146-4787.
- Колчанова Наталья Эдуардовна** – канд. мед. наук, доцент кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии Гомельского государственного медицинского университета, Гомель, Республика Беларусь. ORCID: 0000-0002-4501-7821.
- Шеенков Николай Вадимович** – заместитель руководителя референс-центра, начальник отдела биологической безопасности ФГБОУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия. ORCID: 0000-0002-7528-7785.
- Полоников Алексей Валерьевич** – д-р мед. наук, профессор, директор НИИ генетической и молекулярной эпидемиологии ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава России, Курск, Россия. ORCID: 0000-0001-6280-247X.
- Маль Галина Сергеевна** – д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой общей фармакологии ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава России, Курск, Россия. ORCID: 0000-0003-2723-781X.
- and Pharmacy, Synergy University, Moscow, Russia. ORCID: 0000-0003-1946-1379.
- Natalia V. Tursunova** – Cand. Sci. (Bio.), Scientific Secretary, Novosibirsk Scientific Research Institute of Tuberculosis, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0009-0003-7796-6292.
- Vyacheslav A. Lipatov** – Dr. Sci. (Med.), Professor, Department of Operative Surgery and Topographic Anatomy, Head, Laboratory of Experimental Surgery and Oncology, Research Institute of Experimental Medicine, Vice-Rector for Research and Innovative Development, Kursk State Medical University, Kursk, Russia. ORCID: 0000-0001-6121-7412.
- Ruslan N. Shepel** – Cand. Sci. (Med.), Chief Non-staff Therapist, Central Federal District, Ministry of Health of the Russian Federation, Associate Professor, Department of Public Health and Healthcare Management, Leading Researcher, Head, Scientific and Strategic Development of Primary Health Care, Deputy Director for the Long-term Development of Medical Activity, National Medical Research Center for Therapy and Preventive Medicine, Moscow, Russia. ORCID: 0000-0002-8984-9056.
- Roman V. Polibin** – Cand. Sci. (Med.), Chief Non-staff Epidemiologist, Ministry of Health of the Russian Federation, Associate Professor, Department of Epidemiology and Evidence-based Medicine, Deputy Director for Scientific Work, Erisman Institute of Public Health, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia. ORCID: 0000-0003-4146-4787.
- Natalia E. Kolchanova** – Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Department of Microbiology, Virology and Immunology, Gomel State Medical University, Gomel, Belarus. ORCID: 0000-0002-4501-7821.
- Nikolai V. Sheenkov** – Deputy Head, Reference Center, Head, Department of Biological Safety, The Gamaleya National Center for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia. ORCID: 0000-0002-7528-7785.
- Alexey V. Polonikov** – Dr. Sci. (Med.), Professor, Director, Research Institute of Genetic and Molecular Epidemiology, Kursk State Medical University, Kursk, Russia. ORCID: 0000-0001-6280-247X.
- Galina S. Mal** – Dr. Sci. (Med.), Professor, Head, Department of General Pharmacology, Kursk State Medical University, Kursk, Russia. ORCID: 0000-0003-2723-781X.
- Vladislav M. Kolomietz** – Dr. Sci. (Med.), Professor, Department of Clinical Immunology, Allergology and Phthisiopulmonology, Kursk State Medical University, Kursk, Russia. ORCID: 0009-0002-2042-4460.
- Vera A. Ragulina** – Cand. Sci. (Bio.), Associate Professor, Department of Biological Chemistry, Kursk State Medical University, Kursk, Russia. ORCID: 0000-0002-9461-9255.
- Ilmira E. Garbuzova** – 5th year Student, Faculty of Medicine, Synergy University, Moscow, Russia. ORCID: 0009-0003-9460-4648.
- Veronika E. Korsakova** – 5th year Student, Faculty of Medicine, Synergy University, Moscow, Russia. ORCID: 0009-0005-7976-7814.

Коломиец Владислав Михайлович – д-р мед. наук, профессор кафедры клинической иммунологии, аллергологии и фтизиопульмонологии ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава России, Курск, Россия. ORCID: 0009-0002-2042-4460.

Рагулина Вера Алексеевна – канд. биол. наук, доцент кафедры биологической химии ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава России, Курск, Россия. ORCID: 0000-0002-9461-9255.

Гарбузова Ильмира Эмиргамзаевна – студентка 5-го курса медицинского факультета Университета «Синергия», Москва, Россия. ORCID: 0009-0003-9460-4648.

Корсакова Вероника Евгеньевна – студентка 5-го курса медицинского факультета Университета «Синергия», Москва, Россия. ORCID: 0009-0005-7976-7814.

Сафонов Ярослав Алексеевич – студент 5-го курса медицинского факультета Университета «Синергия», Москва, Россия. ORCID: 0009-0002-5182-8660.

Батищев Александр Витальевич – канд. физ.-мат. наук, доцент, заведующий кафедрой искусственного интеллекта и анализа данных Университета «Синергия», Москва, Россия. ORCID: 0000-0003-4872-0608.

Yaroslav A. Safonov – 5th year Student, Faculty of Medicine, Synergy University, Moscow, Russia. ORCID: 0009-0002-5182-8660.

Alexander V. Batishchev – Cand. Sci. (Phys. and Math.), Associate Professor, Head, Department of Artificial Intelligence and Data Analysis, Synergy University, Moscow, Russia. ORCID: 0000-0003-4872-0608.



Функциональное состояние эритроцитов в условиях стресса, вызванного предельно допустимой физической нагрузкой, на фоне приема рыбьего жира и озонированного рыбьего жира

А.В. Дерюгина¹, П.В. Ястребов¹, Г.А. Бояринов^{1, 2}, Ю.А. Старателева¹

¹ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского», Нижний Новгород, Россия

²ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава России, Нижний Новгород, Россия

АННОТАЦИЯ

В в е д е н и е . Предельно допустимые физические нагрузки у спортсменов являются мощным стрессирующим фактором для организма, который вызывает повышение уровня стресс-реализующих гормонов, сужение сосудов, приводя к развитию нарушений в системе микроциркуляции, на которую в значительной степени оказывают влияние эритроциты. В свою очередь, движение эритроцитов по микроциркуляторному руслу определяется состоянием физико-химических свойств их мембраны, зависящих от модификации жирных кислот липидной фазы. При этом показано, что у профессиональных спортсменов наблюдается дефицит омега-3-полиненасыщенных жирных кислот (п-3 ПНЖК). Содержание п-3 ПНЖК в рыбьем жире (РЖ) обуславливает его использование в практике спортивной медицины. При этом остается неясным эффективность влияния РЖ и его озонированной формы на состояние и функционирование эритроцитов в условиях временного нарушения гомеостаза при действии предельных физических нагрузок.

Ц е л ь р а б о т ы . Изучение действия РЖ и озонированного РЖ (ОРЖ) на функциональные показатели эритроцитов в условиях стресса, вызванного у крыс моделированием физической нагрузки «до отказа».

М а т е р и а л ы и м е т о д ы . В работе исследовано влияние РЖ и ОРЖ на метаболические и окислительные показатели эритроцитов, электрофоретическую подвижность эритроцитов (ЭФПЭ) и их агрегацию при моделировании физической нагрузки у крыс. Физическую нагрузку моделировали путем плавания животных «до отказа» с грузом 10 % от массы тела. Нагрузочный тест проводили 4 раза, в период постнагрузочного восстановления крысы получали перорально РЖ, ОРЖ (с озонидным числом 3000 или 1500) в зависимости от группы. Тестирование животных проводили 6 раз: определяли исходный уровень показателей, после нагрузочного теста (4 раза) и после отмены препаратов (на 3-й день). Исследовали концентрацию малонового диальдегида (МДА), аденозинтрифосфата (АТФ), 2,3-дифосфоглицерата (ДФГ), ЭФПЭ и агрегацию эритроцитов.

Р е з у л ь т а т ы . Физическая нагрузка «до отказа» (контрольная группа) вызвала рост концентрации МДА, снижение ЭФПЭ, концентрации АТФ и 2,3-ДФГ в эритроцитах, что сопровождалось повышением агрегации эритроцитов. Введение РЖ на фоне физической нагрузки определило менее выраженную липопероксидацию, тогда как введение ОРЖ с озонидным числом 3000 – максимально выраженную липопероксидацию по сравнению с контролем. Наименьший окислительный эффект при физической нагрузке регистрировался при введении ОРЖ с озонидным числом 1500. Снижение липопероксидации сопровождалось повышением концентрации АТФ, снижением 2,3-ДФГ, ростом ЭФПЭ и снижением агрегации эритроцитов.

З а к л ю ч е н и е . Использование ОРЖ (с озонидным числом 1500) наиболее эффективно нивелировало процессы в эритроцитах, обусловленные развитием стресса, вызванного у крыс моделированием физической нагрузки «до отказа».

Ключевые слова: физическая нагрузка, эритроциты, рыбий жир, озонированный рыбий жир.

Образец цитирования: Дерюгина А.В., Ястребов П.В., Бояринов Г.А., Старателева Ю.А. Функциональное состояние эритроцитов в условиях стресса, вызванного предельно допустимой физической нагрузкой, на фоне приема рыбьего жира и озонированного рыбьего жира // Journal of Siberian Medical Sciences. 2024;8(4):76-89. DOI: 10.31549/2542-1174-2024-8-4-76-89

Поступила в редакцию 05.05.2024
Прошла рецензирование 01.06.2024
Принята к публикации 17.06.2024

Автор, ответственный за переписку
Дерюгина Анна Вячеславовна: ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского», 603022, г. Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23.
E-mail: derugina69@yandex.ru

Received 05.05.2024
Revised 01.06.2024
Accepted 17.06.2024

Corresponding author
Anna V. Deryugina: Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod, 23, Gagarina prosp., Nizhny Novgorod, 603022, Russia.
E-mail: derugina69@yandex.ru

Functional state of erythrocytes under the extreme physical exertion while supplemented fish oil and ozonated fish oil

A.V. Deryugina¹, P.V. Yastrebov¹, G.A. Boyarinov^{1, 2}, Yu.A. Starateleva¹

¹Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod, Nizhny Novgorod, Russia

²Privolzhsky Research Medical University, Nizhny Novgorod, Russia

ABSTRACT

I n t r o d u c t i o n . The extreme physical exertion in athletes is a powerful stress factor for the organism and causes an increase in the level of stress hormones, vasoconstriction thus resulting in the microcirculation system disorders, which are largely influenced by erythrocytes. In turn, the movement of erythrocytes through the microcirculatory bed is determined by the state of the physicochemical properties of their membrane depending on the type of lipid phase fatty acids. At the same time, it has been shown that professional athletes have a deficiency of omega-3 polyunsaturated fatty acids (n-3 PUFAs). The content of n-3 PUFAs in fish oil (FO) determines its use in practice of sports medicine. At the same time, the effectiveness of FO and its ozonated form on the state and functioning of erythrocytes under conditions of temporary homeostasis imbalance due to the extreme physical exertion remains unclear.

A i m . Study of the effect of FO and ozonated FO (OFO) on the functional indices of erythrocytes in rats under the extreme physical exertion.

M a t e r i a l s a n d m e t h o d s . The effect of FO and OFO on metabolic and oxidative indices of erythrocytes, erythrocyte electrophoretic mobility (EEM) and their aggregation during modeling of physical activity in rats was studied. Extreme physical exertion in animals was modeled with forced swimming with a load equal to 10% of their body weight. The weight-loaded forced swimming (stress) test was performed 4 times; during the post-exertion recovery, the rats received FO, OFO (with an ozonide number of 3000 or 1500 – OFO-3000 and OFO-1500, respectively) depending on the group. The animals were tested 6 times: parameters were determined at baseline, after the stress test (4 times) and after substance withdrawal (on the 3rd day). The concentration of malondialdehyde (MDA), adenosine triphosphate (ATP), 2,3-diphosphoglycerate (DPG), EEM and erythrocyte aggregation was measured.

R e s u l t s . The extreme physical exertion (control group) caused an increase in the MDA concentration, a decrease in EEM and the concentration of ATP and 2,3-DPG in erythrocytes, which was accompanied by an increase in erythrocyte aggregation. The administration of FO during physical exertion determined less pronounced lipid peroxidation, while the administration of OFO-3000 determined induced the most pronounced lipid peroxidation compared to the control group. The lowest oxidative effect during physical exertion was recorded with the administration of OFO-1500. A decrease in lipid peroxidation was accompanied by an increase in the ATP concentration, a decrease in 2,3-DPG, an increase in EEM and a decrease in erythrocyte aggregation.

C o n c l u s i o n . The use of OFO-1500 most effectively eliminated the processes in rat erythrocytes induced by stress caused by extreme physical exertion.

Keywords: physical exertion, erythrocytes, fish oil, ozonated fish oil.

Citation example: Deryugina A.V., Yastrebov P.V., Boyarinov G.A., Starateleva Yu.A. Functional state of erythrocytes under the extreme physical exertion while supplemented fish oil and ozonated fish oil. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2024;8(4):76-89. DOI: 10.31549/2542-1174-2024-8-4-76-89

ВВЕДЕНИЕ

Физические нагрузки в спорте высших достижений характеризуются постоянно возрастающей интенсивностью, что определяет напряжение функций организма с последующим повреждающим влиянием на различные органы и системы. Показано, что ежедневные интенсивные физические нагрузки повышают риск развития ишемической болезни сердца, цереброваскулярных заболеваний и венозных тромбоэмболических осложнений [1]. Физическая активность до состояния

INTRODUCTION

Physical activities in high-performance sports are characterized by ever-increasing intensity, which determines the stress in human body functions with subsequent disorders in different organs and systems. It has been shown that daily intense physical activity increases the risk of coronary artery disease, cerebrovascular diseases and venous thromboembolic complications [1]. Physical activity which leads to exhaustion is a powerful stress factor for the body [2]. Significant physical exertion causes an increase

утомления является мощным стрессирующим фактором для организма [2]. Значительная физическая нагрузка вызывает повышение уровня катехоламинов в крови, сужение сосудов, приводя к развитию нарушений в системе микроциркуляции, наблюдается нарушение реологических свойств крови и гемостаза [3]. На микроциркуляцию и реологию крови значительное влияние оказывают эритроциты, которые при повышенной физической нагрузке агрегируют, что определяется нарушением мембранных структур, вызванным развитием окислительного стресса и появлением активных форм кислорода [4]. В свою очередь, именно модификация жирных кислот в мембране эритроцитов предполагает изменение физико-химических свойств мембраны, ее проницаемости, лабильности и сложности прохождения эритроцита по микроциркулярному руслу [5]. При этом у профессиональных спортсменов наблюдается дефицит омега-3 полиненасыщенных жирных кислот (n-3 ПНЖК) [6]. Улучшение жирнокислотного профиля фосфолипидов мембран эритроцитов наблюдается после перорального приема ПНЖК [7]. Использование добавок с рыбьим жиром (РЖ) основано в том числе и на содержании в нем n-3 ПНЖК [8]. В свою очередь, озонирование РЖ вызывает образование средне- и короткоцепочечных жирных кислот, которые по сравнению с длинноцепочечными ЖК, содержащимися в РЖ, быстрее метаболизируются в клетках, повышая их энергетический потенциал [9]. При этом роль озонированного рыбьего жира (ОРЖ) в спорте высших достижений не исследована, тогда как действие рыбьего жира, который применяется в спортивной медицине, на состояние эритроцитов также изучено крайне незначительно. Кроме того, большинство исследований проводится с использованием добавок n-3 ПНЖК и свидетельствуют о том, что все известные эффекты n-3 ПНЖК, такие как снижение выработки воспалительных эйкозаноидов, цитокинов и активных форм кислорода, иммуномодулирующее действие и ослабление воспалительных процессов, весьма противоречивы и зависят от состояния организма [10]. Исходя из отмеченного, остается неясной эффективность влияния РЖ и его озонированной формы на состояние и функционирование эритроцитов в условиях временного нарушения гемостаза при действии предельных физических нагрузок.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучение действия РЖ и ОРЖ на функциональные показатели эритроцитов в условиях

in the blood level of catecholamines, vasoconstriction, leading to microcirculatory disorders, and imbalance in blood rheological properties and hemostasis [3]. Red blood cells being aggregated under increased physical activity, have a significant impact on microcirculation and blood rheology which is determined by alterations in the membrane structures caused by the developing oxidative stress and appearance of reactive oxygen species [4]. In turn, it is the modification of fatty acids in the erythrocyte membrane that suggests a change in the physicochemical properties of the membrane, its permeability, lability, and the complexity of erythrocyte passage through the microcirculatory bed [5]. At the same time, professional athletes have a deficiency of omega-3 polyunsaturated fatty acids (n-3 PUFAs) [6]. Improvement of the fatty acid profile of erythrocyte membrane phospholipids is observed after oral administration of PUFAs [7]. The use of fish oil (FO) supplements is based, among other things, on its n-3 PUFAs content [8]. In turn, the ozonation of FO causes formation of medium- and short-chain fatty acids which, compared to the long-chain fatty acids contained in FO, are metabolized in cells faster, increasing their energy potential [9]. Besides, the role of ozonated fish oil (OFO) in high-performance sports has not been studied, while the effect of fish oil, used in sports medicine, on the state of erythrocytes has also been studied a little. In addition, most studies are conducted using n-3 PUFA supplements and indicate that all known effects of n-3 PUFAs, such as reduced production of inflammatory eicosanoids, cytokines and reactive oxygen species, immunomodulatory effects and a decrease in inflammatory processes, are highly controversial, and depend on the condition of the body [10]. Based on the abovementioned, the favorable effect of the FO and its ozonated form on the state and functioning of erythrocytes under conditions of temporary homeostasis imbalance during the extreme physical exertion remains unclear.

AIM OF THE RESEARCH

To study the effect of FO and OFO on the functional parameters of rat erythrocytes under conditions of stress modeled with weight-loaded forced swimming.

MATERIALS AND METHODS

The experimental study was performed on Wistar albino male rats ($n = 48$) weighing 200 ± 20 g. The animals were kept in individual boxes with a natural 12-hour change of light and darkness, air humidity of 60% and its temperature of $22 \pm 2^\circ\text{C}$, and free access

стресса, вызванного у крыс моделированием физической нагрузки «до отказа».

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Экспериментальное исследование проводилось на белых крысах самцах ($n = 48$) линии Wistar массой 200 ± 20 г. Животных содержали в индивидуальных боксах с естественной 12-часовой сменой света и темноты, влажностью воздуха 60 % и его температурой 22 ± 2 °C, со свободным доступом к воде и пище. Содержание животных и проводимые с ними манипуляции осуществляли в соответствии с нормативными документами – Guide for Care and Use of Laboratory Animals, приказом Министерства здравоохранения РФ от 1 апреля 2016 г. № 199н «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики». Проведение исследования было одобрено Локальным этическим комитетом Института биологии и биомедицины Нижегородского государственного университета им. Н.И. Лобачевского.

Животные были разделены на 4 группы по 12 крыс в каждой. Контрольным животным перорально вводили физраствор (1-я группа). Крыс 2-й группы кормили рыбьим жиром (доза 35 мг/кг), крыс 3-й группы – озонированным рыбьим жиром (доза 35 мг/кг, озонидное число 3000), крыс 4-й группы – озонированным рыбьим жиром (доза 35 мг/кг, озонидное число 1500).

Исследования РЖ и ОРЖ выполняли в ФБУ «Государственный региональный центр стандартизации, метрологии и испытаний» в Москве, протокол испытаний № 20423 от 01.02.2018. Механизм озонлиза включал окислительный разрыв двойных связей [11]. РЖ (исходный образец) и озонированный рыбий жир контролировали по пероксидному числу (ПЧ, мэкв/кг). Показатель оценивали в соответствии с фармакопеями. Следует отметить ПЧ, имеющее характер неопределенности при наличии следов озона и пероксидов в масле. Многие мировые фармакопеи вносят дополнительные рекомендации, включающие условия проведения анализа (температура, время, количество жиров и др.). В этой связи при определении ПЧ в образцах озонированного рыбьего жира мы дополнительно включали в условия проведения анализа температуру и количество жира. Обычно ПЧ, определяемые с такими дополнениями, называют озонидными числами. ПЧ возрастает в зависимости от количества активных форм кислорода: чем оно выше, тем больше в объекте активных форм кислорода [12].

to water and food. Animal care and manipulations were carried out in accordance with regulatory documents – the Guide for Care and Use of Laboratory Animals, the Order of the Ministry of Health of the Russian Federation dated April 1, 2016 No. 199n “On approval of the Rules of Good Laboratory Practice”. The study was approved by the local Ethics Committee of the Institute of Biology and Biomedicine of the Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod.

The animals were divided into 4 groups of 12 rats each. The control animals were orally administered saline solution (group 1). The rats of group 2 received fish oil (35 mg/kg), the rats of group 3 – ozonated fish oil (35 mg/kg, ozonide number is 3000 – OFO-3000), and the rats of group 4 – ozonated fish oil (35 mg/kg, ozonide number is 1500 – OFO-1500).

The studies of FO and OFO were performed at the State Regional Center for Standardization, Metrology and Testing (Moscow), test protocol No. 20423 dated 01.02.2018. The mechanism of ozonolysis included oxidative cleavage of double bonds [11]. FO (initial sample) and ozonated fish oil were controlled by the peroxide value (PV, mEq/kg). The indicator was assessed in accordance with pharmacopoeias. It should be noted that PV has an uncertainty character in the presence of ozone and peroxide traces in oil. Many world pharmacopoeias make additional recommendations, including the conditions for the analysis (temperature, time, amount of fat, etc.). In this regard, when determining PV in ozonated fish oil samples, we additionally included the temperature and amount of fat in the conditions for conducting the analysis. Usually, PVs determined with such additions are called ozonide numbers. The PV increases depending on the number of reactive oxygen species: the higher it is, the more reactive oxygen species are present in the object [12].

The forced swimming test with a load was carried out by simulating forced swimming with the extreme exertion using the principle of the presented swimming load until the occurrence of pronounced fatigue and the animals' refusal to perform further action.

The load was selected in accordance with the standard technique of animal swimming with a load of 10% of their body weight in water at a comfort temperature (28°C).

After weighing, 1 hour before the swimming test, the animals were orally administered a calculated dose of the studied substance via intragastric tube in the study groups, and an equivalent volume of saline solution – in the control group. 15–20 min before testing (for correction a possible stress reaction), a selected load was attached to the rats. At the beginning of the study, the animal was immersed in the

Тест «Вынужденное плавание с грузом» проводили путем моделирования вынужденного плавания «до отказа» и строили по принципу предъявляемой плавательной нагрузки до формирования выраженного утомления и отказа животных от дальнейшего выполнения действия.

Нагрузку выбирали в соответствии со стандартной методикой плавания животных с грузом – 10 % от массы тела в термокофортной воде (28 °C).

Лабораторным животным после взвешивания за 1 ч до нагрузки с помощью внутрижелудочного зонда перорально вводили в исследуемых группах расчетную дозу изучаемого препарата, а в контрольной группе – эквивалентное количество физиологического раствора. За 15–20 мин до начала тестирования (для сглаживания возможной стресс-реакции) к крысам фиксировали подобранный груз. В начале исследования животное без резких движений погружали в воду бассейна. Критерием прекращения исследования в тесте предельного плавания являлось погружение животного на дно бассейна. В этот момент животное извлекали из воды, проводили забор крови из подъязычной вены в количестве 1.0 мл и затем обсушивали сухим полотенцем.

Этапы исследования:

1-й этап – этап покоя (исходный): проводили все исследования до физической нагрузки.

2-й этап – тест «До отказа» (1-й нагрузочный тест) – 4-й день эксперимента. В первые три дня до выполнения теста «До отказа» крысы получали перорально в исследуемых группах расчетную дозу изучаемого препарата, а в контрольной группе – эквивалентное количество физраствора. Накануне исследования животных на ночь оставляли без корма при свободном доступе к воде. В день проведения исследования (4-й день) животным за 1 ч до нагрузки перорально вводили в исследуемых группах расчетную дозу изучаемого препарата, а в контрольной группе – эквивалентное количество физраствора.

3-й этап – период постнагрузочного восстановления (5 дней). В этот период крысы получали перорально в исследуемых группах расчетную дозу изучаемого препарата, а в контрольной группе – эквивалентное количество физраствора.

4-й этап – тест «До отказа» (2-й нагрузочный тест).

5-й этап – период постнагрузочного восстановления (5 дней).

6-й этап – тест «До отказа» (3-й нагрузочный тест).

7-й этап – период постнагрузочного восстановления (5 дней).

water of the pool without sudden movements. The criterion for stopping the study in the forced swimming test was the animal's immersion on the bottom of the pool. At this point, the animal was removed from the water; blood was collected from the sublingual vein in the amount of 1.0 ml, and then the animal was dried with a dry towel weight-loaded.

Study stages:

Stage 1 – resting stage (initial): all manipulations were performed before the stress test.

Stage 2 – weight-loaded forced swimming test (1st stress test) – the 4th day of the experiment. In the first three days before the forced swimming test, the rats in the study groups received orally the calculated dose of the studied substance, and in the control group – an equivalent volume of saline solution. The day before the testing, the animals were left without food overnight with free access to water. On the day of the testing (4th day), 1 hour before the stress test, the animals in the study groups were orally administered the calculated dose of the studied substance, and in the control group – an equivalent volume of saline solution.

Stage 3 – post-stress recovery (5 days). During this period, the rats in the study groups received orally the calculated dose of the studied substance, and in the control group – an equivalent volume of saline solution.

Stage 4 – weight-loaded forced swimming test (2nd stress test).

Stage 5 – post-stress recovery (5 days).

Stage 6 – weight-loaded forced swimming test (3rd load test).

Stage 7 – post-stress recovery (5 days).

Stage 8 – weight-loaded forced swimming test (4th load test).

Stage 9 – period of residual effect of the studied drugs on physical activity (after substance withdrawal for 3 days after the 4th stress test).

The duration of the experiment was 25 days. Since the blood loss in rats with a single blood draw was less than 7% of the circulating blood volume, the contribution of this parameter was not taken into account.

Methods for studying the functional state of erythrocytes:

Erythrocyte electrophoretic mobility (EEM) was measured using our modified microelectrophoresis method. A suspension of washed erythrocytes was diluted with 10 mM Tris-HCl buffer (pH 7.4), and EEM was measured by recording the time of erythrocyte passing a distance of 100 µm in Tris-HCl buffer pH 7.4 at a current of 12 mA. The EEM value was determined by the formula:

8-й этап – тест «До отказа» (4-й нагрузочный тест).

9-й этап – период остаточного влияния препаратов на физическую нагрузку (после отмены препаратов в течение 3 дней после 4-го нагрузочного теста).

Продолжительность эксперимента составила 25 дней. Поскольку при однократном заборе крови кровопотеря у крыс составляла менее 7 % объема циркулирующей крови, вклад данного параметра не учитывался.

Методы исследования функционального состояния эритроцитов:

Измерение электрофоретической подвижности эритроцитов (ЭФПЭ) производили методом микроэлектрофореза в собственной модификации. Суспензию отмытых эритроцитов разводили 10 мМ трис-НСl буфера (pH 7.4) и измеряли ЭФПЭ, регистрируя время прохождения эритроцитами расстояния 100 мкм в трис-НСl буфере pH 7.4 при силе тока 12 мА. Величину ЭФПЭ определяли по формуле

$$U = S/TH,$$

где S – расстояние, на которое перемещались клетки;

T – время перемещения;

H – градиент потенциала.

Величину градиента потенциала определяли по формуле

$$H = I/g\chi,$$

где I – сила тока;

g – поперечное сечение камеры;

χ – удельная электропроводимость среды [13].

Агрегацию эритроцитов изучали методом оптической микроскопии путем подсчета одиночных эритроцитов и их агрегатов. В качестве стимулятора агрегации использовали раствор голубого декстрана Т-2000, 20 мг/мл (GE Healthcare) в трис-НСl буфере (pH 7.4). Отмытые эритроциты разводили раствором декстрана (в соотношении 1:10 по объему), и в камере Горяева подсчитывали число неагрегированных эритроцитов. Общее число эритроцитов в пробе считали в изотоническом растворе NaCl. Уровень агрегации A рассчитывали по формуле [14]

$$A = 100 \% - (\text{Число свободных (неагрегированных) эритроцитов} \times \text{Общее число эритроцитов}^{-1} \times 100 \%).$$

Измерение концентрации аденозинтрифосфата (АТФ), 2,3-дифосфоглицерата (2,3-ДФГ) проводили неэнзиматическим методом [15]. Кон-

$$U = S/TH,$$

where S is the distance that cells passed;

T is the time of passing;

H is the potential gradient.

The potential gradient value was determined by the formula

$$H = I/g\chi,$$

where I is current strength;

g is the cross section of the chamber;

χ is the specific electrical conductivity of the medium [13].

Erythrocyte aggregation was studied by optical microscopy by counting single erythrocytes and their aggregates. A solution of blue dextran T-2000, 20 mg/ml (GE Healthcare) in Tris-HCl buffer (pH 7.4) was used as an aggregation stimulator. The washed erythrocytes were diluted with a dextran solution (in a ratio of 1:10 by volume), and the number of non-aggregated erythrocytes was counted in the Gorjaev's chamber. The total count of erythrocytes in the sample was calculated in an isotonic NaCl solution. The level of aggregation A was calculated using the formula [14]

$$A = 100\% - (\text{Number of free (non-aggregated) erythrocytes} \times \text{Total count of erythrocytes}^{-1} \times 100\%).$$

The concentration of adenosine triphosphate (ATP) and 2,3-diphosphoglycerate (2,3-DPG) was measured using a non-enzymatic method [15]. The concentration of ATP and 2,3-DPG was determined in a supernatant after incubation of hemolyzed erythrocytes with trichloroacetic acid (TCA). To determine ATP, equal volumes of TCA filtrate, 2N HCl and 2N NaOH were mixed. Inorganic phosphorus (Pi), which included Pi split off from ATP after hydrolysis and Pi before hydrolysis, was determined. To determine 2,3-DPG, nucleotides (ATP, adenosine diphosphate (ADP), adenosine monophosphate (AMP)) were removed from the TCA filtrate of hemolyzed erythrocytes by activated carbon adsorption followed by centrifugation. In the supernatant, Pi was determined (test tube 1). Another part of the TCA filtrate underwent ashing by adding 5% magnesium nitrate solution and 0.36N H₂SO₄. Pi was measured in the supernatant (test tube 2). Then, Pi was measured in each test tube by recording the color density with a KFK-3 photoelectric photometer ($\lambda = 660 \text{ nm}$). The concentration of Pi was determined according to the calibration curve using a standard solution of KH₂PO₄. The concentration of 2,3-DPG was calculated using the formula [16]

$$(\text{Pi (test tube 1)} \cdot 100 - \text{Pi (test tube 2)} \cdot 10) / 2.$$

центрацию АТФ и 2,3-ДФГ определяли в супернатанте после инкубации гемолизированных эритроцитов с трихлоруксусной (ТХУ) кислотой. При определении АТФ смешивали равные объемы ТХУ фильтрата с 2Н НСl и 2Н NaOH. Определяли неорганический фосфор (Рн), в состав которого входил Рн, отщепившийся от АТФ после гидролиза, и Рн до гидролиза. Для определения 2,3-ДФГ из ТХУ фильтрата гемолизированных эритроцитов удаляли нуклеотиды (АТФ, аденозиндифосфат (АДФ), аденозинмонофосфат (АМФ)) путем адсорбции на активированном угле с последующим центрифугированием. В супернатанте определяли Рн (пробирка 1). Другую часть ТХУ фильтрата подвергали озолению, добавляя 5% раствор нитрата магния и 0.36N H₂SO₄. В супернатанте измеряли Рн (пробирка 2). Определяли Рн в каждой пробирке, регистрируя плотность окраски на фотометре фотоэлектрическом КФК-3 ($\lambda = 660$ нм). Концентрацию Рн определяли по калибровочной кривой, используя стандартный раствор КН₂РO₄. Расчет концентрации 2,3-ДФГ проводили по формуле [16]

$$(\text{Рн (пробирка 1)} \cdot 100 - \text{Рн (пробирка 2)} \cdot 10) / 2.$$

Концентрацию малонового диальдегида (МДА) определяли по образованию окрашенного триметинового комплекса с максимумом поглощения при 530 нм при реакции с тиобарбитуровой кислотой. Для расчета концентрации МДА использовали коэффициент молярной экстинкции $E = 1.56 \cdot 10^{-5} \cdot \text{М}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$ [17].

Статистическую обработку экспериментальных данных проводили с использованием программы Microsoft Excel. Рассчитывали такие параметры, как среднее арифметическое выборочной совокупности и стандартное отклонение по критерию Стьюдента. Различия считали достоверными при уровне значимости $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ концентрации АТФ в эритроцитах показал следующую динамику: при физической активности концентрация АТФ снижалась со 2-го этапа исследования и до конца эксперимента, не восстанавливаясь до исходных значений (табл. 1). РЖ и ОРЖ способствовали повышению концентрации АТФ на всех этапах исследования. При сравнении эффективности исследуемых веществ наиболее значимые результаты показало действие ОРЖ-1500. Его использование позволило после 2 и 3-го нагрузочного теста сохранить концентрацию АТФ на уровне исходных значений при снижении данного показателя в контроль-

The concentration of malondialdehyde (MDA) was determined by the formation of a colored trimethine complex with an absorption maximum at 530 nm during the reaction with thiobarbituric acid. The molar extinction coefficient $E = 1.56 \cdot 10^{-5} \cdot \text{M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ was used to calculate the concentration of MDA [17].

Statistical processing of experimental data was performed using Microsoft Excel. Parameters such as the arithmetic mean of the set sample and standard deviation according to the Student' test were calculated. Differences were considered significant at $p < 0.05$.

RESULTS AND DISCUSSION

An analysis of the ATP concentration in erythrocytes showed the following dynamics: during physical activity, the ATP concentration decreased from the 2nd stage of the study until the end of the experiment, not reaching to the baseline values (Table 1). FO and OFO contributed to an increase in the ATP concentration at all stages of the study. When comparing the effectiveness of the studied substances, the most significant results were achieved with OFO-1500. The use of OFO-1500 made it possible to maintain the ATP concentration at the baseline level after the 2nd and 3rd stress tests with a decrease in this indicator in the control group, and while after the 4th stress test and after the discontinuation of the substance administration, to increase the ATP values above the baseline level.

The dynamics of the 2,3-DPG concentration in erythrocytes demonstrated an increase in this indicator after the 2nd and 3rd stress tests in the control group with a subsequent decrease relative to the baseline level (Table 1). The use of FO and OFO-3000 determined maintaining the 2,3-DPG concentration at the baseline level after the 2nd and 3rd stress tests, comparable to the effect in the control group – after the 4th stress test, and more significant decrease in the metabolite compared to the controls after substance withdrawal. The effect of OFO-1500 determined a decrease in the concentration of 2,3-DPG after the 3rd stress test and further until the end of the experiment compared to the baseline values. At the same time, an inverse relationship was recorded between the dynamics of changes in the 2,3-DPG concentration and the ATP concentration in erythrocytes for all stages of the experiment. Probably, the decrease in the concentration of 2,3-DPG occurred because of increased ATP synthesis in the direct glycolysis pathway.

An analysis of the EEM dynamics revealed its increase in the experimental groups compared to the

Таблица 1. Динамика изменения концентрации АТФ (мкмоль Рн/мл клеток) и 2,3-ДФГ (мкмоль Рн/мл клеток) в эритроцитах в исследуемых группах**Table 1.** Dynamics of changes in the concentration of ATP ($\mu\text{mol Pi/ml cells}$) and 2,3-DPG ($\mu\text{mol Pi /ml cells}$) in erythrocytes in the study groups

Этап Stage	Контроль Control group	РЖ FO	ОРЖ-3000 OFO-3000	ОРЖ-1500 OFO-1500
АТФ / ATP				
Исходный уровень / At baseline	2.19 $\pm$ 0.19	2.17 $\pm$ 0.18	2.12 $\pm$ 0.18	2.14 $\pm$ 0.22
После нагрузочного теста After the stress test				
1	2.30 $\pm$ 0.21	2.69 $\pm$ 0.16 [#]	2.36 $\pm$ 0.19	2.78 $\pm$ 0.12 ^{**}
2	1.21 $\pm$ 0.18 [#]	1.61 $\pm$ 0.15 [#]	2.05 $\pm$ 0.14 [*]	2.12 $\pm$ 0.19
3	1.46 $\pm$ 0.15 [#]	1.64 $\pm$ 0.11 [#]	1.86 $\pm$ 0.17 ^{**}	2.17 $\pm$ 0.16 [*]
4	1.83 $\pm$ 0.20 [#]	1.95 $\pm$ 0.26	2.10 $\pm$ 0.37	2.78 $\pm$ 0.13 ^{**}
После отмены веществ After withdrawal of substances	1.71 $\pm$ 0.31	2.73 $\pm$ 0.13 ^{**}	2.88 $\pm$ 0.17 ^{**}	3.06 $\pm$ 0.16 ^{**}
2,3-ДФГ / 2,3-DPG				
Исходный уровень / At baseline	11.71 $\pm$ 1.98	11.15 $\pm$ 1.87	11.27 $\pm$ 1.61	11.18 $\pm$ 1.64
После нагрузочного теста After the stress test				
1	9.95 $\pm$ 1.14	8.46 $\pm$ 2.03	6.28 $\pm$ 1.27 [#]	7.60 $\pm$ 1.81 [#]
2	13.51 $\pm$ 1.27	11.68 $\pm$ 1.42	13.52 $\pm$ 0.72 [#]	10.73 $\pm$ 0.97
3	14.87 $\pm$ 0.37 [#]	10.91 $\pm$ 0.8 [*]	11.52 $\pm$ 1.19 [*]	8.49 $\pm$ 1.03 ^{**}
4	7.37 $\pm$ 1.57 [#]	6.31 $\pm$ 1.86 [#]	9.92 $\pm$ 0.91 [#]	5.36 $\pm$ 0.91 [#]
После отмены веществ After withdrawal of substances	6.32 $\pm$ 1.32 [#]	2.56 $\pm$ 0.34 [#]	4.16 $\pm$ 0.29 [#]	2.91 $\pm$ 0.48 [#]

Примечания: АТФ – аденозинтрифосфат; ДФГ – дифосфоглицерат; Рн – фосфор неорганический; РЖ – рыбий жир; ОРЖ-3000 – озонированный рыбий жир, озонидное число – 3000; ОРЖ-1500 – озонированный рыбий жир, озонидное число – 1500.

*Статистически значимые различия ($p \leq 0.05$) по сравнению с контрольной группой; # статистически значимые различия ($p \leq 0.05$) по сравнению с интактными животными (исходный уровень).

Note: ATP – adenosine triphosphate; DPG – diphosphoglycerate; Pi – inorganic phosphorus; FO – fish oil; OFO-3000 – ozonated fish oil, ozonide value is 3000; OFO-1500 – ozonated fish oil, ozonide value is 1500.

*Statistically significant differences ($p \leq 0.05$) compared with the control group; # statistically significant differences ($p \leq 0.05$) compared with intact animals (at baseline).

ной группе, а после 4-го нагрузочного теста и после отмены препаратов повысить значения АТФ выше исходного уровня.

Динамика концентрации 2,3-ДФГ в эритроцитах продемонстрировала увеличение данного показателя после 2 и 3-го нагрузочного теста в контрольной группе с последующим снижением относительно исходного уровня (см. табл. 1). Использование РЖ и ОРЖ-3000 определило сохранение концентрации 2,3-ДФГ на уровне исходных значений после 2 и 3-го нагрузочного теста, сопоставимое с действием в контрольной группе – после 4-го нагрузочного теста и более выраженное снижение метаболита по сравнению с контролем после отмены препаратов. Влияние ОРЖ-1500 определило снижение концентрации 2,3-ДФГ после 3-го нагрузочного теста и далее до конца эксперимента по отношению к исходным значениям. При этом регистрировалась обратная зависимость динамики изменения содержания 2,3-ДФГ от динамики изменения концентрации

control one, which was accompanied by a decrease in erythrocyte aggregation (Table 2). Marked changes in EEM were found in the groups of animals receiving FO and OFO-3000 from the 2nd stress test and during further stages; in the OFO-1500 group – from the 1st stress test. A decrease in aggregation was recorded in the FO and OFO groups from the 2nd stress test, while in the control group, an increase in aggregation was observed after the 1st–3rd stress tests.

Measuring the MDA concentration in erythrocytes revealed an increase in the parameter in all the study groups with a maximal rise during the 2nd and 3rd stress tests followed by a subsequent decrease in the index (Table 3). The use of OFO-1500 led to a less significant increase in MDA compared to the other study groups, both control and experimental. After substance withdrawal, a decrease in the concentration of MDA below the baseline values was registered in this group.

Таблица 2. Динамика ЭФПЭ ($\mu\text{м} \cdot \text{см} \cdot \text{В}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}$) и агрегации эритроцитов (%) в исследуемых группах
Table 2. Dynamics of EEM ($\mu\text{m} \cdot \text{cm} \cdot \text{V}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$) and erythrocyte aggregation (%) in the study groups

Этап Stage	Контроль Control group	РЖ FO	ОРЖ-3000 OFO-3000	ОРЖ-1500 OFO-1500
ЭФПЭ / EEM				
Исходный уровень / At baseline	0.90 ± 0.15	0.89 ± 0.10	0.85 ± 0.10	0.87 ± 0.05
После нагрузочного теста After the stress test				
1	0.87 ± 0.10	1.02 ± 0.20	0.98 ± 0.05	1.03 ± 0.07*
2	0.88 ± 0.20	1.23 ± 0.04**	1.12 ± 0.09*	1.25 ± 0.05**
3	0.83 ± 0.10	1.32 ± 0.10**	1.22 ± 0.10*	1.37 ± 0.12**
4	0.93 ± 0.20	1.38 ± 0.11#	1.32 ± 0.10**	1.42 ± 0.14**
После отмены препаратов After withdrawal of substances	0.86 ± 0.19	1.38 ± 0.12**	1.37 ± 0.11**	1.37 ± 0.06**
Агрегация эритроцитов / Erythrocyte aggregation				
Исходный уровень / At baseline	45 ± 0.04	42 ± 0.06	43 ± 0.08	44 ± 0.12
Период после нагрузочного теста After the stress test				
1	47 ± 0.05*	44 ± 0.08#	43 ± 0.09#	42 ± 0.11#
2	46 ± 0.02*	40 ± 0.03**	37 ± 0.05**	36 ± 0.08**
3	48 ± 0.09*	37 ± 0.11**	32 ± 0.13**	30 ± 0.07**
4	44 ± 0.08	35 ± 0.13**	29 ± 0.09**	26 ± 0.13**
После отмены препаратов After withdrawal of substances	46 ± 0.17	35 ± 0.12**	33 ± 0.04**	30 ± 0.06**

П р и м е ч а н и я : ЭФПЭ – электрофоретическая подвижность эритроцитов; РЖ – рыбий жир; ОРЖ-3000 – озонированный рыбий жир, озонидное число – 3000; ОРЖ-1500 – озонированный рыбий жир, озонидное число – 1500.

*Статистически значимые различия ($p \leq 0.05$) по сравнению с контрольной группой; # статистически значимые различия ($p \leq 0.05$) по сравнению с интактными животными (исходный уровень).

Н о т е : EEM – erythrocyte electrophoretic mobility; FO – fish oil; OFO-3000 – ozonated fish oil, ozonide value is 3000; OFO-1500 – ozonated fish oil, ozonide value is 1500.

*Statistically significant differences ($p \leq 0.05$) compared to the control group; # statistically significant differences ($p \leq 0.05$) compared to intact animals (at baseline).

АТФ в эритроцитах при всех видах воздействия. Вероятно, уменьшение концентрации 2,3-ДФГ произошло на фоне повышенного синтеза АТФ в прямом пути гликолиза.

Регистрация динамики ЭФПЭ выявила ее повышение в опытных группах по сравнению с группой контроля, что сопровождалось снижением степени агрегации эритроцитов (табл. 2). Выраженные изменения ЭФПЭ были получены в группах при использовании РЖ и ОРЖ-3000 начиная со 2-го нагрузочного теста и на последующих этапах; в группе ОРЖ-1500 – с 1-го нагрузочного теста. Уменьшение агрегации регистрировалось в группе РЖ и ОРЖ со 2-го нагрузочного теста, тогда как в контрольной группе наблюдалось увеличение агрегации после 1–3-го нагрузочного теста.

Измерение концентрации МДА в эритроцитах выявило рост показателя во всех исследуемых группах с максимальным увеличением в ходе 2 и 3-го нагрузочных тестов с последующим снижением показателя (табл. 3). Использование ОРЖ-1500 привело к менее выраженному росту МДА

DISCUSSION

The data obtained demonstrate an increase in lipid peroxidation (LPO) during intense physical activity, which causes hyperoxia of muscle tissue and overproduction of reactive oxygen species. Activation of LPO disrupts the lipid bilayer of erythrocytes [18]. LPO enhancement occurs due to the influence of adrenaline [19], which causes the activation of phospholipase A_2 and, accordingly, an increase in the content of lysoforms. In addition, the decrease in the ATP concentration revealed in the study can induce a decrease in the activity of protein kinases. Alteration of protein phosphorylation-dephosphorylation cycles leads to derangement of the lipid matrix. Accumulation of Ca^{2+} , activation of Ca-dependent phospholipase A_2 and accumulation of lysosomal fractions of phospholipids and free fatty acids take place [18]. An increase in the intracellular content of free calcium ions activates calpain-cysteine endopeptidase and caspase-3, which leads to the transfer of phosphatidylserine to the outer layer of the erythrocyte membrane [20], and lysoforms, having high affinity for

Таблица 3. Динамика концентрации малонового диальдегида эритроцитов в исследуемых группах, нмоль/мл
Table 3. Dynamics of the malondialdehyde concentration in erythrocytes in the study groups, nmol/ml

Этап Stage	Контроль Control groups	РЖ FO	ОРЖ-3000 OFO 3000	ОРЖ-1500 OFO 1500
Исходный уровень / At baseline	1.938 ± 0.143	1.946 ± 0.385	1.951 ± 0.124	1.943 ± 0.160
После нагрузочного теста After the stress test				
1	2.100 ± 0.051	2.225 ± 0.084*	2.388 ± 0.231*	2.101 ± 0.201
2	3.268 ± 0.1378*	2.880 ± 0.536*	3.393 ± 0.050*	2.180 ± 0.091**
3	2.859 ± 0.072*	2.427 ± 0.064**	3.247 ± 0.032**	2.467 ± 0.028**
4	2.382 ± 0.130*	2.361 ± 0.133*	2.585 ± 0.080*	2.241 ± 0.050*
После отмены препаратов After withdrawal of substances	2.322 ± 0.066*	2.110 ± 0.062*	2.489 ± 0.068	1.796 ± 0.150**

Примечания: РЖ – рыбий жир; ОРЖ-3000 – озонированный рыбий жир, озонидное число – 3000; ОРЖ-1500 – озонированный рыбий жир, озонидное число – 1500.

*Статистически значимые различия ($p \leq 0.05$) по сравнению с контрольной группой; * статистически значимые различия ($p \leq 0.05$) по сравнению с интактными животными (исходный уровень).

Note: FO – fish oil; OFO-3000 – ozonated fish oil, ozonide value is 3000; OFO-1500 – ozonated fish oil, ozonide value is 1500.

* Statistically significant differences ($p \leq 0.05$) compared to the control group; * statistically significant differences ($p \leq 0.05$) compared to intact animals (baseline).

по сравнению другими исследуемыми группами как контроля, так и опытными. После отмены препарата в данной группе регистрировалось понижение концентрации МДА ниже исходных значений.

ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные данные демонстрируют усиление процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) при интенсивной физической нагрузке, что вызывает гипероксию мышечных тканей и избыточное образование активных форм кислорода. Активация процессов ПОЛ нарушает липидный бислой эритроцитов [18]. Усиление процессов ПОЛ происходит под действием адреналина [19], который вызывает активацию фосфолипазы A_2 и, соответственно, рост содержания лизоформ. Кроме того, отмеченное в исследовании снижение концентрации АТФ может индуцировать уменьшение активности протеинкиназ. Нарушение процессов фосфорилирования-дефосфорилирования белков приводит к дезорганизации липидного матрикса. Происходит накопление Ca^{2+} , активация Са-зависимой фосфолипазы A_2 и аккумуляция лизофракций фосфолипидов и свободных жирных кислот [18]. Повышение внутриклеточного содержания свободных ионов кальция активирует калпаин-цистеиновую эндопептидазу и каспазу 3, что приводит к переносу фосфатидилсерина на внешнюю поверхность мембраны эритроцита [20], а лизоформы, обладая высоким сродством к интегральным белкам, вытесняют другие липиды из белкового окружения, вызывая пере-

essential proteins, displace other lipids from the protein environment, causing redistribution of membrane proteins, which ultimately changes the erythrocyte membrane surface charge and, consequently, EEM.

Changes in EEM affect the rheological properties of blood. A decrease in EEM during physical exertion leads to an increase in erythrocyte aggregation, which affects microcirculation, and blood viscosity, that plays a significant role in the manifestation of tissue hypoxia [21]. Under these conditions, 2,3-DPG, an allosteric regulator of hemoglobin affinity for oxygen can make a certain contribution to the alleviation of tissue hypoxia. In our experiments, an increase in the concentration of 2,3-DPG was noted after the 2nd–3rd stress test, which determines a decrease in Hb- O_2 affinity and promotes the release of O_2 from the Hb molecule in tissues.

When discussing the mechanisms of FO, OFO action during intense physical activity, it is necessary to focus on several results obtained in the study.

The use of FO and, to a greater extent, OFO-1500, during physical activity caused a statistically significant decrease in MDA in erythrocytes compared to the control group. PUFAs are structural and functional components of cell membranes [22], which can promote the erythrocyte membrane recovery and modulate lipid peroxidation during physical activity. It has been shown that oral administration of n-3 PUFAs leads to the integration of PUFAs in the composition of phospholipids of erythrocyte membranes [23], changing the charac-

распределение мембранных белков, в итоге меняется заряд мембраны эритроцитов и, следовательно, ЭФПЭ.

Изменение ЭФПЭ влияет на реологические свойства крови. Отмеченное при физической нагрузке снижение ЭФПЭ ведет к повышению агрегации эритроцитов, которая оказывает влияние на микроциркуляцию, увеличивает вязкость крови, что играет существенную роль в проявлениях тканевой гипоксии [21]. В этих условиях определенный вклад в нивелирование возникающей гипоксии тканей может вносить 2,3-ДФГ, аллостерический регулятор сродства гемоглобина к кислороду. В наших экспериментах отмечено увеличение концентрации 2,3-ДФГ после 2–3-го нагрузочного теста, что определяет снижение Hb-O_2 афинности и способствует высвобождению O_2 из молекулы Hb в тканях.

Обсуждая механизмы действия РЖ, ОРЖ при повышенной физической активности, следует остановиться на нескольких полученных в ходе работы результатах.

Использование при физических нагрузках РЖ и, в большей степени, ОРЖ-1500 вызывало статистически значимое снижение МДА в эритроцитах по сравнению с контрольной группой. ПНЖК являются структурными и функциональными компонентами клеточных мембран [22], что может способствовать восстановлению мембраны эритроцитов и нивелировать ПОЛ при физической активности. Показано, что пероральный прием п-3 ПНЖК приводит к включению ПНЖК в состав фосфолипидов мембран эритроцитов [23], изменяя характеристики мембран эритроцитов, что вызывает снижение их агрегации [24]. По всей видимости, сходным образом действуют и средне- и короткоцепочечные ЖК, которые образуются в результате озонлиза. При этом действие ОЖР-1500 определяет наименьшее окислительное действие на фоне физической нагрузки по сравнению со всеми исследуемыми группами, тогда как использование ОРЖ-3000 приводит к наибольшему процессу липопероксидации эритроцитов. Вероятно, полученный эффект зависит от концентрации озонидов: малые концентрации озонидов стимулируют процесс антиоксидантной защиты, а большие концентрации – усугубляют окисление клеток [16].

При использовании РЖ и, в большей степени, ОРЖ было отмечено увеличение концентрации АТФ по сравнению с контрольной группой. Озону присущ гипогликемический эффект, обуслов-

теристиками of the latter, which causes a decrease in their aggregation [24]. Apparently, medium- and short-chain fatty acids, which are formed as a result of ozonolysis, operate in a similar way. At the same time, the effect of OFO-1500 determines the minimal oxidative effect during physical activity compared to all the studied groups, while the use of OFO-3000 leads to the maximal lipid peroxidation in erythrocytes. Probably, the obtained effect depends on the concentration of ozonides: low concentrations of ozonides stimulate antioxidant defence, and high concentrations aggravate oxidation in cells [16].

When using FO and, to a greater extent, OFO, an increase in the ATP concentration was noted compared to the control group. Ozone has a hypoglycemic effect due to the activation of glucose-6-phosphate dehydrogenase. Thus, glucose absorption from blood plasma by erythrocytes increases [25], which, apparently, contributes to a growth of the intensity of glycolysis in erythrocytes. It is known that an increase in the ATP concentration in erythrocytes leads to phosphorylation of spectrin, ankyrin and protein 4.1R (erythrocyte membrane protein band 4.1), weakening protein-protein interactions. Phosphorylation of cytoskeletal proteins increases membrane deformability [26]. Probably, in the use of preparations of FO, the deformability of erythrocyte membranes increases. High deformability of erythrocytes facilitates blood flow, which contributes to better microcirculation and tissue oxygenation. In addition, it is known that deformities occur at the level of the microcirculatory bed; erythrocytes release ATP and cause an NO-dependent enhancement of blood flow [27]. The increase in EEM and the decrease in erythrocyte aggregation amid the FO and OFO administration also contribute to the recovery of microcirculation.

CONCLUSION

It was found that the use of FO and OFO effectively modulated processes in erythrocytes caused by the extreme physical exertion. Comparison of preparations of FO showed that the effect of OFO-1500 caused the most pronounced decrease in lipid peroxidation, increased glycolysis and decreased aggregation of erythrocytes during in the weight-loaded forced swimming test compared to FO and OFO-3000.

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

ленный активацией глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы. При этом усиливается поглощение эритроцитами глюкозы из плазмы крови [25], что, по всей видимости, способствует повышению интенсивности гликолиза в эритроцитах. Известно, что повышение содержания АТФ в эритроцитах ведет к фосфорилированию спектрина, анкирина и белка полосы 4.1, ослабляя белок-белковые взаимодействия. Фосфорилирование белков цитоскелета увеличивает деформабельность мембран [26]. Вероятно, на фоне применения препаратов РЖ повышается деформируемость мембран эритроцитов. Высокая деформируемость эритроцитов облегчает кровоток, что способствует лучшей микроциркуляции и оксигенации тканей. Кроме того, известно, что при деформации на уровне микроциркуляторного русла эритроциты высвобождают АТФ и вызывают NO-зависимое увеличение кровотока [27].

Восстановлению микроциркуляции также способствует выявленное при действии РЖ и ОРЖ повышение ЭФПЭ и снижение агрегации эритроцитов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Установлено, что использование РЖ и ОРЖ эффективно нивелировало процессы в эритроцитах, обусловленные развитием стресса, вызванного у крыс моделированием физической нагрузки «до отказа». Сравнение препаратов РЖ показало, что действие ОРЖ-1500 вызывало наиболее выраженное снижение липопероксидации, усиление гликолиза и снижение агрегации эритроцитов при физической нагрузке «до отказа» по сравнению с РЖ и ОРЖ-3000.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Armstrong M.E.G., Green J., Reeves G.K. et al. Frequent physical activity may not reduce vascular disease risk as much as moderate: Large prospective study of women in the United Kingdom // *Circulation*. 2015;131(8):721-729. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.114.010296.
2. Гостюхина А.А., Замощина Т.А., Светлик М.В. и др. Поведенческая активность крыс в «открытом поле» после световой или темновой деприваций и физического переутомления // *Бюллетень сибирской медицины*. 2016;15(3):16-23. DOI: 10.20538/1682-0363-2016-3-16-23.
3. Григорьева М.Е., Сороколетов С.М., Коробовский А.В., Ляпина Л.А. Текучесть крови при физических нагрузках разного вида // *Спортивная медицина: наука и практика*. 2022;12(4):45-58. DOI: 10.47529/2223-2524.2022.4.3.
4. Medeiros-Lima D.J., Mendes-Ribeiro A.C., Brunini T.M.C. et al. Erythrocyte nitric oxide availability and oxidative stress following exercise // *Clin. Hemorheol. Microcirc.* 2017;65(3):219-228. DOI: 10.3233/CH-16162.
5. Кушнерова Н.Ф., Рахманин Ю.А., Момот Т.В. и др. Оценка изменений липидного состава плазмы крови и мембран эритроцитов студентов в условиях учебной нагрузки и их профилактика // *Гигиена и санитария*. 2020;99(2):187-192. DOI: 10.33029/0016-9900-2020-99-2-187-192.
6. Круглова И.В., Давидян О.В. Оценка эффективности применения Омега-3-полиненасыщенных жирных кислот у спортсменов в комплексе восстановительных мероприятий // *Вопросы диетологии*. 2017;7(3):20-27. DOI: 10.20953/2224-5448-2017-3-20-27.
7. Siener R., Altheld B., Terjung B. et al. Change in the fatty acid pattern of erythrocyte membrane phospholipids after oral supplementation of specific fatty acids in patients with gastrointestinal diseases // *Eur.*

REFERENCES

1. Armstrong M.E.G., Green J., Reeves G.K. et al. Frequent physical activity may not reduce vascular disease risk as much as moderate: Large prospective study of women in the United Kingdom. *Circulation*. 2015;131(8):721-729. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.114.010296.
2. Gostyukhina A.A., Zamoshchina T.A., Svetlik M.V. et al. Behavioral activity of rats in the «open field» after the light and dark deprivation and physical exhaustion. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2016;15(3):16-23. DOI: 10.20538/1682-0363-2016-3-16-23. (In Russ.)
3. Grigorjeva M.E., Sorokoletov S.M., Korobovsky A.V., Lyapina L.A. Blood fluidity during physical exertion of various types. *Sports medicine: research and practice*. 2022;12(4):45-58. DOI: 10.47529/2223-2524.2022.4.3. (In Russ.)
4. Medeiros-Lima D.J., Mendes-Ribeiro A.C., Brunini T.M. et al. Erythrocyte nitric oxide availability and oxidative stress following exercise. *Clin. Hemorheol. Microcirc.* 2017;65(3):219-228. DOI: 10.3233/CH-16162.
5. Kushnerova N.F., Rakhmanin Yu.A., Momot T.V. et al. Assessment of changes in the lipid composition of blood plasma and erythrocyte membranes in students under study load and their prevention. *Hygiene and Sanitation, Russian journal*. 2020;99(2):187-192. DOI: 10.33029/0016-9900-2020-99-2-187-192. (In Russ.)
6. Kruglova I.V., Davidyan O.V. Effectiveness of omega-3 polyunsaturated fatty acids in a complex of recovery measures for athletes. *Vopr. Dietol. (Nutrition)*. 2017;7(3):20-27. DOI: 10.20953/2224-5448-2017-3-20-27. (In Russ.)
7. Siener R., Altheld B., Terjung B. et al. Change in the fatty acid pattern of erythrocyte membrane phospholipids after oral supplementation of specific fatty acids in patients with gastrointestinal diseases. *Eur. J. Clin. Nutr.* 2010;64(4):410-418. DOI: 10.1038/ejcn.2009.151.

- J. Clin. Nutr. 2010;64(4):410-418. DOI: 10.1038/ejcn.2009.151.
8. Zaloga G.P. Narrative review of n-3 polyunsaturated fatty acid supplementation upon immune functions, resolution molecules and lipid peroxidation // *Nutrients*. 2021;13(2):662. DOI: 10.3390/nu13020662.
9. Joumard-Cubizolles L., Lee J.C., Vigor C. et al. Insight into the contribution of isoprostanooids to the health effects of omega 3 PUFAs // *Prostaglandins Other Lipid Mediat*. 2017;133:111-122. DOI: 10.1016/j.prostaglandins.2017.05.005.
10. Stupin M., Kibel A., Stupin A. et al. The physiological effect of n-3 polyunsaturated fatty acids (n-3 PUFAs) intake and exercise on hemorheology, microvascular function, and physical performance in health and cardiovascular diseases; is there an interaction of exercise and dietary n-3 PUFA intake? // *Front. Physiol*. 2019;10:1129. DOI: 10.3389/fphys.2019.01129.
11. Criegee R. Mechanism of ozonolysis // *Angew. Chem. Int. Ed. Engl*. 1975;14(11):745-752.
12. Перетягин С.П., Гордеев А.С., Соловьева А.Г. и др. Влияние низкочастотного электроимпульсного воздействия на физико-химические показатели и биологическую активность крема, содержащего активные формы кислорода // *Биорадикалы и антиоксиданты*. 2017;4(4):57-64.
13. Дерюгина А.В., Ошевенский Л.В., Таламанова М.Н. и др. Изменение электрокинетических и биохимических характеристик эритроцитов при действии электромагнитных волн терагерцового диапазона // *Биофизика*. 2017;62(6):1108-1113.
14. Дерюгина А.В., Грачева Е.А. Эффективность цитофлавина при экспериментальной артериальной гипертензии // *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2020;83(2):8-11. DOI: 10.30906/0869-2092-2020-83-2-8-11.
15. Виноградова И.Л., Багрянцева С.Ю., Дервиз Г.В. Метод одновременного определения 2,3-ДФГ и АТФ в эритроцитах // *Лабораторное дело*. 1980;7:424-426.
16. Дерюгина А.В., Бояринов Г.А., Симутис И.С. и др. Коррекция озонированной эритроцитарной массой метаболических показателей эритроцитов и структуры миокарда после острой кровопотери // *Цитология*. 2018;60(2):89-95. DOI: 10.31116/tsitol.2018.02.03.
17. Лифшиц В.М., Сидельникова В.И. Медицинские лабораторные анализы: справочник. Изд. 3-е, испр. и доп. М.: Триада-Х, 2007. 298 с.
18. Новицкий В.В., Рязанцева Н.В., Степовая Е.А. и др. Молекулярные нарушения мембраны эритроцитов при патологии разного генеза являются типовой реакцией организма: контуры проблемы // *Бюллетень сибирской медицины*. 2006;5(2):62-69. DOI: 10.20538/1682-0363-2006-2-62-69.
19. Тапбергеннов С.О., Советов Б.С., Тапбергеннов А.Т., Ганн Э. Метаболические эффекты сочетанного введения комплекса аденозин и аденозинмонофосфат при гиперadreналинии // *Наука и здравоохранение*. 2017;2:92-104.
20. Arashiki N., Takakuwa Y. Maintenance and regulation of asymmetric phospholipid distribution in human erythrocyte membranes: implications for erythrocyte functions // *Curr. Opin. Hematol*. 2017;24(3):167-172 DOI: 10.1097/MOH.0000000000000326.
8. Zaloga G.P. Narrative review of n-3 polyunsaturated fatty acid supplementation upon immune functions, resolution molecules and lipid peroxidation. *Nutrients*. 2021;13(2):662. DOI: 10.3390/nu13020662.
9. Joumard-Cubizolles L., Lee J.C., Vigor C. et al. Insight into the contribution of isoprostanooids to the health effects of omega 3 PUFAs. *Prostaglandins Other Lipid Mediat*. 2017;133:111-122. DOI: 10.1016/j.prostaglandins.2017.05.005.
10. Stupin M., Kibel A., Stupin A. et al. The physiological effect of n-3 polyunsaturated fatty acids (n-3 PUFAs) intake and exercise on hemorheology, microvascular function, and physical performance in health and cardiovascular diseases; is there an interaction of exercise and dietary n-3 PUFAs intake? *Front. Physiol*. 2019;10:1129. DOI: 10.3389/fphys.2019.01129.
11. Criegee R. Mechanism of ozonolysis. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl*. 1975;14(11):745-752.
12. Peretyagin S.P., Gordetsov A.S., Soloveva A.G. et al. The influence of low-frequency electropulse exposure on the physicochemical parameters and biological activity of a cream containing reactive oxygen species. *Bioradicals and Antioxidants*. 2017;4(4):57-64. (In Russ.)
13. Deryugina A.V., Oshevenskiy L.V., Talamanova M.N. et al. Changes in electrokinetic and biochemical characteristics in erythrocytes under the action of terahertz electromagnetic waves. *Biophysics*. 2017;62(6):1108-1113. (In Russ.)
14. Deryugina A.V., Gracheva E.A. Efficacy of cytoflavin administration in rats with experimental arterial hypertension. *Experimental and Clinical Pharmacology*. 2020;83(2):8-11. DOI: 10.30906/0869-2092-2020-83-2-8-11. (In Russ.)
15. Vinogradova I.L., Bagryantseva S.Yu., Derviz G.V. Method for the simultaneous determination of 2,3-DPG and ATP in erythrocytes. *Lab Science*. 1980;7:424-426. (In Russ.)
16. Deryugina A.V., Boyarinov G.A., Simutis I.S. et al. Correction by ozonated erythrocyte mass of erythrocyte metabolic parameters and myocardial structure after acute blood loss. *Tsitologiya*. 2018;60(2):89-95. DOI: 10.31116/tsitol.2018.02.03. (In Russ.)
17. Lifshitz V.M., Sidelnikova V.I. (2007). *Medical Laboratory Tests: reference book*. 3rd ed., revis. and enlarg. Moscow: Triada-X. 298 p.
18. Novitsky V.V., Ryazantseva N.V., Stepovaya E.A. et al. Molecular disturbances of erythrocytes membrane during pathology of different genesis are the typical reaction of the organism: contours of the problem. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2006;5(2):62-69. DOI: 10.20538/1682-0363-2006-2-62-69. (In Russ.)
19. Tapbergenov S.O., Sovetov B.S., Tapbergenov A.T., Hann E. Metabolic effects of combined integration of adenosine and adenosine monophosphate in hyperadenolemia. *Science and Healthcare*. 2017;2:92-104. (In Russ.)
20. Arashiki N., Takakuwa Y. Maintenance and regulation of asymmetric phospholipid distribution in human erythrocyte membranes: implications for erythrocyte functions. *Curr. Opin. Hematol*. 2017;24(3):167-172 DOI: 10.1097/MOH.0000000000000326.
21. Muravev A.V., Maymistova A.A., Tikhomirova I.A. et al. Role of protein kinases of human red cell membrane in

21. Муравьев А.В., Маймистова А.А., Тихомирова И.А. и др. Роль протеинкиназ мембраны эритроцитов человека в изменениях их деформируемости и агрегации // Физиология человека. 2012;38(2):94-100.
22. Колупаева Е.А., Беляева Л.М. Современный взгляд на рыбий жир // Медицинские новости. 2013;10:40-42.
23. Barceló-Coblijn G., Murphy E.J., Othman R. et al. Flaxseed oil and fish-oil capsule consumption alters human red blood cell n-3 fatty acid composition: a multiple-dosing trial comparing 2 sources of n-3 fatty acid // Am. J. Clin. Nutr. 2008;88(3):801-809. DOI: 10.1093/ajcn/88.3.801.
24. Ho M., Maple C., Bancroft A. et al. The beneficial effects of omega-3 and omega-6 essential fatty acid supplementation on red blood cell rheology // Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids. 1999;61:13-17. DOI: 10.1054/plef.1999.0066.
25. Исхакова Р.Р., Сайфуллина Ф.Р. Озонотерапия в офтальмологии // Казанский медицинский журнал. 2013;94(4):510-516.
26. Yamaguchi T., Fukuzaki S. ATP effects on response of human erythrocyte membrane to high pressure // Biophys. Physicobiol. 2019;16:158-166. DOI: 10.2142/biophysico.16.o_158.
27. Gonzalez-Alonso J., Olsen D. B., Saltin B. Erythrocyte and the regulation of human skeletal muscle blood flow and oxygen delivery: role of circulating ATP // Circ. Res. 2002;91(11):1046-1055. DOI: 10.1161/01.RES.0000044939.73286.E2.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Дерюгина Анна Вячеславовна – д-р биол. наук, доцент, заведующий кафедрой физиологии и анатомии Института биологии и биомедицины ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского», Нижний Новгород, Россия. ORCID: 0000-0001-8812-8559.

Ястребов Павел Викторович – младший научный сотрудник кафедры физиологии и анатомии Института биологии и биомедицины ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского», Нижний Новгород, Россия. ORCID: 0009-0008-0443-9527.

Бояринов Геннадий Андреевич – д-р мед. наук, профессор, ведущий научный сотрудник кафедры физиологии и анатомии Института биологии и биомедицины ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского»; профессор кафедры анестезиологии, реаниматологии и трансфузиологии ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет», Нижний Новгород, Россия. ORCID: 0000-0002-7557-0564.

Старателева Юлия Андреевна – канд. биол. наук, старший преподаватель кафедры физиологии и анатомии Института биологии и биомедицины ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского», Нижний Новгород, Россия. ORCID: 0009-0006-5234-5985.

- deformability and aggregation changes. *Human Physiology*. 2012;38(2):94-100. (In Russ.)
22. Kolupaeva E.A., Belyaeva L.M. Modern view of fish oil. *Meditinskije novosti*. 2013;10:40-42. (In Russ.)
23. Barceló-Coblijn G., Murphy E.J., Othman R. et al. Flaxseed oil and fish-oil capsule consumption alters human red blood cell n-3 fatty acid composition: a multiple-dosing trial comparing 2 sources of n-3 fatty acid. *Am. J. Clin. Nutr.* 2008;88(3):801-809. DOI: 10.1093/ajcn/88.3.801.
24. Ho M., Maple C., Bancroft A. et al. The beneficial effects of omega-3 and omega-6 essential fatty acid supplementation on red blood cell rheology. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids*. 1999;61:13-17. DOI: 10.1054/plef.1999.0066.
25. Iskhakova R.R., Sayfullina F.R. Ozone therapy in ophthalmology. *Kazan Medical Journal*. 2013;94(4):510-516. (In Russ.)
26. Yamaguchi T., Fukuzaki S. ATP effects on response of human erythrocyte membrane to high pressure. *Biophys. Physicobiol.* 2019;16:158-166. DOI: 10.2142/biophysico.16.o_158.
27. Gonzalez-Alonso J., Olsen D. B., Saltin B. Erythrocyte and the regulation of human skeletal muscle blood flow and oxygen delivery: role of circulating ATP. *Circ. Res.* 2002;91(11):1046-1055. DOI: 10.1161/01.RES.0000044939.73286.E2.

ABOUT THE AUTHORS

Anna V. Deryugina – Dr. Sci. (Biol.), Associate Professor, Head, Department of Physiology and Anatomy, Institute of Biology and Biomedicine, Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod, Nizhny Novgorod, Russia. ORCID: 0000-0001-8812-8559.

Pavel V. Yastrebov – Junior Researcher, Department of Physiology and Anatomy, Institute of Biology and Biomedicine, Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod, Nizhny Novgorod, Russia. ORCID: 0009-0008-0443-9527.

Gennady A. Boyarinov – Dr. Sci. (Med.), Professor, Leading Researcher, Department of Physiology and Anatomy, Institute of Biology and Biomedicine, Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod; Professor, Department of Anesthesiology, Resuscitation and Transfusiology, Privolzhsky Research Medical University, Nizhny Novgorod, Russia. ORCID: 0000-0002-7557-0564.

Julia A. Starateleva – Cand. Sci. (Biol.), Senior Lecturer, Department of Physiology and Anatomy, Institute of Biology and Biomedicine, Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod, Nizhny Novgorod, Russia. ORCID: 0009-0006-5234-5985.

Экспериментальное изучение хронической токсичности пегилированного интерферона лямбда-1

Л.А. Олейник, К.И. Ершов, В.Е. Забанова, Г.И. Байкалов, К.И. Бахарева, М.С. Солдатова, А.О. Кушнарченко, А.А. Муллагалиев, А.Д. Рыбакова

НИИ клинической и экспериментальной лимфологии – филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», Новосибирск, Россия

АННОТАЦИЯ

В в е д е н и е . Интерфероны лямбда (ИФН-λ), известные как интерфероны III типа (ИФН III типа), демонстрируют значительные перспективы в области антивирусной защиты. ИФН-λ схожи в своей антивирусной активности с ИФН I типа, но имеют уникальные механизмы индукции и функционирования благодаря специфичному расположению своих рецепторов. Рецепторы I типа экспрессируются в большинстве клеток с ядром, рецепторы ИФН-λ (IFN-λR1 или IL-28Rα) в основном обнаруживаются в эпителиальных клетках. ИФН-λ позиционируются как первая линия защиты при микробных атаках, поэтому создание лекарственных препаратов (ЛП) на их основе представляется весьма перспективным. Уже создан прототип энтерального ЛП на основе ИФН-λ, пегилированного по технологии электронно-лучевого синтеза.

Ц е л ь . В экспериментах *in vivo* изучить общие токсические свойства ЛП ИФН-λ1 при внутрижелудочном пути введения.

М а т е р и а л ы и м е т о д ы . ЛП ИФН-λ1 вводили ежедневно внутрижелудочно в дозах 2.6, 13.0 и 26.0 мкг/кг (1 терапевтическая доза (ТД), 5 ТД и 10 ТД соответственно) крысам и 2.6 и 13.0 мкг/кг (1 ТД и 5 ТД) кроликам один раз в день в течение 180 дней. Дозы ЛП рассчитывались для каждого животного индивидуально, исходя из массы тела. Наблюдение за кроликами осуществлялось в течение введения ЛП (180 дней), а для крыс – дополнительно в течение 30 дней после окончания введения (210 дней). У животных оценивали показатели витальных функций, поведенческие реакции, лабораторные параметры клеточного и биохимического состава крови, результаты электрокардиографии, показатели гемопоэза, патоморфологические признаки.

Р е з у л ь т а т ы . В ходе исследования не наблюдалось летальных исходов. Животные демонстрировали стабильное состояние здоровья, без видимых изменений в аппетите, внешнем виде и поведении. В ходе патоморфологического анализа не обнаружено аномалий, которые могли бы указывать на негативное воздействие вещества. Выявлено достоверное снижение массы и коэффициента массы тимуса и селезенки у крыс, получавших препарат в дозе 26.0 мкг/кг через 180 дней введения по сравнению с соответствующим контролем. Через 30 дней после отмены препарата масса и коэффициент массы тимуса и селезенки нормализовались во всех группах, где наблюдались отклонения. Микроскопическое исследование внутренних органов крыс, получавших максимальную дозу ЛП ИФН-λ1 (26.0 мкг/кг) на протяжении 180 дней, выявило специфические изменения в тимусе и селезенке, при этом анализ тимуса и селезенки у крыс, получавших более низкую дозу ЛП ИФН-λ1 (13.0 мкг/кг), не выявил аналогичных патологических изменений. Это указывает на возможность зависимости токсического воздействия от дозы препарата. Через 30 дней после отмены ЛП ИФН-λ1 масса и коэффициент массы тимуса и селезенки крыс, получавших максимальную дозу ЛП ИФН-λ1, возвращались к нормальным значениям и не отличались от соответствующего контроля. Как и у крыс, так и у кроликов показатели прироста массы тела, периферической крови и состояния костного мозга, биохимические показатели сыворотки крови как у самцов, так и у самок в экспериментальных и контрольных группах на протяжении всего исследования существенно не отличались. Патоморфологическое исследование не обнаружило изменений в таких критически важных органах, как мозг, сердце, легкие, печень и другие, что свидетельствует об отсутствии негативного воздействия лекарства на здоровье и состояние тканей кроликов.

Поступила в редакцию 05.10.2024
Прошла рецензирование 29.10.2024
Принята к публикации 15.11.2024

Автор, ответственный за переписку

Олейник Лариса Алексеевна: НИИ клинической и экспериментальной лимфологии – филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук». 630060, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2.
E-mail: larysa.oleynik@gmail.com

Received 05.10.2024
Revised 29.10.2024
Accepted 15.11.2024

Corresponding author

Larisa A. Oleinik: Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology – Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, 2, Timakova str., Novosibirsk, 630060, Russia.
E-mail: larysa.oleynik@gmail.com

З а к л ю ч е н и е . На основании экспериментов *in vivo* по изучению общетоксических свойств ЛП ИФН- λ 1 при внутривенном пути введения можно утверждать, что препарат относится к 4-му классу опасности (ГОСТ 12.1.007-76).

Ключевые слова: хроническая токсичность, интерферон лямбда-1, пегилирование.

Образец цитирования: Олейник Л.А., Ершов К.И., Забанова В.Е., Байкалов Г.И., Бахарева К.И., Солдатова М.С., Кушнаренко А.О., Муллағалиев А.А., Рыбакова А.Д. Экспериментальное изучение хронической токсичности пегилированного интерферона лямбда-1 // Journal of Siberian Medical Sciences. 2024;8(4):90-100. DOI: 10.31549/2542-1174-2024-8-4-90-100

An experimental study of PEGylated interferon lambda-1 chronic toxicity

L.A. Oleinik, K.I. Ershov, V.E. Zabanova, G.I. Baikalov, K.I. Bakhareva, M.S. Soldatova, A.O. Kushnarenko, A.A. Mullagaliev, A.D. Rybakova

Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology – Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia

ABSTRACT

I n t r o d u c t i o n . Lambda interferons (IFN- λ), known as type III interferons (type III IFN), demonstrate significant prospects in the field of antiviral defense. IFN- λ are similar in their antiviral activity to type I IFN, but have unique mechanisms of induction and functioning because of the specific location of their receptors. Type I receptors are expressed in most nucleated cells, IFN- λ receptors (IFN- λ R1 or IL-28R α) are mainly found in epithelial cells. IFN- λ are considered as the first line of defense against microbial attacks, therefore, the development of IFN- λ -based drugs seems very promising. A prototype of an IFN- λ -based drug for enteral administration, PEGylated (polyethylene glycol) using electron beam synthesis technology, has already been developed.

A i m . To study the common toxic properties of the intragastrically administered IFN- λ 1-based drug in experiments *in vivo*.

M a t e r i a l s a n d m e t h o d s . The IFN- λ 1-based drug was administered daily intragastrically at doses of 2.6, 13.0 and 26.0 μ g/kg (1 therapeutic dose (TD), 5 TD and 10 TD, respectively) to rats and 2.6 and 13.0 μ g/kg (1 TD and 5 TD) to rabbits once a day for 180 days. The doses of the drug were calculated for each animal individually, based on body weight. Rabbits were followed-up during the drug administration (180 days), and rats – additionally for 30 days after the end of administration (210 days). In animals, vital signs, behavioral reactions, laboratory parameters of cellular and biochemical composition of blood, electrocardiography data, hematopoiesis parameters, pathomorphological signs were assessed.

R e s u l t s . No deaths were observed during the study. The animals showed a stable state of health, the absence of visible changes in an appetite, appearance, and behavior. During a pathomorphological examination, no abnormalities were found that could indicate a negative effect of the substance. A significant decrease in the mass and mass coefficient of the thymus and spleen was revealed in rats receiving the drug at a dose of 26.0 μ g/kg after 180 days of administration compared with the corresponding control. The thymus and spleen mass and the mass coefficient of the thymus and spleen normalized 30 days after drug withdrawal in all groups, where abnormalities were observed. A microscopic examination of the internal organs of rats receiving the highest dose of the IFN- λ 1-based drug (26.0 μ g/kg) for 180 days revealed specific changes in the thymus and spleen, while analysis of the thymus and spleen in rats receiving a lower dose of the drug (13.0 μ g/kg) did not reveal similar pathological changes. This indicates the possibility of dose-dependent toxic effect of the drug. 30 days after the IFN- λ 1-based drug withdrawal, the mass and mass coefficient of the thymus and spleen of rats receiving the highest dose of the drug returned to the reference values and did not differ from the corresponding control. Both in rats and rabbits, the indicators of body weight gain, peripheral blood and bone marrow, biochemical parameters of the blood serum in both males and females in the experimental and control groups did not differ significantly throughout the study. The pathomorphological examination found no changes in such crucial organs as the brain, heart, lungs, liver, etc., which indicates the absence of negative effect of the drug on the health and condition of the tissues of rabbits.

C o n c l u s i o n . Based on *in vivo* experiments to study the common toxic properties of IFN- λ 1-based drug in the intragastric route of administration, it can be argued that the drug belongs to the 4th hazard class (GOST 12.1.007-76).

Keywords: chronic toxicity, interferon lambda-1, PEGylation.

Citation example: Oleinik L.A., Ershov K.I., Zabanova V.E., Baikalov G.I., Bakhareva K.I., Soldatova M.S., Kushnarenko A.O., Mullagaliev A.A., Rybakova A.D. An experimental study of PEGylated interferon lambda-1 chronic toxicity. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2024;8(4):90-100. DOI: 10.31549/2542-1174-2024-8-4-90-100

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время все больший интерес в терапии и профилактике вирусных заболеваний привлекает интерферон (ИФН) III типа, поскольку его система демонстрирует гораздо более ограниченную картину локализации, ограничиваясь слизистыми оболочками и анатомическими барьерами, что снижает риск возможных побочных эффектов [1, 2]. В то же время именно ИФН III типа первыми индуцируются при вирусной инфекции и являются доминирующими интерферонами в первичном противовирусном ответе [3, 4]. Нарушенные реакции ИФН I и III типа стали ахиллесовой пятой у пациентов с COVID-19 – выработка и активность интерферонов у них были подавлены, в результате чего развивалось тяжелое заболевание, и наблюдался высокий риск критической пневмонии и смертности [5]. В России разработана уникальная технология электронно-лучевого пегилирования, позволившая создать пегилированную форму ИФН- λ_1 , которая имеет высокую биодоступность при энтеральном введении [6, 7]. В АО «Сибирский центр фармакологии и биотехнологии», г. Новосибирск, создан лекарственный препарат (ЛП) на основе рекомбинантного ИФН- λ_1 , пегилированного по технологии электронно-лучевого синтеза. Схема получения и последующего пегилирования человеческого генно-инженерного ИФН- λ_1 описана в патенте РФ № 2678332. Высокая гидрофильность полиэтиленгликоля (ПЭГ) значительно влияет на физико-химические свойства белков, модифицированных этим соединением. ПЭГ способен притягивать воду благодаря наличию атомов водорода, которые образуют водородные связи с 2-3 молекулами воды на каждую молекулу ПЭГ. Это создает вокруг пегилированного белка так называемое водное облако, увеличивая его гидродинамический радиус. Такое увеличение радиуса способствует повышению растворимости и биодоступности белка, а также защищает его от разрушения иммунной системой через механизмы фагоцитоза и опсонизации. Изучена противовирусная активность ЛП ИФН- λ_1 в отношении вирусов гепатита С, аденовируса и вируса герпеса, SARS-CoV-2 [8–10]. Установлены параметры фармакокинетики ЛП ИФН- λ_1 при энтеральном пути введения [11]. Создание регистрационного досье ЛП предусматривает тщательное изучение параметров токсичности. Одним из важнейших его компонентов является экспериментальное изучение общетоксического действия в формате исследований хронической токсичности [12].

INTRODUCTION

Currently, type III interferon (IFN) is attracting increasing interest in the treatment and prevention of viral diseases, since its system demonstrates much more limited localization pattern (namely, mucous membranes and anatomical barriers), which reduces the risk of possible side effects [1, 2]. At the same time, it is type III IFNs that are the first to be induced in viral infection and are the dominant interferons in the primary antiviral response [3, 4]. Impaired IFN type I and III reactions became the Achilles heel in patients with COVID-19 – the production and activity of these interferons were suppressed, resulting in severe disease and a high risk of severe pneumonia and mortality [5]. A unique technology of electron beam PEGylation (polyethylene glycol) has been developed in Russia, which made it possible to create a PEGylated form of IFN- λ_1 with high bioavailability in intragastrical administration [6, 7]. In the Siberian Center of Pharmacology and Biotechnology (Novosibirsk) a recombinant IFN- λ_1 -based drug, PEGylated using electron beam synthesis technology, was developed. The method for obtaining and subsequent PEGylation of the human genetically engineered IFN- λ_1 is described in RF Patent No. 2678332. The high hydrophilicity of PEG significantly affects the physico-chemical properties of proteins modified with this compound. PEG is able to attract water due to the presence of hydrogen atoms which form hydrogen bonds with 2-3 water molecules per each PEG molecule. This creates a so-called water cloud around the PEGylated protein, increasing its hydrodynamic radius. The increase in radius improves the solubility and bioavailability of a protein, and also protects it against destruction by the immune system through the mechanisms of phagocytosis and opsonization. The antiviral activity of the IFN- λ_1 -based drug against hepatitis C virus, adenovirus and herpes virus, SARS-CoV-2 has been studied [8–10]. The pharmacokinetic parameters of the IFN- λ_1 -based drug in enteral administration have been determined [11]. The development of a registration dossier of a drug provide for a thorough study of the parameters of toxicity. One of its most important components is the experimental study of the common toxic effect in the context of chronic toxicity [12].

AIM OF THE RESEARCH

To study the common toxic properties of the intragastrically administered IFN- λ_1 -based drug in experiments *in vivo*.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

В экспериментах *in vivo* изучить общие токсические свойства ЛП ИФН-λ1 при внутрижелудочном пути введения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперименты проведены на 120 аутбредных, конвенциональных крысах массой 270–340 г (по 60 самцов и 60 самок) и 24 кроликах массой 2500–3000 г (по 12 самцов, 12 самок) по схемам, представленным в табл. 1 и 2, в следующих дозировках: терапевтическая доза 2.6 мкг/кг, средняя доза 13.0 мкг/кг, высшая доза 26.0 мкг/кг. Контрольная группа крыс включала 30 особей (15 самцов и 15 самок). Контрольная группа кроликов включала 8 особей (4 самца и 4 самки). В течение 180 дней каждому животному ежедневно вводилась доза тестируемого или референтного лекарственного средства внутрижелудочно. Плановая эвтаназия крыс проводилась на 90, 180 и 210-й день эксперимента, кроликов – на 180-й день эксперимента.

В ходе исследования крысам и кроликам препарат вводили внутрижелудочно ежедневно на протяжении 180 дней в дозах соответственно 2.6, 13.0 и 26.0 мкг/кг для крыс, а для кроликов – 2.6 и 13.0 мкг/кг. Дозировка определялась индивидуально для каждого животного, исходя из его массы тела. Препарат готовили, суспендируя в небольшом объеме фосфатно-солевого буфера, при этом максимальный объем инъекции не превышал 4–5 мл. Наблюдение за состоянием животных проводилось в период введения препарата и в течение 30 дней после завершения курса для крыс. Наблюдение за состоянием здоровья животных включало ежедневные осмотры утром и вечером для выявления признаков ток-

MATERIALS AND METHODS

The experiments were carried out on 120 conventional outbred rats weighing 270–340 g (60 males and 60 females) and 24 rabbits weighing 2500–3000 g (12 males and 12 females each) according to the design presented in Tables 1 and 2, in the following dosages: the therapeutic dose is 2.6 µg/kg, the average dose is 13.0 µg/kg, the highest dose is 26.0 µg/kg. The control group of rats included 30 animals (15 males and 15 females). The control group of rabbits included 8 animals (4 males and 4 females). During 180 days, each animal was administered a daily dose of the studied or reference drug intragastrically. Planned euthanasia of rats was performed on the 90th, 180th and 210th days of the experiment, rabbits – on the 180th day.

During the study, the drug was administered intragastrically to rats and rabbits daily for 180 days at doses of 2.6, 13.0 and 26.0 µg/kg for rats and 2.6 and 13.0 µg/kg for rabbits, respectively. The dosage was determined individually for each animal based on its body weight. The drug was prepared by suspending in a small volume of phosphate-buffered saline, while the maximal administered volume did not exceed 4–5 ml. The animals were followed up during drug administration, and for 30 days after withdrawal of the drug in rats. Animal health monitoring included daily examinations in the morning and evening to identify signs of toxicity or deterioration of health, including the fatal outcomes recording. The examinations were performed in the cages or on an open surface when necessary. Regular clinical examinations of animals from all groups were performed every week throughout the study, including the assessment of excretion, state of hair, skin, mucous membranes, appetite, respiration and behavioral reactions. Special attention was paid to

Таблица 1. Дизайн эксперимента по изучению хронической токсичности ЛП ИФН-λ1 на крысах при однократном ежедневном внутрижелудочном введении препарата в течение 180 дней

Table 1. The design of an experiment to study the chronic toxicity of the IFN-λ1-based drug in rats with a single daily intragastric administration for 180 days

Группа Group	Доза ЛП ИФН-λ1, мкг/кг Dose, µg/kg	Количество животных в группе Number of animals in the group					
		90-й день 90th day		180-й день 180th day		210-й день 210th day	
		♂	♀	♂	♀	♂	♀
Контроль / Control	0	5	5	5	5	5	5
Терапевтическая доза Therapeutic dose	2.6	5	5	5	5	5	5
Средняя доза / Average dose	13.0	5	5	5	5	5	5
Высшая доза / Highest dose	26.0	5	5	5	5	5	5

Таблица 2. Дизайн эксперимента по изучению хронической токсичности ИФН- λ 1 на кроликах при ежедневном однократном внутрижелудочном введении препарата в течение 180 дней**Table 2.** The design of an experiment to study the chronic toxicity of the IFN- λ 1-based drug in rabbits with a single daily intragastric administration for 180 days

Группа Group	Доза ЛП ИФН- λ 1, мкг/кг Dose, μ g/kg	Кол-во животных в группе Number of animals in the group	
		♂	♀
Контроль / Control	0	4	4
Терапевтическая доза / Therapeutic dose	2.6	4	4
Высшая доза / Highest dose	13.0	4	4

сичности или ухудшения здоровья, включая фиксацию случаев летального исхода. Осмотры проводились непосредственно в клетках или на открытой поверхности при необходимости. Регулярные клинические осмотры животных из всех групп выполнялись каждую неделю на протяжении всего исследования, включая оценку экскреции, состояния шерсти, кожи, слизистых, аппетита, дыхания и поведенческих реакций. Особое внимание уделялось изменениям в активности, возбудимости, походке и другим визуально заметным признакам.

Для анализа лабораторных показателей и перед выполнением эвтаназии (перед 90, 180, 210-м днем эксперимента) животные оставались без корма на ночь. Температуру тела измеряли за день до эвтаназии с использованием ректального электронного термометра. Лабораторные исследования проводились в несколько этапов. Для крыс на 90, 180, и 210-й день, для кроликов – на 90 и 180-й день. Забор крови у крыс проводился из хвостовой вены, а у кроликов – через краевую ушную вену с использованием микрокувет объемом 0.2 мл для гематологического анализатора Mythic 18 Vet и биохимического анализатора и ионселективного анализатора электролитов. Для оценки костномозгового кроветворения использовался метод подсчета миелокариоцитов из бедренной кости. Почечный метаболизм у крыс анализировался по показателям суточного диуреза, содержания глюкозы, билирубина, кетонов, удельной плотности, скрытой крови, белка, уробилиногена, нитритов, лейкоцитов, а также уровню pH мочи с использованием автоматического анализатора мочи и тест-полосок. Водную нагрузку осуществляли путем внутрижелудочного введения дистиллированной воды, рассчитанной как 2% от массы тела животных.

Функциональное исследование сердечно-сосудистой системы крыс проводилось за день до плановой эвтаназии в каждой из эксперимен-

changes in activity, excitability, gait and other visible signs.

To analyze laboratory parameters and before euthanasia (before the 90th, 180th, 210th day of the experiment), the animals were not fed overnight. Body temperature was measured rectally the day before euthanasia using an electronic thermometer. Lab tests were performed in several stages: for rats, on the 90th, 180th, and 210th day; for rabbits, on the 90th and 180th day. Blood samples in rats was drawn from the tail vein, and in rabbits, through the marginal auricular vein using 0.2 ml micro cuvettes for a Mythic 18 Vet hematological analyzer, and biochemical analyzer, and ion selective-based electrolyte analyzer. To assess bone marrow hematopoiesis, the method of counting myelokaryocytes from the femoral bone was used. Renal metabolism in rats was assessed by the indicators of 24-hour diuresis, glucose, bilirubin, ketones, specific gravity, occult blood, protein, urobilinogen, nitrites, leukocytes, as well as urine pH values using an automated urine analyzer and test strips. The water load was performed by intragastric administration of distilled water calculated as 2% of the body weight of the animals.

A functional study of the cardiovascular system of rats was performed one day before the planned euthanasia in each experimental group. Electrocardiograms (ECG) were recorded on a Poly-Spectrum-8/V device using the standard lead-II at an amplification of 1 mV = 20 mm, and a recording speed of 50 mm/s. Data was processed in Poly-Spectrum program.

The effects on the central nervous system (CNS) of rats were studied by observing their behavior in the open field test.

Pathomorphology and histology. Immediately after the autopsy, the organs were taken for further study. The tissues were fixed, dehydrated, impregnated with paraffin and embedded in paraffin blocks. Using a microtome, serial thin sections of tissues with a thickness no more than 5 μ m were made which

тальных групп. Электрокардиограммы (ЭКГ) записывались с помощью устройства «Поли-Спектр-8/В» во втором стандартном отведении при усилении 1 мВ = 20 мм и скорости записи 50 мм/с. Обработка данных выполнялась в программе «Поли-Спектр».

Изучение влияния на центральную нервную систему (ЦНС) крыс проводилось путем наблюдения за их поведением в экспериментальной установке, известной как «открытое поле».

Патоморфология и гистология. Непосредственно после вскрытия забирали органы для дальнейшего исследования. Ткани фиксировали, дегидратировали, пропитывали парафином и встраивали в парафиновые блоки. С помощью микротомы готовили серийные тонкие срезы тканей толщиной не более 5 мкм, которые затем окрашивали гематоксилином и эозином. Анализ и оценка морфологического состояния тканей проводились с использованием световой микроскопии, что позволяло детально изучить структурные изменения в образцах.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В исследовании на крысах, оценивавшем хроническую токсичность ЛП ИФН- λ_1 (дизайн исследования см. в табл. 1), не наблюдалось летальных исходов в течение всего периода тестирования. Животные демонстрировали стабильное состояние здоровья, без видимых изменений в аппетите, внешнем виде и поведении. Регулярные измерения массы тела, а также анализы состояния крови и другие биохимические показатели не выявили значительных отличий между экспериментальными и контрольными группами. Это указывает на отсутствие серьезной токсичности препарата в течение длительного времени его применения.

В проведенном патоморфологическом анализе в рамках исследования хронической токсичности препарата ЛП ИФН- λ_1 на крысах не обнаружено аномалий, которые могли бы указывать на негативное воздействие вещества. Детальный осмотр включал оценку внешнего состояния животных, черепной, грудной, брюшной и тазовой полостей, а также скелетно-мышечной системы. Исследования проводились на 90, 180 и 210-й день после начала применения препарата. Результаты подтвердили хорошую переносимость ЛП ИФН- λ_1 и отсутствие хронической токсичности, что делает его потенциально безопасным для длительного использования.

Взвешивание основных внутренних органов при вскрытии выявило достоверное снижение

were then stained with hematoxylin and eosin. The analysis and assessment of the tissue morphology state were carried out using light microscopy, which allowed to study in detail the structural changes in the samples.

RESULTS AND DISCUSSION

In a rat study evaluating the chronic toxicity of the IFN- λ_1 -based drug (the study design, Table 1), no fatal outcomes were observed during the entire experiment. The animals showed a stable state of health, without visible changes in an appetite, appearance, and behavior. Regular measurements of body weight, as well as hematological and biochemistry tests did not reveal significant differences between the experimental and control groups. This indicates the absence of serious toxicity of the drug over a long term of its use.

During the pathomorphological examination as part of the study of the chronic toxicity of the IFN- λ_1 -based drug, no abnormalities were found in rats that could indicate an adverse effect of the substance. The detailed examination included the assessment of appearance of the animals, state of cranial, thoracic, abdominal and pelvic cavities, as well as the musculoskeletal system. The studies were conducted on the 90th, 180th and 210th day after the start of the drug administration. The results confirmed good tolerability of the drug and the absence of chronic toxicity, making it potentially safe for long-term use.

Weighing of the vital internal organs at autopsy revealed a significant decrease in the mass and mass coefficient of the thymus and spleen in male rats received the drug at a dose of 26.0 $\mu\text{g/kg}$ after 180 days of his administration compared with the corresponding control. In females of this series, the spleen mass and spleen mass coefficient as well as the thymus mass coefficient were also significantly reduced. In addition, the spleen mass coefficient was lower in females in the group of animals that received the drug at a dose of 13.0 $\mu\text{g/kg}$. 30 days after withdrawal of the drug, the mass and mass coefficient of the thymus and spleen returned to the reference values in all groups where abnormalities were observed. The values of the mass and mass coefficient of the other organs did not differ from the control.

The microscopic examination of the internal organs of rats that received the highest dose of the IFN- λ_1 -based drug (26.0 $\mu\text{g/kg}$) for 180 days revealed specific changes in the thymus and spleen. In the thymus, there was a decrease in the number of cells in the cortical and medullary regions, the appearance of Hassall's corpuscles with signs of keratinization and foci of sclerosis. The spleen showed a

массы и коэффициента массы тимуса и селезенки у самцов крыс, получавших препарат в дозе 26.0 мкг/кг, через 180 дней введения ЛП ИФН- λ_1 , по сравнению с соответствующим контролем. У самок в этой серии исследования также были достоверно снижены масса селезенки и коэффициент массы селезенки, а также коэффициент массы тимуса. Кроме того, у самок был снижен коэффициент массы селезенки в группе животных, получавших препарат в дозе 13.0 мкг/кг. Через 30 дней после отмены препарата масса и коэффициент массы тимуса и селезенки нормализовались во всех группах, где наблюдались отклонения. Значения массы и коэффициента массы остальных органов не отличались от контроля.

Микроскопическое исследование внутренних органов крыс, подвергшихся длительному воздействию максимальной дозы ЛП ИФН- λ_1 (26.0 мкг/кг) на протяжении 180 дней, выявило специфические изменения в тимусе и селезенке. В тимусе наблюдалось уменьшение количества клеток в корковой и мозговой зонах, появление тимических телец с признаками ороговения и очагов склероза. Селезенка демонстрировала уменьшение размеров лимфоидных фолликулов, особенно в мантийной зоне, и снижение общей клеточности. В то время как другие органы, включая головной мозг, сердце, легкие, печень и др., не показали морфологических изменений. При этом анализ параметров тимуса и селезенки у крыс, получавших более низкую дозу ЛП ИФН- λ_1 (13.0 мкг/кг), не выявил аналогичных патологических изменений. Это указывает на возможность зависимости токсического воздействия от дозы препарата. Через 30 дней после отмены ЛП ИФН- λ_1 масса и коэффициент массы тимуса и селезенки крыс, получавших максимальную дозу ЛП ИФН- λ_1 , возвращались к нормальным значениям и не отличались от соответствующего контроля. Вероятнее всего, в данном случае имеет место реализация класс-специфических эффектов от введения ЛП ИФН- λ_1 , а именно подавление активности цитоплазматической протеинкиназы и аденилатциклазы.

В исследовании на кроликах, оценивавшем хроническую токсичность ЛП ИФН- λ_1 (дизайн исследования см. в табл. 2), не было отмечено гибели животных, а также изменения их общего состояния и различий в потреблении корма и воды. Как и у крыс, у кроликов показатели прироста массы тела, показатели периферической крови и состояния костного мозга, биохимические показатели сыворотки крови как у самцов,

decrease in the size of lymphoid follicles, especially in the mantle zone, and total cellularity decrease; while other organs, including the brain, heart, lungs, liver, etc., did not show morphological changes. At the same time, the analysis of the thymus and spleen parameters in rats receiving a lower dose of the IFN- λ_1 -based drug (13.0 $\mu\text{g/kg}$) did not reveal similar pathological changes. This indicates the possibility of dependence of toxic effects on the dose of the drug. 30 days after withdrawal of the IFN- λ_1 -based drug, the mass and mass coefficient of the thymus and spleen of rats that received the highest dose of the drug, returned to the reference values and did not differ from the corresponding control. Most likely, in this case, there is a realization of class-specific effects caused by the administration of the IFN- λ_1 -based drug, namely, inhibition of activity of cytoplasmic protein kinase and adenylate cyclase.

In a rabbit study evaluating the chronic toxicity of the IFN- λ_1 -based drug (the study design, Table 2), no deaths of animals were observed, as well as changes in their performance status and differences in food and water consumption. As in rats, in rabbits, body weight gain, peripheral blood and bone marrow parameters, and biochemical blood serum values did not differ significantly in both males and females in the experimental and control groups throughout the study.

A pathomorphological examination of the chronic toxicity of the IFN- λ_1 -based drug, administered intragastrically to rabbits during 180 days every single day, confirmed the absence of macro- and microscopic abnormalities in the organs. Throughout the experiment, animals, including that received the highest dose (13.0 $\mu\text{g/kg}$), did not show changes in such vital organs as the brain, heart, lungs, liver and others, which shows the absence of negative effects of the drug on the health and state of rabbit tissues.

In the course of the pathomorphological examination following long-term administration of the IFN- λ_1 -based drug, the vital parenchymal organs of rabbits were weighed to assess their mass and calculate the organ mass coefficient. The analysis of data on organ mass and mass coefficients did not reveal statistically significant differences between rabbits in the control and experimental groups. These results show that the IFN- λ_1 -based drug does not cause local irritation and does not affect the morphological state of the studied organs, confirming its potential safety for long-term use.

CONCLUSION

The performed study allows us to draw the following conclusions:

так и у самок в экспериментальных и контрольной группах на протяжении всего исследования существенно не отличались.

Патоморфологическое исследование хронической токсичности ЛП ИФН- λ_1 , проведенное в течение 180 дней ежедневного внутрижелудочного введения кроликам, подтвердило отсутствие макро- и микроскопических патологий в органах. На протяжении всего эксперимента у животных, получавших препарат, включая тех, кто получал максимальную дозу (13.0 мкг/кг), не наблюдалось изменений в таких критических важных органах, как мозг, сердце, легкие, печень и другие, что свидетельствует об отсутствии негативного воздействия лекарства на здоровье и состояние тканей кроликов.

В ходе патоморфологического анализа после длительного введения ЛП ИФН- λ_1 проводили взвешивание важных паренхиматозных органов кроликов для оценки их массы и расчета коэффициента массы органов. Изучение данных по массе органов и коэффициентам массы не выявило статистически значимых отличий между кроликами контрольной и экспериментальных групп. Эти результаты свидетельствуют о том, что ЛП ИФН- λ_1 не оказывает местнораздражающего действия и не влияет на морфологическое состояние изучаемых органов, подтверждая его потенциальную безопасность для долгосрочного применения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное исследование позволяет сделать следующие выводы:

1. Длительное внутрижелудочное применение ЛП ИФН- λ_1 не приводит к серьезным изменениям здоровья животных. Крысы и кролики получали дозы 2.6, 13.0 и 26.0 мкг/кг и 2.6 и 13.0 мкг/кг соответственно и сохраняли стабильное состояние здоровья без изменений массы тела или ее прироста. Отсутствие случаев смерти животных свидетельствует о безопасности препарата.

2. Профиль безопасности ЛП ИФН- λ_1 подтверждается отсутствием его влияния на функции кроветворения, печень, сердечно-сосудистую и нервную системы, что доказано исследованиями как у крыс, так и у кроликов. Кроме того, не обнаружено воздействия на функциональное состояние почек у крыс.

3. Морфологические анализы головного мозга, сердца, легких, печени, почек и других жизненно важных органов и систем не выявили никаких отклонений от нормы, что указывает на

1. Long-term intragastric administration of the IFN- λ -based drug does not lead to significant changes in animal health. Rats and rabbits that received doses of 2.6, 13.0 and 26.0 $\mu\text{g/kg}$ and 2.6 and 13.0 $\mu\text{g/kg}$, respectively, had a stable state of health without changes in body weight or its gain. The absence of fatal outcomes indicates the safety of the drug.

2. The safety profile of the IFN- λ_1 -based drug is confirmed by the absence of its effect on the functions of hematopoiesis, the liver, cardiovascular and nervous systems, which has been proven by studies in both rats and rabbits. In addition, no effect on the functional state of the kidneys in rats was found.

3. Morphological analyses of the brain, heart, lungs, liver, kidneys and other vital organs and systems did not reveal any abnormalities, which indicates the absence of negative effects of the drug on the body even at high doses administration.

4. A number of pathological signs have been identified. Signs of hypoplasia of the thymus and spleen were revealed (a decrease in mass and mass coefficient due to decreased cellularity of lymphoid tissue of the organs). These signs were in rats that received the IFN- λ_1 -based drug once daily at a highest dose of 26.0 $\mu\text{g/kg}$ for 180 days on the 180th day of the experiment. The additional histological examination of the lymphoid organs of rats that received the drug at a dose of 13.0 $\mu\text{g/kg}$ did not reveal such changes. There were no similar changes in rabbits either.

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

отсутствие деструктивного воздействия препарата на организм даже при высоких дозах.

4. Установлено некоторое количество патологических признаков. Выявлены признаки гипоплазии тимуса и селезенки (снижение массы и коэффициента массы за счет уменьшения клеточности лимфоидной ткани органов). Эти признаки наблюдались у крыс, получавших ЛП ИФН- λ_1 однократно ежедневно в максимальной дозе 26.0 мкг/кг в течение 180 дней на 180-й день проведения эксперимента. Дополнительное гистологическое исследование лимфоидных органов крыс, получавших препарат в дозе 13.0 мкг/кг, не выявило подобных изменений. У кроликов подобных изменений также не наблюдалось.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Kotenko S.V., Durbin J.E. Contribution of type III interferons to antiviral immunity: location, location, location // *J. Biol. Chem.* 2017;292(18):7295-7303. DOI: 10.1074/jbc.R117.777102.
2. O'Brien T.R., Young H.A., Donnelly R.P., Prokunina-Olsson L. Meeting overview: Interferon lambda – disease impact and therapeutic potential // *J. Interferon Cytokine Res.* 2019;39(10):586-591. DOI: 10.1089/jir.2019.0018.
3. Broggi A., Ghosh S., Sposito B. et al. Type III interferons disrupt the lung epithelial barrier upon viral recognition // *Science.* 2020;369(6504):706-712. DOI: 10.1126/science.abc3545.
4. Goel R.R., Wang X., O'Neil L.J. et al. Interferon lambda promotes immune dysregulation and tissue inflammation in TLR7-induced lupus // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2020;117(10):5409-5419. DOI: 10.1073/pnas.1916897117.
5. Shahbazi M., Amri Maleh P., Bagherzadeh M. et al. Linkage of lambda interferons in protection against severe COVID-19 // *J. Interferon Cytokine Res.* 2021;41(4):149-152. DOI: 10.1089/jir.2020.0187.
6. Мадонов П.Г., Ершов К.И., Дубровин А.В. и др. Электронно-лучевая модификация препаратов белковой природы для улучшения их фармакологических свойств // *Медицина и образование в Сибири.* 2013;4:83.
7. Yadav D., Dewangan H.K. PEGYLATION: an important approach for novel drug delivery system // *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.* 2021;32(2):266-280. DOI: 10.1080/09205063.2020.1825304.
8. Киншт Д.Н., Мадонов П.Г., Кочнева Г.В. и др. Изучение противовирусной активности перорального лекарственного средства на основе иммобилизованного интерферона λ -1 // *Сибирский научный медицинский журнал.* 2018;38(3):30-34. DOI: 10.15372/SSMJ20180304
9. Кихтенко Н.А., Ильичёва Т.Н., Дурьманов А.Г. и др. Изучение противовирусной активности рекомбинантного человеческого интерферона лямбда 1 на культуре клеток конъюнктивы человека // *Сибирский научный медицинский журнал.* 2021;41(5):31-36. DOI: 10.18699/SSMJ20210504.
10. Мадонов П.Г., Святченко В.А., Легостаев С.С. и др. Изучение противовирусной активности рекомбинантного человеческого интерферона лямбда-1 в отношении SARS-CoV-2 // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* 2021;172(7):65-69. DOI: 10.47056/0365-9615-2021-172-7-65-69.
11. Шерстобоев Е.Ю., Олейник Л.А., Жданов В.В. и др. Фармакокинетические параметры при пероральном введении пегилированного ИФН- λ 1 // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* 2022;173(2):188-192. DOI: 10.47056/0365-9615-2022-173-2-188-192.
12. Миронов А.Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. М.: Гриф и К, 2012. Ч. 1.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Олейник Лариса Алексеевна – младший научный сотрудник лаборатории фармакологического моделирования и скрининга биоактивных моле-

REFERENCES

1. Kotenko S.V., Durbin J.E. Contribution of type III interferons to antiviral immunity: location, location, location. *J. Biol. Chem.* 2017;292(18):7295-7303. DOI: 10.1074/jbc.R117.777102.
2. O'Brien T.R., Young H.A., Donnelly R.P., Prokunina-Olsson L. Meeting overview: Interferon lambda – disease impact and therapeutic potential. *J. Interferon Cytokine Res.* 2019;39(10):586-591. DOI: 10.1089/jir.2019.0018.
3. Broggi A., Ghosh S., Sposito B. et al. Type III interferons disrupt the lung epithelial barrier upon viral recognition. *Science.* 2020;369(6504):706-712. DOI: 10.1126/science.abc3545.
4. Goel R.R., Wang X., O'Neil L.J. et al. Interferon lambda promotes immune dysregulation and tissue inflammation in TLR7-induced lupus. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2020;117(10):5409-5419. DOI: 10.1073/pnas.1916897117.
5. Shahbazi M., Amri Maleh P., Bagherzadeh M. et al. Linkage of lambda interferons in protection against severe COVID-19. *J. Interferon Cytokine Res.* 2021;41(4):149-152. DOI: 10.1089/jir.2020.0187.
6. Madonov P.G., Ershov K.I., Dubrovin A.V. et al. Electron-beam modification of preparation of the albuminous nature for improvement their pharmacological properties. *Medicine and Education in Siberia.* 2013;4:83. (In Russ.)
7. Yadav D., Dewangan H.K. PEGYLATION: an important approach for novel drug delivery system. *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.* 2021;32(2):266-280. DOI: 10.1080/09205063.2020.1825304.
8. Kinsht D.N., Madonov P.G., Kochneva G.V. et al. Investigation of the antiviral activity of an oral drug preparation based on immobilized interferon λ -1. *Siberian Scientific Medical Journal.* 2018;38(3):30-34. DOI: 10.15372/SSMJ20180304 (In Russ.)
9. Kikhtenko N.A., Ilyicheva T.N., Durymanov A.G. et al. Investigation of the antiviral activity of the recombinant human interferon lambda 1 in human conjunctiva cell culture. *Siberian Scientific Medical Journal.* 2021;41(5):31-36. DOI: 10.18699/SSMJ20210504. (In Russ.)
10. Madonov P.G., Svyatchenko V.A., Legostaev S.S. et al. Evaluation of the anti-viral activity of human recombinant interferon lambda-1 against SARS-CoV-2. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine.* 2021;172:53-56. DOI: 10.1007/s10517-021-05330-0.
11. Sherstoboev E.Yu., Oleinik L.A., Zhdanov V.V. et al. Pharmacokinetic parameters of oral pegylated IFN- λ 1. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine.* 2022;173:215-218. DOI: 10.1007/s10517-022-05521-3.
12. Mironov A.N. (2012). *Guidelines for Preclinical Studies of Medicines.* Moscow: Grif. Pt 1. (In Russ.)

ABOUT THE AUTHORS

Larisa A. Oleinik – Junior Researcher, Laboratory of Pharmacological Modeling and Screening of Bioactive Molecules, Research Institute of Clinical and

кул НИИ клинической и экспериментальной лимфологии – филиала ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0002-0336-4227.

Ершов Константин Игоревич – канд. биол. наук, старший научный сотрудник лаборатории фармацевтических технологий НИИ клинической и экспериментальной лимфологии – филиала ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0003-41399-0360.

Забанова Виктория Евгеньевна – младший научный сотрудник лаборатории экспериментальной и клинической фармакологии НИИ клинической и экспериментальной лимфологии – филиала ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», Новосибирск, Россия.

Байкалов Герман Игоревич – младший научный сотрудник лаборатории фармакологического моделирования и скрининга биоактивных молекул НИИ клинической и экспериментальной лимфологии – филиала ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0002-5445-9920.

Бахарева Ксения Игоревна – младший научный сотрудник лаборатории фармакологического моделирования и скрининга биоактивных молекул НИИ клинической и экспериментальной лимфологии – филиала ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0003-2054-1659.

Солдатова Марина Сергеевна – младший научный сотрудник лаборатории фармакологического моделирования и скрининга биоактивных молекул НИИ клинической и экспериментальной лимфологии – филиала ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0003-1050-6921.

Кушнарченко Андрей Олегович – младший научный сотрудник лаборатории фармакологического моделирования и скрининга биоактивных молекул НИИ клинической и экспериментальной лимфологии – филиала ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0002-6670-7370.

Муллагалиев Арсен Арсенович – младший научный сотрудник лаборатории фармакологического моделирования и скрининга биоактивных молекул НИИ клинической и экспериментальной лимфологии – филиала ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и гене-

Experimental Lymphology – Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0002-0336-4227.

Konstantin I. Ershov – Cand. Sci. (Bio.), Senior Researcher, Laboratory of Pharmaceutical Technology, Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology – Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0003-41399-0360.

Victoria E. Zabanova – Junior Researcher, Laboratory of Experimental and Clinical Pharmacology, Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology – Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia.

German I. Baikarov – Junior Researcher, Laboratory of Pharmacological Modeling and Screening of Bioactive Molecules, Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology – Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0002-5445-9920.

Ksenia I. Bakhareva – Junior Researcher, Laboratory of Pharmacological Modeling and Screening of Bioactive Molecules, Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology – Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0003-2054-1659.

Marina S. Soldatova – Junior Researcher, Laboratory of Pharmacological Modeling and Screening of Bioactive Molecules, Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology – Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0003-1050-6921.

Andrey O. Kushnarenko – Junior Researcher, Laboratory of Pharmacological Modeling and Screening of Bioactive Molecules, Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology – Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0002-6670-7370.

Arsen A. Mullagaliev – Junior Researcher, Laboratory of Pharmacological Modeling and Screening of Bioactive Molecules, Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology – Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia.

Anna D. Rybakova – Junior Researcher, Laboratory of Pharmacological Modeling and Screening of Bioactive Molecules, Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology – Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian

тики Сибирского отделения Российской академии наук», Новосибирск, Россия.

Рыбакова Анна Дмитриевна – младший научный сотрудник лаборатории фармакологического моделирования и скрининга биоактивных молекул НИИ клинической и экспериментальной лимфологии – филиала ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0002-9271-1656.

Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0002-9271-1656.



Влияние производных оксиндола на развитие поздних офтальмологических нарушений при стрептозотоцин-индуцированном сахарном диабете

А.А. Спасов¹, Л.В. Науменко¹, Ю.А. Говорова¹, А.С. Таран¹, А.М. Чебанько¹, А.В. Смирнов¹, Ю.И. Великородная¹, Н.А. Лозинская², Е.Н. Безсонова²

¹ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России, Волгоград, Россия

² ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова», Москва, Россия

АННОТАЦИЯ

В в е д е н и е . В России по данным на 2021 г. зарегистрировано 5 млн 168.8 тыс. больных сахарным диабетом (СД). Офтальмологические поздние осложнения СД (катаракта, ретинопатия, глаукома) приводят к прогрессирующему снижению зрения вплоть до слепоты, а, следовательно, к ухудшению качества жизни пациентов с диабетом. Профилактика осложнений СД напрямую связана с контролем уровня гликемии, что не всегда возможно, поэтому поиск новых средств фармакологической коррекции последствий СД является актуальной задачей. В ранее проведенных исследованиях среди изостеров мелатонина было выявлено соединение К-165, обладающее офтальмогипотензивными свойствами

Ц е л ь . Изучить влияние нового биоизостера мелатонина, производного 3-арилиден-2-оксиндола, на диабетический катарактогенез, уровень внутриглазного давления (ВГД), ретинальную микроциркуляцию и функциональную активность сетчатки в условиях стрептозотоцин-индуцированного СД.

М а т е р и а л ы и м е т о д ы . Моделирование СД проводили путем введения в хвостовую вену крыс-самцов линии Sprague Dawley массой 260–280 г стрептозотоцина (45 мг/кг, группа СД). На протяжении всего эксперимента, в течение 60 дней, для снижения риска смерти от кетоацидоза экспериментальные животные подкожно получали двухфазный инсулин «Хумулин М3» (Eli Lilly, Франция). С 61-го дня эксперимента животным проводилась инстилляция 0.4% растворов К-165 и мелатонина (опытная группа и группа препарата сравнения). В ходе эксперимента для оценки эффективности изучаемого соединения была проведена прижизненная регистрация ВГД, уровня глазной микроциркуляции и электроретинография. После эвтаназии животных была проведена энуклеация глазных яблок, которые были использованы для патоморфологического исследования и определения конечных продуктов гликирования и карбоксиметиллизина в структурах хрусталика.

Р е з у л ь т а т ы . Соединение К-165 в условиях стрептозотоцин-индуцированного СД снижает выраженность патоморфологических признаков катаракты на 32 % (дефрагментация, набухание волокон хрусталика, образование морганиевых телец) и уровень ВГД на 24 %, повышает уровень глазной гемомикроперфузии на 37.5 % и вызывает тенденцию к увеличению смешанного ответа палочек и колбочек.

З а к л ю ч е н и е . Новое производное 3-арилиден-2-оксиндола – соединение К-165 – проявляет выраженное антикатарактальное действие, снижает уровень ВГД у животных с экспериментальным СД, способствует улучшению параметров микроциркуляции и демонстрирует тенденцию к нормализации биоэлектрической активности сетчатки и обладает нейроретинопротективным действием.

Ключевые слова: сахарный диабет, мелатонин, соединение К-165, внутриглазное давление, катаракта, крысы.

Образец цитирования: Спасов А.А., Науменко Л.В., Ю.А. Говорова, Таран А.С., Чебанько А.М., Смирнов А.В., Великородная Ю.И., Лозинская Н.А., Безсонова Е.Н. Влияние производных оксиндола на развитие поздних офтальмологических нарушений при стрептозотоцин-индуцированном сахарном диабете // Journal of Siberian Medical Sciences. 2024;8(4):101-115. DOI: 10.31549/2542-1174-2024-8-4-101-115

Поступила в редакцию 28.06.2024
Прошла рецензирование 18.07.2024
Принята к публикации 14.09.2024

Автор, ответственный за переписку
Чебанько Алина Михайловна: ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России. 400131, г. Волгоград, пл. Павших Борцов, 1.
E-mail: alina.chebanko@yandex.ru

Received 28.06.2024
Revised 18.07.2024
Accepted 14.09.2024

Corresponding author
Alina M. Chebanko: Volgograd State Medical University, 1, Pavshikh Bortsov sq., Volgograd, 400131, Russia.
E-mail: alina.chebanko@yandex.ru

The effect of oxindole derivatives on the development of late ophthalmologic disorders in streptozotocin-induced diabetes mellitus

A.A. Spasov¹, L.V. Naumenko¹, Yu.A. Govorova¹, A.S. Taran¹, A.M. Chebanko¹, A.V. Smirnov¹, Yu.I. Velikorodnaya¹, N.A. Lozinskaya², E.N. Bezsonova²

¹Volgograd State Medical University, Volgograd, Russia

²Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

ABSTRACT

I n t r o d u c t i o n . In Russia, as of 2021, 5 million 168.8 thousand patients with diabetes mellitus (DM) were registered. Ophthalmologic late complications of DM (cataract, retinopathy, glaucoma) lead to a progressive decline in vision up to blindness, and, consequently, to a decrease in the quality of life of patients with DM. Prevention of DM complications is directly related to glycemic control, which is not always possible, therefore, the search for new pharmacological agents for correction of the consequences of DM is an urgent task. In previous studies, among melatonin isosteres, the compound K-165 was synthesized, which has ophthalmic hypotensive properties.

A i m . To study the effect of a new melatonin bioisostere, a 3-arylidene-2-oxindole derivative, on diabetic cataractogenesis, intraocular pressure (IOP), retinal microcirculation and functional activity of the retina in streptozotocin-induced DM.

M a t e r i a l s a n d m e t h o d s . DM was modeled by administering streptozotocin (45 mg/kg, DM group) into the tail vein of male Sprague Dawley rats weighing 260–280 g. Throughout the experiment, for 60 days, to reduce the risk of death from ketoacidosis, the experimental animals subcutaneously received biphasic insulin, Humulin M3 (Eli Lilly, France). Since the 61st day of the experiment, the animals were instilled 0.4% solutions of K-165 and melatonin (experimental group and reference drug group). During the experiment, intravital measurements of IOP, ocular microcirculation level and electroretinography were carried out to evaluate the effectiveness of the studied compound. After euthanasia of the animals, the enucleated eyeballs were used for pathomorphological examination and determination of advanced glycation end products and carboxymethyllysine in the lens structures.

R e s u l t s . The compound K-165 in streptozotocin-induced DM reduces the severity of pathomorphological signs of cataract by 32% (defragmentation, swelling in lens fibers, appearance of Morgagni globules) and the level of IOP by 24%, increases the level of ocular blood microperfusion by 37.5% and shows a tendency to increase the combined response of rods and cones.

C o n c l u s i o n . A new derivative of 3-arylidene-2-oxindole, the compound K-165, exhibits a pronounced anti-cataract effect, reduces the level of IOP in animals with experimental DM, improves microcirculation parameters and demonstrates a tendency to normalize the bioelectrical activity of the retina, and has a neuroprotective effect on the retina.

Keywords: diabetes mellitus, melatonin, compound K-165, intraocular pressure, cataract, rats.

Citation example: Spasov A.A., Naumenko L.V., Govorova Yu.A., Taran A.S., Chebanko A.M., Smirnov A.V., Velikorodnaya Yu.I., Lozinskaya N.A., Bezsonova E.N. The effect of oxindole derivatives on the development of late ophthalmologic disorders in streptozotocin-induced diabetes mellitus. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2024;8(4):101-115. DOI: 10.31549/2542-1174-2024-8-4-101-115

ВВЕДЕНИЕ

В России по данным на 2021 г. зарегистрировано 5 млн 168.8 тыс. больных сахарным диабетом (СД) [1]. Осложнения СД являются в России основными причинами смерти в популяции больных сахарным диабетом 1 и 2-го типов, в первую очередь из-за высокого риска сердечно-сосудистых осложнений [2, 3]. Глазные заболевания, которые относятся к поздним осложнениям сахарного диабета (катаракта, ретинопатия, глаукома), хотя и не являются летальными, однако

INTRODUCTION

In Russia, as of 2021, 5 million 168.8 thousand patients with diabetes mellitus (DM) were registered [1]. DM complications are the main causes of death in the population of patients with type 1 and type 2 DM in Russia, primarily due to the high risk of cardiovascular complications [2, 3]. Eye diseases, which are late complications of DM (cataract, retinopathy, glaucoma), although not fatal, lead to progressive decline in vision up to blindness, and, consequently, to a decrease in the quality of life of patients with DM [4, 5].

приводят к прогрессирующему снижению зрения вплоть до слепоты, а, следовательно, к ухудшению качества жизни пациентов с диабетом [4, 5].

Современные подходы к их лечению весьма эффективны и непрерывно улучшаются, но в то же время они остаются радикальными, имеют ряд серьезных ограничений и осложнений, их эффективность часто является временной, учитывая хронический характер сахарного диабета. [6, 7]. Профилактика осложнений сахарного диабета напрямую связана с контролем уровня гликемии, что не всегда возможно, поэтому поиск новых средств фармакологической коррекции последствий сахарного диабета является актуальной задачей.

В ранее проведенных исследованиях среди изостеров мелатонина было выявлено соединение K-165, обладающее офтальмогипотензивными свойствами.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучение влияния нового биоизостера мелатонина, производного 3-арилиден-2-оксиндола – K-165 на диабетический катарактогенез, уровень внутриглазного давления, ретинальную микроциркуляцию и функциональную активность сетчатки в условиях стрептозотоцин-индуцированного сахарного диабета.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперименты были проведены на 60 половозрелых крысах-самцах линии Sprague Dawley массой 260–280 г (ООО «НПК Биотех», Москва) и прошедших 2-недельный карантин в виварии Научного центра инновационных лекарственных средств Волгоградского государственного медицинского университета. Все манипуляции с лабораторными животными проводились с соблюдением требований лабораторной практики при проведении доклинических исследований в Российской Федерации (Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от 01.04.2016 № 199н «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики», ГОСТ 33044-2014). Все экспериментальные исследования выполнялись в соответствии с требованиями действующего «Руководства по проведению доклинических исследований лекарственных средств» (М., 2012), со статьей (ст.) 11 Федерального закона от 12 апреля 2010 г. № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств» (Собрание законодательства Российской Федерации, 2010, № 16, ст. 1815; № 31, ст. 4161) и согласно Правилам лабораторной практики в Российской Федерации (ГОСТ

Modern approaches to their treatment are very effective and are constantly improving, but at the same time, they remain radical, have a number of significant limitations and complications, their effectiveness is often temporary, given the chronic nature of DM [6, 7]. Prevention of complications of DM is directly related to glycemic control, which is not always possible, therefore, the search for new pharmacological agents for correction of the consequences of DM is an urgent task.

In previous studies, among melatonin isosteres, the compound K-165 was identified, which has ophthalmic hypotensive properties.

AIM OF THE RESEARCH

To study the effect of a new melatonin bioisostere, a 3-arylidene-2-oxindole derivative – K-165 on diabetic cataractogenesis, intraocular pressure level, retinal microcirculation and functional activity of the retina in streptozotocin(STZ)-induced DM.

MATERIALS AND METHODS

The experiments were performed on 60 mature male Sprague Dawley rats weighing 260–280 g (Biotech, Moscow) after a 2-week quarantine in the vivarium of the Scientific Center for Innovative Medicines of the Volgograd State Medical University. All manipulations with laboratory animals were carried out in compliance with requirements of good laboratory practice for preclinical studies in the Russian Federation (Order of the Ministry of Health of the Russian Federation dated 01.04.2016 No. 199n “On approval of the rules of good laboratory practice”, GOST 33044-2014). All experiments were carried out in accordance with the requirements of the current “Guidelines for the Conduct of Preclinical Studies of Medicines” (Moscow, 2012), with Article (Art.) 11 of the Federal Law of April 12, 2010 No. 61-FZ “On the Circulation of Medicines” (Collected Legislation of the Russian Federation, 2010, No. 16, Art. 1815; No. 31, Art. 4161) and according to the Rules of Laboratory Practice in the Russian Federation (GOST 33044-2014) and the Order of the Ministry of Health of Russia dated 01.04.2016 N 199n “On Approval of the Rules of Good Laboratory Practice”. All methodological approaches complied with the requirements of the “Guidelines for the Conduct of Preclinical Studies of Medicine”. The procedures involving laboratory animals were carried out in accordance with the ethical standards for the treatment of animals adopted in Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. The experimental study was approved by the

33044-2014) и Приказа Минздрава России от 01.04.2016 № 199н «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики». Все методические подходы соответствовали требованиям «Руководства по проведению доклинических исследований лекарственных средств». Процедуры с участием лабораторных животных осуществлялись в соответствии с этическими нормами обращения с животными, принятыми в Директиве Европейского парламента и Совета Европейского Союза 2010/63/ЕС от 22 сентября 2010 г. о защите животных, используемых в научных целях. Экспериментальное исследование одобрено этическим комитетом Волгоградского государственного медицинского университета (справка № 2022/043 от 02.12.2022).

СД моделировали стрептозотоцином (СТЗ), растворенным в 0.1 М натрий-цитратном буфере (рН 4.5), который вводили в хвостовую вену в дозе 45 мг/кг. На этапе формирования СД (первые 3 дня после введения СТЗ) для предупреждения гибели животных по причине гипогликемии животные получали глюкозу вместе с питьевой водой (5 г на 100 мл). Первое измерение концентрации глюкозы в крови проводили через сутки после введения СТЗ, после чего всем животным с уровнем глюкозы >19.4 ммоль/л для снижения риска смерти от кетоацидоза назначали двухфазный инсулин «Хумулин М3» (Eli Lilly, Франция) – комбинацию инсулинов короткой (30 %) и средней (70 %) продолжительности действия. Инсулин вводили подкожно в область холки животного строго в период времени 15:00–17:00 в дозе 1–4 ЕД по следующей схеме: при уровне глюкозы >19.4 ммоль/л – 1 ЕД инсулина, >25 ммоль/л – 2 ЕД, >30 ммоль/л – 3 ЕД, >33.3 – 4 ЕД (15–20 ммоль/л – 1 ЕД, 20–25 ммоль/л – 2 ЕД, 25–30 ммоль/л – 3 ЕД, >30 ммоль/л – 4 ЕД). Корректировку дозы инсулина производили 1 раз в неделю после контрольного определения концентрации глюкозы в крови экспериментальных животных.

Из эксперимента исключались животные с уровнем гликемии менее 15 ммоль/л.

Из включенных в эксперимент животных сформировали 4 группы по 15 особей в каждой:

1. Контрольная группа 1 – интактные животные, получавшие курсовое (14 дней) местное введение растворителя – деионизированной воды в объеме 30 мкл.
2. Контрольная группа 2 – животные с экспериментальным СД, получавшие курсовое (14 дней) местное введение растворителя – деионизированной воды в объеме 30 мкл.

Ethics Committee of the Volgograd State Medical University (certificate No. 2022/043 dated 02.12.2022).

DM was modeled by STZ dissolved in 0.1 M sodium citrate buffer (pH 4.5), which was administered into the tail vein at a dose of 45 mg/kg. At the stage of DM modeling (the first 3 days after STZ administration), the animals received glucose via drinking water (5 g per 100 ml) to prevent death due to hypoglycemia. The first measurement of blood glucose concentration was performed 24 hours after STZ administration; thereafter, all animals with glucose concentration >19.4 mmol/l received biphasic insulin, Humulin M3 (combination of short-acting (30%) and medium-acting (70%) insulins) (Eli Lilly, France) to reduce the risk of death from ketoacidosis. Insulin was administered subcutaneously into the scruff of the animal's neck strictly between 15:00 and 17:00 in a dose of 1–4 U in the following regimen: glucose level >19.4 mmol/l – 1 U of insulin, >25 mmol/l – 2 U, >30 mmol/l – 3 U, >33.3 – 4 U (15–20 mmol/l – 1 U, 20–25 mmol/l – 2 U, 25–30 mmol/l – 3 U, >30 mmol/l – 4 U). The insulin dose was adjusted once a week after a control measurement of the blood glucose concentration in experimental animals.

Animals with glucose level <15 mmol/l were excluded from the experiment.

The animals included in the experiment were divided into 4 groups (15 animals in each group):

1. Control group 1 – intact animals that received 14-day instillations of a solvent – deionized water in a volume of 30 µl.
2. Control group 2 – animals with experimental DM that received 14-day instillations of a solvent – deionized water in a volume of 30 µl.
3. Experimental group 1 – animals with experimental DM that received 14-day instillations of the compound K-165 at a concentration of 0.4% in a volume of 30 µl (4 mg/ml).
4. Experimental group 2 – animals with experimental DM that received 14-days instillations of the reference substance, melatonin (Sigma, USA) at a concentration of 0.4% in a volume of 30 µl.

The experimental groups with STZ-induced DM included animals with glucose level >15 mmol/l. The start of administration of the studied substance to animals with experimental DM was the 61st day after administration of STZ.

The studied compound K-165 was synthesized by Associate Professor N.A. Lozinskaya at the Department of Medical Chemistry and Fine Organic Synthesis of the Lomonosov Moscow State University.

3. Опытная группа 1 – животные с экспериментальным СД, получавшие курсовое (14 дней) местное введение соединения К-165 в концентрации 0.4 % в объеме 30 мкл (4 мг/мл).

4. Опытная группа 2 – животные с экспериментальным СД, получавшие курсовое (14 дней) местное введение вещества сравнения мелатонина (Sigma, США) в концентрации 0.4 % в объеме 30 мкл.

В экспериментальные группы с СД, индуцированным СТЗ, включали животных с уровнем глюкозы >15 ммоль/л. Начало введения тестируемых образцов животным с экспериментальным СД – 61-й день после введения СТЗ.

Исследуемое соединение К-165 было синтезировано доцентом Н.А. Лозинской на кафедре медицинской химии и тонкого органического синтеза МГУ имени М.В. Ломоносова.

Для прижизненного исследования хрусталиков лабораторных животных проводили офтальмоскопию в режиме ретроиллюминации на портативной щелевой лампе – Digital hand-held slit lamp (США) с фоторегистрацией изображения в условиях миозина, вызываемого тропикамидом (1% раствор, Alcon-Couvreur N.V., Бельгия). Для оценки степени помутнения хрусталиков использовали модифицированную классификацию P. Suryanarayana et al. [8]:

0 – прозрачный хрусталик;

1 – минимальная непрозрачность в центре хрусталика (наличие небольшого количества субкапсулярных вакуолей);

2 – очаговые помутнения в центре и по периферии хрусталика («туманное» помутнение коры);

3 – помутнение всего хрусталика (плотное помутнение ядра и «туманное» помутнение коры);

4 – зрелая катаракта – плотное помутнение коры и ядра хрусталика.

Измерение внутриглазного давления (ВГД) проводили с помощью офтальмологического ветеринарного тонометра Tonovet (Финляндия), не требующего предварительной анестезии роговицы.

Регистрацию глазной микроциркуляции осуществляли с использованием программно-аппаратного комплекса MP150 (BIOPAC Systems Inc., США) и датчика игольчатого типа TSD-144 (США), программы AcqKnowledge 4.2. согласно инструкции производителя. Зондирующее лазерное излучение позволяет получить отраженный сигнал из слоя ткани толщиной до 1 мм, объем зондируемой ткани составляет 1 мм³. Суммарная

For the intravital examination of the lenses of laboratory animals, ophthalmoscopy was performed as retroillumination imaging using a portable Digital hand-held slit lamp (USA) with image capturing amid tropicamide-induced mydriasis (1% solution, Alcon-Couvreur N.V., Belgium). To assess the grade of lens opacity, a modified classification of P. Suryanarayana et al. was used [8]:

0 – clear lens;

1 – minimal opacity in the anterior pole of the lens (a small number of subcapsular vacuoles);

2 – focal opacity in the anterior pole and cortex of the lens (hazy opacity);

3 – hazy cortex persists and dense nuclear opacity appears;

4 – mature cataract (dense opacity of both the cortex and nucleus).

Measurement of intraocular pressure (IOP) was carried out using a Tonovet veterinary tonometer (Finland), which does not require preliminary anesthesia of the cornea.

Registration of ocular microcirculation was performed using MP150 system hardware (BIOPAC Systems Inc., USA) and TSD-144 needle-type sensor (USA), AcqKnowledge 4.2 program according to the manufacturer manual. Laser radiation allows obtaining a reflected signal from a tissue layer up to 1 mm, the volume of investigated tissue is 1 mm³. The total thickness of the sclera, choroid and retina in rats is less than 0.5 mm. The use of the contact technique of laser Doppler flowmetry (LDF) allows assessing the level of microcirculation throughout the depth of the analyzed area. Taking into account the essentials of blood supply to the rat eyeball, as well as the peculiarity of LDF of the anterior segment of the eye, this study allows assessing the level of perfusion in perfusion units (p.u.) in the territory of long posterior ciliary arteries, as well as the anterior ciliary arteries.

The functional state of the retina was assessed using electroretinography (ERG). The ERG principle is to record the potentials of retinal neurons in response to a light stimulus. The assessment is based on the amplitude of the *a*- and *b*-waves. The negative *a*-wave generated by the outer segments of the photoreceptors is responsible for their functional state; the positive *b*-wave is responsible for the activity of the bipolar and Müller cells, with a possible contribution of the horizontal and amacrine cells. ERG was recorded immediately after measuring the level of microcirculation. For this purpose, the animals were instilled a 1% tropicamide solution (Alcon-Couvreur N.V., Belgium) to achieve maximal mydriasis. The rats then underwent dark adaptation for 20 min.

толщина склеры, сосудистой оболочки глаза и сетчатки у крысы составляет менее 0.5 мм. Использование контактной методики лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ) позволяет оценить уровень микроциркуляции по всей глубине зондируемой области. Учитывая принципиальную схему кровоснабжения глазного яблока крысы, а также особенность проведения ЛДФ переднего отрезка глаза, данное исследование позволяет оценить уровень перфузии в перфузионных единицах (п.е.) в бассейнах задних длинных цилиарных артерий, а также передних цилиарных артерий.

Оценку функционального состояния сетчатки проводили с помощью электроретинографии (ЭРГ). Принцип ЭРГ заключается в регистрации потенциалов нейронов сетчатки в ответ на световой стимул. Оценку проводят по амплитуде волн а и b. За функциональное состояние фоторецепторов отвечает негативная а-волна, генерируемая их наружными сегментами; за активность биполярных и мюллеровских клеток, с возможным вкладом горизонтальных и амакриновых клеток – позитивная b-волна. ЭРГ проводили сразу после регистрации уровня микроциркуляции. Для этого животным инстиллировали 1% раствор тропикамида (Alcon-Couvreur N.V., Бельгия) для получения максимального мидриаза. Затем крыс подвергали темновой адаптации в течение 20 мин. В последующем животных наркотизировали (хлоралгидрат (PanReac AppliChem), 300 мг/кг, внутривенно) и фиксировали на столике, изолированном от электромагнитного излучения. Роговичный серебряный электрод (активный) помещали на роговицу, предварительно смоченную изотоническим раствором натрия хлорида для более полного контакта; референтный игольчатый электрод EL452 (минус) помещали подкожно в области черепа; заземляющий игольчатый электрод EL450 помещали подкожно в области основания хвоста. Стробоскоп TSD122A со вспышкой белого света продолжительностью 30 мкс и энергией вспышки 180 мДж, подключенный к стимулятору STM200 (BIOPAC Systems, Inc., США), размещали за спиной животного, регистрацию ЭРГ проводили в ответ на одиночную стимуляцию. Вызванные биопотенциалы пропускались на частоте 5 Гц, усиливались, усреднялись и представлялись графически на экране при помощи полиграфа MP150 с компьютерной программой AcqKnowledge 4.2. Для оценки степени развития функциональных повреждений сетчатки определяли максимальную амплитуду электроретинограммы,

Afterwards, the animals were anesthetized (chloral hydrate (PanReac AppliChem), 300 mg/kg, intraperitoneally) and fixed on a table isolated from electromagnetic radiation. The corneal silver electrode (active) was placed on the cornea pre-moistened with isotonic saline solution for more complete contact; the reference needle electrode EL452 (minus) was placed subcutaneously in the skull area; the ground needle electrode EL450 was placed subcutaneously at the base of the tail. A TSD122A stroboscope with a white flash (duration 30 μ s and energy 180 mJ), connected to a STM200 stimulator (BIOPAC Systems, Inc., USA), was placed behind the animal's back, and ERG was registered in response to a single stimulation. Evoked biopotentials were recorded at a frequency of 5 Hz, amplified, averaged and plotted on the screen using MP150 system with AcqKnowledge 4.2 program. To assess the grade of functional retinal damage, the maximal amplitude of the electroretinogram was calculated as the sum of the absolute values of the a- and b-wave peaks (coefficient b/a).

After euthanasia of laboratory animals under anesthesia (400 mg/kg chloral hydrate, intraperitoneally), the eyeballs were removed. The right eyeball of each laboratory animal was used for pathomorphological examination, and the left one – for determination of the concentration of advanced glycation end products (AGE) and carboxymethyllysine (CML) in the lens.

During the pathomorphological examination, fresh modified Davidson' fluid was used to fix the eyeball [9]. The specimen was then dehydrated in ascending alcohols and embedded in paraffin Histomix. From the obtained blocks 4–6 μ m thick sections were cut using a microtome and then mounted on microscope slides. The sections were stained with hematoxylin and eosin-phloxacin according to the standard technique [10]. The stained slides were examined and photographed using an AxioScope A1 microscope with an AxioCam MRc5 digital camera.

To assess the grade of cataract, a score from 0 to 5 was used (A.V. Smirnov, Yu.I. Velikorodnaya, 2019):

- 0 – no signs of cataracts;
- 0.5–1 – initial signs of subcapsular or cortical cataract (vacuolization and swelling of lens fibers);
- 1.5–2 – local manifestations of cataract (subcapsular hyperplasia of epithelial cells or cortical swelling of the fibers);
- 2.5–3 – severe cortical cataract with defragmentation and swelling of lens fibers, appearance of Morgagnian globules;

которая высчитывалась как сумма абсолютных значений пиков а- и б-волн (коэффициент б/а).

После эвтаназии лабораторных животных под наркозом (400 мг/кг хлоралгидрата внутривенно) глазные яблоки были энуклеированы. Правое глазное яблоко каждого лабораторного животного использовалось для патоморфологического исследования, а левое – для определения содержания в хрусталике конечных продуктов гликирования (КПГ) и карбоксиметиллизина (КМЛ).

При проведении патоморфологического исследования для фиксации глазного яблока использовали свежеприготовленный модифицированный раствор Давидсона [9]. Далее материал обезжизняли в батарее спиртов восходящей крепости и заключали в парафиновую среду Histomix. С полученных блоков на микротоме получали срезы толщиной 4–6 мкм и монтировали их на предметные стекла. Срезы окрашивали гематоксилином и эозин-флоксин по стандартной методике [10]. Микропрепараты изучали и фотографировали на микроскопе AxioScope A1, оборудованном цифровой камерой AxioCam MRc5.

Для оценки степени катаракты использовали балльную систему от 0 до 5 (А.В. Смирнов, Ю.И. Великородная, 2019):

0 – признаки катаракты отсутствуют;

0.5–1 – начальные признаки субкапсулярной или кортикальной катаракты, проявляющиеся вакуолизацией и набуханием волокон хрусталика;

1.5–2 – локальные проявления катаракты, выражающиеся в гиперплазии эпителиальных клеток под капсулой (субкапсулярная) или набуханием волокон хрусталика (кортикальная);

2.5–3 – выраженная кортикальная катаракта с дефрагментацией и набуханием волокон, образованием морганиевых телец;

3.5–4 – кортикальная катаракта, охватывающая весь хрусталик (дефрагментация и набухание волокон, наличие «баллонных» клеток, морганиевых телец по всему периметру хрусталика);

4.5–5 – ядерная катаракта (гиалиноз).

Полученные результаты статистически обрабатывали с помощью программы Microsoft Excel 2016 (США). Достоверность результатов офтальмоскопии оценивали по критерию Манна – Уитни, достоверность данных офтальмотонометрии, иммуноферментного анализа и патоморфологического исследования – по *t*-критерию Стьюдента. Качественный анализ результатов исследования местно-раздражающего действия соединения К-165 проводили с использованием критерия хи-квадрат.

3.5–4 – cortical cataract of the whole lens (defragmentation and swelling of fibers, presence of balloon cells, Morgagni globules along the entire perimeter of the lens);

4.5–5 – nuclear cataract (hyalinosis).

The obtained results were processed statistically using Microsoft Excel 2016 (USA). The accuracy of the results of ophthalmoscopy was assessed using the Mann-Whitney test, the accuracy of the results of ocular tonometry, enzyme immunoassay and pathomorphological examination – using the Student's *t*-test. A qualitative analysis of the results of the study of the local irritation effect of the compound K-165 was carried out using the chi-square test.

RESULTS

The glucose level in laboratory animals from the intact control group reached 15 mmol/l already on the third day after the streptozotocin administration and remained significantly high, exceeding the similar indicator in rats of the intact groups. In the groups of animals that were instilled the compound K-165 and melatonin, the glucose level throughout the experiment also remained significantly high compared to the intact control group.

The development of diabetes in rats was accompanied by weight loss, polyuria, polydipsia, polyphagia – clinical signs characteristic of severe DM. The animals were anergic and apathetic.

The ophthalmoscopy (retroillumination imaging) shows that in animals from the intact groups lenses remained clear until the end of the experiment (lens opacity grade 0) (Table 1). In animals with DM, by the 3rd month of the study, grade 3 of lens opacity was noted and the grade of cataract was 2.5 (the values statistically significantly differed from intact animals at $p < 0.05$).

The pathomorphological examination of the lens showed that the experimental animals with induced DM had all the signs of cataract: vacuolization, swelling and defragmentation of lens fibers with the production of balloon cells, Morgagni globules development, as well as abnormal nuclear trapping by the fibers (Fig. 1, A). In one rat with induced DM, subcapsular proliferation of epithelial cells in the anterior pole of the lens was detected (Fig. 1, B).

In most cases, animals developed cortical and peripheral types of cataracts. The grade of lens damage by morphological signs varied from moderate pathological changes to the development of almost complete cataracts. In experimental animals, which were instilled melatonin for correction of the diabetic complications, morphological signs of moder-

РЕЗУЛЬТАТЫ

Уровень гликемии у лабораторных животных из группы интактного контроля уже на третий день после введения стрептозотоцина превышал 15 ммоль/л и оставался достоверно высоким, превосходя аналогичный показатель у интактных крыс. В группах животных, которым инстиллировали соединение K-165 и мелатонин, уровень глюкозы на протяжении эксперимента также оставался достоверно высоким по сравнению с группой интактного контроля.

Развитие диабета у крыс сопровождалось потерей веса, полиурией, полидипсией, полифагией – клиническими признаками, характерными для тяжелой формы СД. Животные были вялыми и апатичными.

В результате проведенной офтальмоскопии в режиме ретроиллюминации было установлено, что у интактных животных хрусталики оставались прозрачными до конца эксперимента (степень помутнения хрусталиков 0) (табл. 1). У животных с СД к 3-му месяцу исследования развивалась скорее 3-я степень помутнения хрусталиков, и степень помутнения составила 2.5 (показатели статистически значимо отличаются от интактных животных при $p < 0.05$).

Проведенное патоморфологическое исследование хрусталика показало, что у подопытных животных с индуцированным СД отмечали все признаки развития катаракты: вакуолизация, набухание и дефрагментация хрусталиковых волокон с образованием баллонных клеток, формированием морганиевых телец, а также аномальным удержанием ядер волокнами (рис. 1, А). У одной крысы с индуцированным СД была обнаружена субкапсулярная пролиферация клеток эпителия в передней зоне хрусталика (рис. 1, В).

В большинстве случаев у животных развивались кортикальный и периферический виды ката-

рате diabetic cataracts were also found: swelling, vacuolization and partial defragmentation of lens fibers mainly in the equatorial regions of the cortical layer of the lens (Fig. 2).

In experimental rats which were instilled the melatonin bioisostere, compound K-165, pathological changes in the lens caused by long-term hyperglycemia were expressed poorly. In most cases, the main manifestations of cataract were observed in one of the equatorial regions of the lens and were characterized by local swelling of lens fibers and abnormal nuclear trapping (Fig. 3). Scoring the grade of cataract revealed a significant decrease (by 32%) in pathological changes in the lens of experimental animals with induced DM and conjunctival instillation of the compound K-165.

Thus, according to the morphological study results, the substance K-165 had a greater potential for correcting cataract manifestations in laboratory animals with induced diabetes.

The experiment revealed that in rats with diabetes mellitus, IOP increased compared to intact animals (by 36% in the control group with DM), and the IOP level in laboratory animals that received instillations of the compound K-165, decreased by 24% compared to animals with DM (Table 2). In the group of animals that were instilled melatonin, the IOP level decreased by 25% compared to the group of animals with streptozotocin-induced DM.

According to the results of the microcirculation analysis in the control group with DM, the level of retinal microcirculation decreased by 36% ($p < 0.05$) compared to the intact control group (Table 2). In the group of animals receiving the compound K-165, the level of retinal microcirculation significantly increased by 37.5% compared to the group of animals with DM. In animals receiving melatonin, a tendency to increase the level of microcirculation by 20.4% was observed in comparison with the group of

Таблица 1. Влияние соединения K-165 и мелатонина на степень помутнения хрусталиков при стрептозототцин-индуцированном сахарном диабете

Table 1. The effect of the compound K-165 and melatonin on the grade of lens opacity in streptozotocin-induced diabetes mellitus

Группа / Group	Степень помутнения хрусталиков Degree of lens opacity
Контроль 1 (интактные) / Control 1 (intacts)	0
Контроль 2 (сахарный диабет) / Control 2 (diabetes mellitus)	2.5 ± 0.25 [#]
Сахарный диабет + мелатонин / Diabetes mellitus + melatonin	1.8 ± 0.2
Сахарный диабет + K-165 / Diabetes mellitus + K-165	1.2 ± 0.24 [*]

[#] Показатели статистически значимо отличаются от группы контроля 1 (интактные) при $p < 0.05$; критерий Манна – Уитни.
The values with statistically significant differences compared to control group 1 (intacts) at $p < 0.05$; Mann-Whitney test.

^{*} Показатели статистически значимо отличаются от группы контроля 2 (сахарный диабет) при $p < 0.05$; критерий Манна – Уитни.
The values with statistically significant differences compared to control group 2 (diabetes mellitus) at $p < 0.05$; Mann-Whitney test.

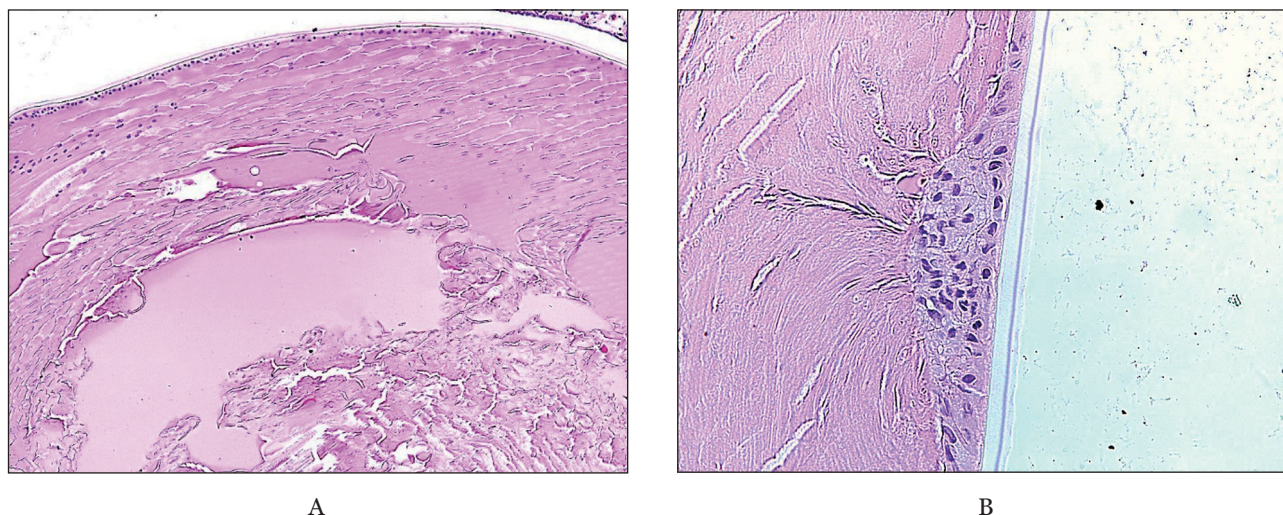


Рис. 1. Фрагмент хрусталика подопытной крысы с индуцированным сахарным диабетом, окраска гематоксилин-эозином, увеличение $\times 200$ (A) и субкапсулярная пролиферация клеток в передней зоне хрусталика, окраска гематоксилин-эозином, увеличение $\times 400$ (B)

Fig. 1. A lens fragment of the experimental rat with induced diabetes mellitus, hematoxylin and eosin staining, $\times 200$ magnification (A) and subcapsular cell proliferation in the anterior pole of the lens, hematoxylin and eosin staining, $\times 400$ magnification (B)

ракт. При этом степень выраженности повреждения хрусталика по морфологическим признакам варьировалась от умеренных патологических изменений до развития практически полной катаракты. У подопытных животных, которым в качестве средства коррекции диабетических осложнений инстиллировали мелатонин, также обнаруживали морфологические признаки средневыраженной диабетической катаракты: набухание, вакуолизация и частичная дефрагментация волокон хрусталика в основном в экваториальных зонах коркового слоя хрусталика (рис. 2).

animals with DM, though did not differ significantly from it.

The assessment of the electrophysiological state of the retina showed that streptozotocin-induced DM in animals leads to electrophysiological changes in the retina (Table 2). Thus, the b/a coefficient significantly decreased by 38% compared to the average value in intact animals, which, in turn, confirms the literature data that the earliest sign of deterioration in visual function during the experimental DM is a decrease in the amplitudes of wave potentials. When correcting streptozotocin-induced DM with the com-

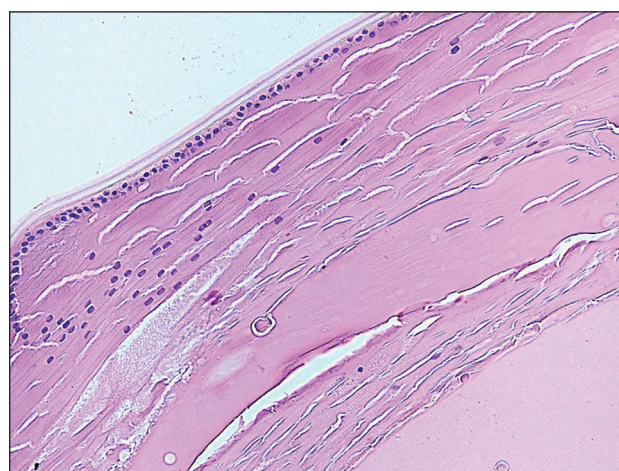


Рис. 2. Фрагмент хрусталика подопытной крысы из группы «сахарный диабет + мелатонин». Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение $\times 200$

Fig. 2. A lens fragment of the experimental rat from the group of animals with diabetes mellitus and instillation of melatonin. Hematoxylin and eosin staining. Magnification $\times 200$

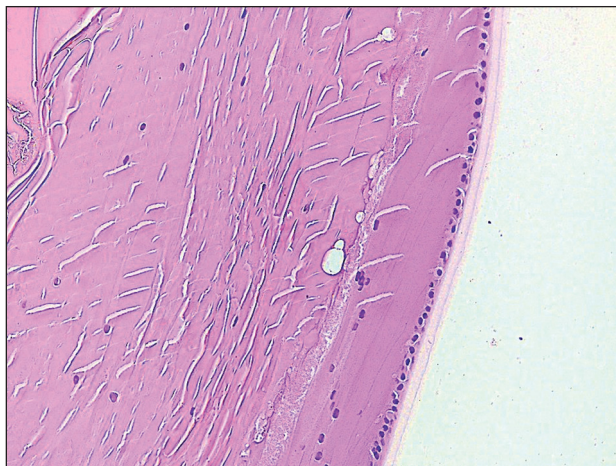


Рис. 3. Фрагмент хрусталика подопытной крысы из группы «сахарный диабет + соединение К-165».

Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение $\times 200$

Fig. 3. A lens fragment of the experimental rat from the group of animals with diabetes mellitus and instillation of K-165. Hematoxylin and eosin staining. Magnification $\times 200$

У подопытных крыс, которым инстиллировали биоизостер мелатонина – соединение К-165, патологические изменения в хрусталике, обусловленные длительной гипергликемией, были слабо выражены. В большинстве случаев основные проявления катаракты наблюдались в одной из экваториальных зон хрусталика и характеризовались локальным набуханием хрусталиковых волокон и аномальным удержанием ядер (рис. 3). Расчет среднего балла степени выраженности катаракты выявил значимый характер уменьшения (на 32 %) проявлений патологических процессов в хрусталике подопытных животных, которым конъюнктивально вводили соединение К-165 на фоне индуцированного СД.

Таким образом, по данным морфологического исследования вещество К-165 обладало большим потенциалом коррекции проявлений катаракты у лабораторных животных с индуцированным СД.

В эксперименте было выявлено, что у крыс с СД повышалось ВГД по сравнению с интактными животными: на 36 % – в группе контроля СД, а уровень ВГД у лабораторных животных, получавших инстилляцию соединения К-165, снижался на 24 % по сравнению с животными с СД (табл. 2). В группе животных, которым инстиллировали мелатонин, уровень ВГД снижался на 25 % по сравнению с группой животных со стрептозотцин-индуцированным диабетом.

По результатам анализа параметров микроциркуляции в группе контроля с СД уровень ретиальной микроциркуляции снижался на 36 % ($p < 0.05$) по сравнению с группой интактного контроля (см. табл. 2). В группе животных,

pound K-165 and melatonin, a tendency to an increase in the combined response of rods and cones was observed compared to the group of animals with streptozotocin-induced DM.

DISCUSSION

In this study, melatonin was used as a reference drug. Extensive studies have shown its presence in important structures of the eye, such as the retina, iris, ciliary body, lens, and lacrimal gland [11–14].

Melatonin plays a key role in the suppression of cataract formation due to its various properties. A significant decrease in the incidence of cataract was found after melatonin treatment, accompanied by favorable changes in oxidative stress markers and an increase in the activity of antioxidant enzymes [15]. In a model of early type 2 DM in adult rats, melatonin pellets were implanted subcutaneously. After 12 weeks of treatment, melatonin, which did not affect glucose metabolism in control and diabetic rats, prevented a decrease in α -waves, b -waves of the electroretinogram and oscillatory potential amplitude, as well as an increase in retinal lipid peroxidation, NOS activity, TNF- α , glial fibrillary acidic protein of Müller cells and vascular endothelial growth factor levels. In addition, melatonin prevented a decrease in retinal catalase activity. These results demonstrate that melatonin protects the retina from alterations observed in an experimental model of diabetic retinopathy (DR) associated with type 2 DM [16]. Furthermore, the experimental data indicate that exogenous melatonin and its analogs effectively reduce IOP in animals and patients with glaucoma. Melatonin primarily acts through specific receptors (MT1, MT2, and the puta-

Таблица 2. Влияние соединения К-165 и мелатонина на уровень внутриглазного давления ($M \pm \sigma$), микроциркуляции ($M \pm m$) и коэффициент b/a при стрептозототцин-индуцированном сахарном диабете ($M \pm m$)
Table 2. The effect of the compound K-165 and melatonin on the level of intraocular pressure ($M \pm \sigma$), microcirculation ($M \pm m$) and the b/a coefficient in streptozotocin-induced diabetes mellitus ($M \pm m$)

Группа / Group	ВГД, мм рт. ст. IOP, mm Hg	Уровень микроциркуляции, п.е. Microcirculation level, p.u.	Коэффициент b/a , отн. ед. Coefficient b/a , a.u.
Контроль 1 (интактные) Control 1 (intact) ($n = 15$)	9.45 ± 0.45	2237.0 ± 242.2	0.34 ± 0.09
Контроль 2 (сахарный диабет) Control 2 (diabetes mellitus) ($n = 15$)	$12.9 \pm 0.95^*$	$1426.7 \pm 45.0^*$	$0.21 \pm 0.04^{\#}$
Сахарный диабет + К-165 Diabetes mellitus + K-165 ($n = 15$)	$9.8 \pm 0.51^{\#}$	$1962.4 \pm 204.9^{\#}$	0.27 ± 0.01
Сахарный диабет + мелатонин Diabetes mellitus + melatonin ($n = 15$)	$9.6 \pm 0.58^{\#}$	1771.7 ± 256.7	0.24 ± 0.01

П р и м е ч а н и я : ВГД – внутриглазное давление; п.е. – перфузионные единицы; отн. ед. – относительные единицы.

*Показатели статистически значимо отличаются от группы контроля 1 (интактные) при $p < 0.05$; t -критерий Стьюдента.

Показатели статистически значимо отличаются от группы контроля 2 (сахарный диабет) при $p < 0.05$; t -критерий Стьюдента.

Note : IOP – intraocular pressure; p.u. – perfusion units; a.u. – arbitrary units.

*The values with statistically significant differences compared to control group 1 (intacts) at $p < 0.05$; Student's t -test.

The values with statistically significant differences compared to control group 2 (diabetes mellitus) at $p < 0.05$; Student's t -test.

получавших соединение К-165, уровень ретинальной микроциркуляции достоверно повышался на 37.5 % по сравнению с группой животных с СД. У животных, получавших мелатонин, наблюдалась тенденция к увеличению уровня микроциркуляции на 20.4 % по сравнению с группой животных с СД, хотя достоверного отличия не было.

При исследовании электрофизиологического состояния сетчатки выявлено, что стрептозототцин-индуцированный диабет у животных приводит к электрофизиологическим изменениям в сетчатке (см. табл. 2). Так, коэффициент b/a достоверно снижался на 38 % по сравнению со средним значением у интактных животных, это, в свою очередь, подтверждают литературные данные о том, что наиболее ранним сигналом ухудшения зрительной функции при развитии СД в эксперименте является снижение амплитуд волн потенциалов. На фоне коррекции стрептозототцин-индуцированного диабета соединением К-165 и мелатонином наблюдалась тенденция к увеличению смешанного ответа палочек и колбочек по сравнению с группой животных со стрептозототцин-индуцированным диабетом.

ОБСУЖДЕНИЕ

В данном исследовании мелатонин использовали в качестве эталонного препарата. Обшир-

ные MT3) expressed abundantly in cells of the retina and ciliated epithelium. Stimulation of these receptors, especially in the ciliary body, results in decreased aqueous humor secretion, thereby reducing IOP [17]. Although melatonin holds promise as a potential therapeutic agent for a number of eye diseases, particularly in the context of its antioxidant, anti-inflammatory and neuroprotective properties, its topical application as eye drops remains challenging due to the instability of the molecule in aqueous solution and poor effectiveness of the delivery to the posterior pole.

Streptozotocin-induced DM was chosen because it allows for experimental modeling diabetic cataractogenesis, neuro- and retinopathies, diabetic neovascularization, and ophthalmic hypertension.

Melatonin prevented the development of lens opacity, which is confirmed by the ophthalmoscopy and pathomorphological findings. It also contributed to a decrease in IOP, improved microcirculation parameters, and prevented a decrease in a - and b -waves of the electroretinogram. The conclusion about the protective role of melatonin in DR is consistent with the previously findings [18].

A new derivative of 3-arylidene-2-oxindole, the compound K-165 exhibits a significant anti-cataract effect on the lenses of laboratory animals with streptozotocin-induced DM, surpassing melatonin in activity.

Simultaneously with the study of the lens, the effect of the compound K-165 on changes in the struc-

ные исследования выявили его присутствие в важнейших структурах глаза, таких как сетчатка, радужная оболочка, цилиарное тело, хрусталик и слезная железа [11–14].

Мелатонин играет ключевую роль в подавлении образования катаракты благодаря своим разнообразным свойствам. Выявлено значительное снижение заболеваемости катарактой после лечения мелатонином, сопровождающееся благоприятными изменениями маркеров окислительного стресса и усилением активности антиоксидантных ферментов [15]. В модели раннего СД2 у взрослых крыс животным подкожно имплантировали гранулы мелатонина. Через 12 нед лечения мелатонин, не влиявший на метаболизм глюкозы у контрольных и диабетических крыс, предотвращал снижение а-волн электроретинограммы, b-волн и амплитуды колебательного потенциала, а также увеличение перекисного окисления липидов сетчатки, активности NOS, TNF- α , глиального фибриллярного кислого белка клеток Мюллера и фактора роста эндотелия сосудов. Кроме того, мелатонин предотвращал снижение активности каталазы сетчатки. Эти результаты показывают, что мелатонин защищает сетчатку от изменений, наблюдаемых в экспериментальной модели диабетической ретинопатии (ДР), связанной с диабетом 2-го типа [16]. Кроме того, экспериментальные данные свидетельствуют о том, что экзогенный мелатонин и его аналоги эффективно снижают ВГД у животных и пациентов с глаукомой. Действие мелатонина в первую очередь осуществляется через специфические рецепторы (MT1, MT2 и предполагаемый MT3), обильно экспрессирующиеся в клетках сетчатки и мерцательном эпителии. Стимуляция этих рецепторов, особенно в цилиарном теле, приводит к снижению секреции водянистой влаги, тем самым снижая ВГД [17]. Несмотря на то, что мелатонин является перспективным в качестве потенциального терапевтического средства при ряде глазных заболеваний, особенно в контексте его антиоксидантных, противовоспалительных и нейропротекторных свойств, его местное применение в виде глазных капель остается сложной задачей из-за нестабильности молекулы в водном растворе и низкой эффективности доставки к заднему полюсу.

Стрептозотозин-индуцированный сахарный диабет был выбран, так как он позволяет в экспериментальных условиях моделировать диабетический катарактогенез, нейро- и ретинопатии, диабетическую неоваскуляризацию, офтальмогипертензию.

Structure and function of the retina in experimental DM was investigated. The early cataract formation in diabetic animals and decreased transparency of ocular media complicated direct ophthalmoscopy of the fundus oculi. However, functional methods made it possible to analyze the effect of the compound K-165 and the reference drug on the development of DR. Laser Doppler as a part of the experiment study made it possible to reveal a positive effect of the compound K-165 on the level of perfusion of ischemic tissues in diabetic animals: a significant increase in the level of ocular microcirculation was observed in the group of animals that received the compound K-165. Photoreceptor neurodegeneration up to apoptosis is an integral component of DR pathogenesis and is manifested by a decrease in the amplitude of a-wave of the electroretinogram [19, 20]. With the correction of streptozotocin-induced DM by the compound K-165, a tendency to increase in the combined response of rods and cones was observed compared to the group of animals with streptozotocin-induced DM. Therefore, the compound K-165, having a positive effect on functional changes in hyperglycemia, demonstrated retinoprotective properties in uncontrolled diabetes mellitus.

CONCLUSION

The performed study allows us to draw the following conclusions:

1. A new derivative of 3-arylidene-2-oxindole, the compound K-165 promotes the delayed opacity formation in the chrySTALLINE lens, surpassing the reference drug melatonin in activity, and reduces IOP by 24% ($p < 0.05$) compared to animals with DM from the control group.
2. The compound K-165 decreases the severity of morphological signs of lens pathology by 32% (defragmentation and swelling of lens fibers, migration of the anterior epithelium to the poles and to the posterior surface of the lens, and appearance of Morgagni globules) compared to animals with DM from the control group.
3. The compound K-165 promotes an increase in the level of ocular blood microcirculation by 37.5% ($p < 0.05$) and demonstrates a tendency to normalization of the retinal bioelectrical activity compared to laboratory animals with DM from the control group.

Funding. The research was carried out with the financial support of the Russian Science Foundation and Administration of the Novgorod region, project 22-15-20025.

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

Мелатонин препятствовал развитию помутнения хрусталиков, что подтверждается данными офтальмоскопического контроля и патоморфологического исследования. Также он способствовал снижению ВГД, улучшению параметров микроциркуляции и предотвращал снижение а- и b-волн электроретинограммы. Вывод о защитных функциях мелатонина при ДР согласуется с заключениями, ранее опубликованными в литературных источниках [18].

Новое производное 3-арилиден-2-оксиндола – соединение К-165 проявляет выраженное антикатарактальное действие на хрусталики лабораторных животных со стрептозотоцин-индуцированным СД, превосходя по активности мелатонин.

Параллельно исследованию хрусталика изучалось влияние соединения К-165 на изменения структуры и функции сетчатки в условиях экспериментального диабета. Раннее развитие катаракты у диабетических животных и снижение прозрачности оптических сред затрудняло непосредственный офтальмоскопический контроль за состоянием глазного дна. Однако функциональные методы исследования позволили проанализировать влияние соединения К-165 и препарата сравнения на развитие ДР. Проведенная в рамках экспериментальной части лазерная доплеровская флоуметрия позволила выявить положительное влияние соединения К-165 на уровень перфузии ишемизированных тканей у диабетических животных: наблюдалось достоверное повышение уровня глазной микроциркуляции в группе животных, которым вводили соединение К-165. Нейродегенерация фоторецепторов вплоть до апоптоза является неотъемлемым компонентом патогенеза ДР и проявляется снижением амплитуды а-волны электроретинограммы [19, 20]. На фоне коррекции стрептозотоцин-индуцированного диабета соединением

К-165 наблюдалась тенденция к увеличению смешанного ответа палочек и колбочек по сравнению с группой животных со стрептозотоцин-индуцированным диабетом. Следовательно, соединение К-165, позитивно влияя на функциональные изменения при гипергликемии, продемонстрировало нейроретинопротективные свойства при некомпенсированном сахарном диабете.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное исследование позволяет сделать следующие выводы:

1. Новое производное 3-арилиден-2-оксиндола – соединение К-165 способствует задержке образования помутнения в хрусталиках, превосходя по активности препарат сравнения мелатонин, и снижает ВГД на 24 % ($p < 0.05$) по сравнению с животными с диабетом из группы контроля.

2. Соединение К-165 снижает выраженность морфологических признаков патологии хрусталика (на 32 % уменьшает дефрагментацию и набухание волокон хрусталика, миграцию переднего эпителия к полюсам и на заднюю поверхность хрусталика, образование морганиевых телец) по сравнению с животными с диабетом из группы контроля.

3. Соединение К-165 способствует повышению уровня глазной гемомикроциркуляции на 37.5 % ($p < 0.05$) и демонстрирует тенденцию к нормализации биоэлектрической активности сетчатки по сравнению с лабораторными животными с СД из контрольной группы.

Финансирование. Исследования выполнены при финансовой поддержке Российского научного фонда и администрации Волгоградской области, проект 22-15-20025.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Дедов И.И., Шестакова М.В., Викулова О.К. и др. Сахарный диабет в Российской Федерации: динамика эпидемиологических показателей по данным Федерального регистра сахарного диабета за период 2010 – 2022 гг. // Сахарный диабет. 2023;26(2):104-123. DOI: 10.14341/DM13035.
2. Тельтевская И.И., Иванова С.В., Ющук Е.Н. и др. Контроль основных факторов сердечно-сосудистого риска у пациентов с сахарным диабетом 2 типа и синдромом диабетической стопы // Эффективная фармакотерапия. 2023;19(1):26-31. DOI: 10.33978/2307-3586-2023-19-1-26-31.

REFERENCES

1. Dedov I.I., Shestakova M.V., Vikulova O.K. et al. Diabetes mellitus in the Russian Federation: dynamics of epidemiological indicators according to the Federal Register of Diabetes Mellitus for the period 2010–2022. *Diabetes Mellitus*. 2023;26(2):104-123. DOI: 10.14341/DM13035. (In Russ.)
2. Teltevskaia I.I., Ivanova S.V., Yushchuk E.N. et al. Control of major cardiovascular risk factors in patients with type 2 diabetes and diabetic foot syndrome. *Effective Pharmacotherapy*. 2023;19(1):26-31. DOI: 10.33978/2307-3586-2023-19-1-26-31. (In Russ.)
3. Dal Canto E., Ceriallo A., Rydén L. et al. Diabetes as a cardiovascular risk factor: An overview of global

3. Dal Canto E., Ceriello A., Rydén L. et al. Diabetes as a cardiovascular risk factor: An overview of global trends of macro and micro vascular complications // *Eur. J. Prev. Cardiol.* 2019; 26 (2_suppl.):25-32. DOI: 10.1177/2047487319878371.
4. Липатов Д.В., Чистяков Т.А., Кузьмин А.Г. и др. Диабетическая глаукома: особенности клиники и лечения // *Эндокринная хирургия.* 2011;5(1):21-28.
5. Нероев В.В., Зайцева О.В., Михайлова Л.А. Заболеваемость диабетической ретинопатией в Российской Федерации по данным федеральной статистики // *Российский офтальмологический журнал.* 2018;11(2):5-9. DOI: 10.21516/2072-0076-2018-11-2-5-9.
6. Falavarjani K.G., Nguyen Q.D. Adverse events and complications associated with intravitreal injection of anti-VEGF agents: a review of literature // *Eye (Lond).* 2013;27(7):787-794. DOI: 10.1038/eye.2013.107.
7. Rezzola S., Guerra J., Krishna Chandran A.M. et al. VEGF-independent activation of Müller cells by the vitreous from proliferative diabetic retinopathy patients // *Int. J. Mol. Sci.* 2021;22(4):2179. DOI: 10.3390/ijms22042179.
8. Suryanarayana P., Saraswat M., Mrudula T. et al. Curcumin and turmeric delay streptozotocin-induced diabetic cataract in rats // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2005; 46(6):2092-2099. DOI: 10.1167/iovs.04-1304.
9. Latendresse J.R., Warbritton A.R., Jonassen H., Creasy D.M. Fixation of testes and eyes using a modified Davidson's fluid: Comparison with Bouin's fluid and conventional Davidson's fluid // *Toxicol. Pathol.* 2002; 30(4):524-533. DOI: 10.1080/01926230290105721.
10. Саркисов Д.С., Перов Ю.Л. Микроскопическая техника: Руководство. М.: Медицина, 1996. 544 с.
11. Abe M., Itoh M.T., Miyata M. et al. Circadian rhythm of serotonin N-acetyltransferase activity in rat lens // *Exp. Eye Res.* 2000;70(6):805-808. DOI: 10.1006/exer.2000.0845.
12. Aimoto T., Rohde B.H., Chiou G.C., Lauber J.K. N-acetyltransferase activity and melatonin level in the eyes of glaucomatous chickens // *J. Ocul. Pharmacol.* 1985;1(2):149-160. DOI: 10.1089/jop.1985.1.149.
13. Bubenik G.A., Brown G.M., Uhlir I., Grota L.J. Immunohistological localization of N-acetylindolealkylamines in pineal gland, retina and cerebellum // *Brain Res.* 1974;81(2):233-242. DOI: 10.1016/0006-8993(74)90938-X.
14. Quay W.B. Increases in volume, fluid content, and lens weight of eyes following systemic administration of melatonin // *J. Pineal Res.* 1984;1(1):3-13. DOI: 10.1111/j.1600-079X.1984.tb00190.x.
15. Yağci R., Aydin B., Erdurmuş M. et al. Use of melatonin to prevent selenite-induced cataract formation in rat eyes // *Cur. Eye Res.* 2006;31(10):845-850. DOI: 10.1080/02713680600899663.
16. Salido E.M., Bordone M., De Laurentiis A. et al. Therapeutic efficacy of melatonin in reducing retinal damage in an experimental model of early type 2 diabetes in rats // *J. Pineal Res.* 2006;54(2):179-189. DOI: 10.1111/jpi.12008.
17. Alkozi H., Sánchez-Naves J., de Lara M.J.P. et al. Elevated intraocular pressure increases melatonin levels in the aqueous humour // *Acta Ophthalmol.* 2017;95(3):e185-e189. DOI: 10.1111/aos.13253.
18. Rusciano D., Russo C. The therapeutic trip of melatonin eye drops: from the ocular surface to the retina. *Phar-* trends of macro and micro vascular complications. *Eur. J. Prev. Cardiol.* 2019; 26 (2_suppl.):25-32. DOI: 10.1177/2047487319878371.
4. Lipatov D.V., Chistjakov T.A., Kuzmin A.G. et al. Diabetic glaucoma: clinical and treatment features. *Endocrine Surgery.* 2011;5(1):21-28. (In Russ.)
5. Neroev V.V., Zaytseva O.V., Mikhailova L.A. Diabetic retinopathy prevalence in the Russian Federation according to all-Russia statistics. *Russian Ophthalmological Journal.* 2018;11(2):5-9. DOI: 10.21516/2072-0076-2018-11-2-5-9. (In Russ.)
6. Falavarjani K.G., Nguyen Q.D. Adverse events and complications associated with intravitreal injection of anti-VEGF agents: a review of literature. *Eye (Lond).* 2013;27(7):787-794. DOI: 10.1038/eye.2013.107.
7. Rezzola S., Guerra J., Krishna Chandran A.M. et al. VEGF-independent activation of Müller cells by the vitreous from proliferative diabetic retinopathy patients. *Int. J. Mol. Sci.* 2021;22(4):2179. DOI: 10.3390/ijms22042179.
8. Suryanarayana P., Saraswat M., Mrudula T. et al. Curcumin and turmeric delay streptozotocin-induced diabetic cataract in rats. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2005;46(6):2092-2099. DOI: 10.1167/iovs.04-1304.
9. Latendresse J.R., Warbritton A.R., Jonassen H., Creasy D.M. Fixation of testes and eyes using a modified Davidson's fluid: Comparison with Bouin's fluid and conventional Davidson's fluid. *Toxicol. Pathol.* 2002; 30(4):524-533. DOI: 10.1080/01926230290105721.
10. Sarkisov D.S., Perov Yu.L. (1996). *Microscopic Techniques: A Manual.* Moscow, Medicine. 544 p. (In Russ.)
11. Abe M., Itoh M.T., Miyata M. et al. Circadian rhythm of serotonin N-acetyltransferase activity in rat lens. *Exp. Eye Res.* 2000;70(6):805-808. DOI: 10.1006/exer.2000.0845.
12. Aimoto T., Rohde B.H., Chiou G.C., Lauber J.K. N-acetyltransferase activity and melatonin level in the eyes of glaucomatous chickens. *J. Ocul. Pharmacol.* 1985;1(2):149-160. DOI: 10.1089/jop.1985.1.149.
13. Bubenik G.A., Brown G.M., Uhlir I., Grota L.J. Immunohistological localization of N-acetylindolealkylamines in pineal gland, retina and cerebellum. *Brain Res.* 1974;81(2):233-242. DOI: 10.1016/0006-8993(74)90938-X.
14. Quay W.B. Increases in volume, fluid content, and lens weight of eyes following systemic administration of melatonin. *J. Pineal Res.* 1984;1(1):3-13. DOI: 10.1111/j.1600-079X.1984.tb00190.x.
15. Yağci R., Aydin B., Erdurmuş M. et al. Use of melatonin to prevent selenite-induced cataract formation in rat eyes. *Cur. Eye Res.* 2006;31(10):845-850. DOI: 10.1080/02713680600899663.
16. Salido E.M., Bordone M., De Laurentiis A. et al. Therapeutic efficacy of melatonin in reducing retinal damage in an experimental model of early type 2 diabetes in rats. *J. Pineal Res.* 2006;54(2):179-189. DOI: 10.1111/jpi.12008.
17. Alkozi H., Sánchez-Naves J., de Lara M.J.P. et al. Elevated intraocular pressure increases melatonin levels in the aqueous humour. *Acta Ophthalmol.* 2017; 95(3):e185-e189. DOI: 10.1111/aos.13253.
18. Rusciano D., Russo C. The therapeutic trip of melatonin eye drops: from the ocular surface to the retina. *Phar-*

18. Rusciano D., Russo C. The therapeutic trip of melatonin eye drops: from the ocular surface to the retina // *Pharmaceuticals* (Basel). 2024;17(4):441. DOI: 10.3390/ph17040441.
19. Bautista-Pérez R., Cano-Martínez A., Gutiérrez-Velázquez E. Spinach methanolic extract attenuates the retinal degeneration in diabetic rats // *Antioxidants*. 2021;10(5):717. DOI: 10.3390/antiox10050717.
20. Shuhong Q., Yujin Q., Dongxia H. et al. Tanshinone IIa protects retinal endothelial cells against mitochondrial fission induced by methylglyoxal through glyoxalase 1 // *Eur. J. Pharmacol.* 2019;857:172419. DOI: 10.1016/j.ejphar.2019.172419.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Спасов Александр Алексеевич – д-р мед. наук, профессор, академик РАН, заслуженный деятель науки РФ, заведующий кафедрой фармакологии и биоинформатики ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России, Волгоград, Россия.

Науменко Людмила Владимировна – д-р мед. наук, доцент, профессор кафедры фармакологии и биоинформатики ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России, Волгоград, Россия.

Говорова Юлия Александровна – канд. мед. наук, врач-офтальмолог ГАУЗ «Клиническая поликлиника № 3», Волгоград, Россия.

Таран Алена Сергеевна – канд. мед. наук, доцент кафедры фармакологии и биоинформатики ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России, Волгоград, Россия.

Чебанько Алина Михайловна – старший лаборант, соискатель кафедры фармакологии и биоинформатики ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России, Волгоград, Россия.

Смирнов Александр Владимирович – д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой патологической анатомии ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России, Волгоград, Россия.

Великородная Юлия Ивановна – младший научный сотрудник лаборатории токсикологии Научного центра инновационных лекарственных средств ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России, Волгоград, Россия.

Лозинская Наталья Александровна – канд. хим. наук, доцент кафедры медицинской химии и тонкого органического синтеза ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова», Москва, Россия.

Безсонова Елена Николаевна – аспирант 4-го года обучения, техник 1-й категории кафедры медицинской химии и тонкого органического синтеза ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова», Москва, Россия.

maceuticals (Basel). 2024;17(4):441. DOI: 10.3390/ph17040441.

19. Bautista-Pérez R., Cano-Martínez A., Gutiérrez-Velázquez E. Spinach methanolic extract attenuates the retinal degeneration in diabetic rats. *Antioxidants*. 2021;10(5):717. DOI: 10.3390/antiox10050717.
20. Shuhong Q., Yujin Q., Dongxia H. et al. Tanshinone IIa protects retinal endothelial cells against mitochondrial fission induced by methylglyoxal through glyoxalase 1. *Eur. J. Pharmacol.* 2019;857:172419. DOI: 10.1016/j.ejphar.2019.172419.

ABOUT THE AUTHORS

Aleksandr A. Spasov – Dr. Sci. (Med.), Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, Honored Scientist of the Russian Federation, Head, Department of Pharmacology and Bioinformatics, Volgograd State Medical University, Volgograd, Russia.

Lyudmila V. Naumenko – Dr. Sci. (Med.), Associate Professor, Professor, Department of Pharmacology and Bioinformatics, Volgograd State Medical University, Volgograd, Russia.

Yulia A. Govorova – Cand. Sci. (Med.), Ophthalmologist, Outpatient Clinic No. 3, Volgograd, Russia.

Alena S. Taran – Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Department of Pharmacology and Bioinformatics, Volgograd State Medical University, Volgograd, Russia.

Alina M. Chebanko – Senior Laboratory Assistant, Applicant, Department of Pharmacology and Bioinformatics, Volgograd State Medical University, Volgograd, Russia.

Aleksandr V. Smirnov – Dr. Sci. (Med.), Professor, Head, Department of Pathological Anatomy, Volgograd State Medical University, Volgograd, Russia.

Yulia I. Velikorodnaya – Junior Researcher, Toxicology Laboratory, Scientific Center for Innovative Medicines, Volgograd State Medical University, Volgograd, Russia.

Natalia A. Lozinskaya – Cand. Sci. (Chem.), Associate Professor, Department of Medicinal Chemistry and Fine Organic Synthesis, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia.

Elena N. Bezsonova – 4th year Post-graduate Student, Technician, Department of Medicinal Chemistry and Fine Organic Synthesis, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia.

Профиль экспрессии микроРНК в диагностическом субстрате первичной кожной Т-клеточной неходжкинской лимфомы

Ю.А. Веряскина¹, И.Б. Ковынев², В.В. Пахомова³, С.Е. Титов^{1, 4}, М.С. Войтко², К.С. Цигулёв², В.В. Онипченко³

¹ФГБУН «Институт молекулярной и клеточной биологии Сибирского отделения Российской академии наук», Новосибирск, Россия

²ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия

³ГБУЗ НСО «Новосибирский областной клинический кожно-венерологический диспансер», Новосибирск, Россия

⁴АО «Вектор-Бест», Новосибирск, Россия

АННОТАЦИЯ

В в е д е н и е . Первичные Т-клеточные лимфомы кожи (ТКЛК) представляют собой гетерогенную группу экстранодальных неходжкинских лимфом, которые на момент постановки диагноза локально ограничиваются кожей. Диагностика ТКЛК часто затруднена, поскольку на определенных этапах развития этого гемобластоза имеются клинические сходства с такими неопухолевыми дерматологическими заболеваниями, как хронический экзематозный дерматит, псориаз, красный волосяной лишай или грибковые инфекции. В патогенезе ТКЛК участвуют как генетические, так и эпигенетические факторы, в частности, микроРНК (миРНК).

Ц е л ь . Выявление миРНК, позволяющих дифференцировать ТКЛК от доброкачественных образований (ДО) кожи, и определение их роли в генетических путях, участвующих в развитии ТКЛК.

М а т е р и а л ы и м е т о д ы . Методом ПЦР с обратной транскрипцией в реальном времени проведен анализ уровней экспрессии миРНК-181a, -155, -574, -148b, -191, -26a, -21, -124, -221, -200b, -20a, -92a, -145, let-7a и let-7d в 5 фиксированных формалином и залитых парафином образцах биопсии кожи пациентов с диагнозом «ТКЛК», а также 20 образцах биопсии кожи пациентов с диагнозом «псориаз» (контрольная группа).

Р е з у л ь т а т ы . Сравнительный анализ уровней экспрессии миРНК между образцами ТКЛК и ДО показал статистически значимое увеличение уровней миРНК-181a, -155, -574, -148b и -191 в опухолевых образцах ($p < 0.05$). В ходе ROC-анализа установлено, что миРНК-155 и миРНК-181a являются высокочувствительными и специфичными маркерами для диагностики ТКЛК.

З а к л ю ч е н и е . Анализ уровней экспрессии миРНК может быть перспективным инструментом для дифференциальной диагностики дерматотропных лимфоидных гемобластозов и негемопоэтических болезней кожи.

Ключевые слова: микроРНК, первичные кожные Т-клеточные лимфомы, неходжкинские лимфомы.

Образец цитирования: Веряскина Ю.А., Ковынев И.Б., Пахомова В.В., Титов С.Е., Войтко М.С., Цигулёв К.С., Онипченко В.В. Профиль экспрессии микроРНК в диагностическом субстрате первичной кожной Т-клеточной неходжкинской лимфомы // Journal of Siberian Medical Sciences. 2024;8(4):116-129. DOI: 10.31549/2542-1174-2024-8-4-116-129

Поступила в редакцию 06.11.2024
Прошла рецензирование 27.11.2024
Принята к публикации 05.12.2024

Автор, ответственный за переписку
Веряскина Юлия Андреевна: ФГБУН «Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН». 630090, г. Новосибирск, просп. акад. Лаврентьева, 8/2.
E-mail: microrna@inbox.ru

Received 06.11.2024
Revised 27.11.2024
Accepted 05.12.2024

Corresponding author
Yulia A. Veryaskina: Institute of Molecular and Cellular Biology, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, 8/2, Acad. Lavrentiev Ave., Novosibirsk, 630090, Russia.
E-mail: microrna@inbox.ru

MicroRNA expression profile in the diagnostic substrate of primary cutaneous T cell non-Hodgkin's lymphoma

Yu.A. Veryaskina¹, I.B. Kovynev², V.V. Pakhomova³, S.E. Titov^{1, 4}, M.S. Voitko², K.S. Tsigulev², V.V. Onipchenko³

¹Institute of Molecular and Cellular Biology, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia

²Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia

³Novosibirsk Regional Clinical Skin and Venereal Diseases Dispensary, Novosibirsk, Russia

⁴Vector-Best, Novosibirsk, Russia

ABSTRACT

I n t r o d u c t i o n . Primary cutaneous T cell lymphomas (CTCL) are a heterogeneous group of extranodal non-Hodgkin's lymphomas that are locally limited to the skin at diagnosis. The diagnosis of CTCL is often difficult, since at certain stages of development, this hematological malignancy has clinical similarities with non-neoplastic dermatological diseases such as chronic eczematous dermatitis, psoriasis, lichen ruber, or fungal infections. Both genetic and epigenetic factors, in particular microRNAs (miRNAs), are involved in the pathogenesis of CTCL.

A i m . To identify the miRNAs that differentiate CTCL from benign skin lesions (BSL) and determine their role in genetic pathways involved in the development of CTCL.

M a t e r i a l s a n d m e t h o d s . Real-time reverse transcription PCR was used to analyze the expression levels of miRNA-181a, -155, -574, -148b, -191, -26a, -21, -124, -221, -200b, -20a, -92a, -145, let-7a, and let-7d in 5 formalin-fixed paraffin-embedded skin biopsy samples from patients with CTCL and 20 skin biopsy samples from patients with psoriasis (control group).

R e s u l t s . Comparative analysis of miRNA expression levels between CTCL and BSL samples showed a statistically significant increase in the levels of miRNA-181a, -155, -574, -148b and -191 in tumor samples ($p < 0.05$). ROC analysis showed that miRNA-155 and miRNA-181a are highly sensitive and specific markers for the diagnosis of CTCL.

C o n c l u s i o n . Analysis of miRNA expression levels may be a promising tool for the differential diagnosis between dermatotropic lymphoid hematological malignancies and non-hematological skin diseases.

Keywords: microRNA, primary cutaneous T cell lymphomas, non-Hodgkin's lymphomas.

Citation example: Veryaskina Yu.A., Kovynev I.B., Pakhomova V.V., Titov S.E., Voitko M.S., Tsigulev K.S., Onipchenko V.V. MicroRNA expression profile in the diagnostic substrate of primary cutaneous T cell non-Hodgkin's lymphoma. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2024;8(4):116-129. DOI: 10.31549/2542-1174-2024-8-4-116-129

ВВЕДЕНИЕ

Первичные кожные лимфомы представляют собой гетерогенную группу экстранодальных неходжкинских лимфом, которые на момент постановки диагноза локально ограничиваются кожей [1]. В отличие от нодальных неходжкинских лимфом, большинство из которых происходят из В-клеток, примерно 75 % первичных кожных лимфом имеют Т-клеточное происхождение [2]. Диагностика Т-клеточной лимфомы кожи (ТКЛК) основана на сочетании клинической картины заболевания, гистологического исследования биоптата кожного лоскута и дополнительных лабораторных тестов, таких как проточная цитометрия периферической крови и анализ клональности рецепторов Т-клеток [3]. Ранняя

INTRODUCTION

Primary cutaneous lymphomas are a heterogeneous group of extranodal non-Hodgkin's lymphomas that are locally limited to the skin at diagnosis [1]. In contrast to nodal non-Hodgkin's lymphomas, most of which are B-cell derived, approximately 75% of primary cutaneous lymphomas are of T-cell origin [2]. The diagnosis of cutaneous T-cell lymphoma (CTCL) is based on a combination of clinical presentation, histological examination of skin biopsy specimens, and additional laboratory tests such as flow cytometry of peripheral blood and the analysis of T-cell receptor clonality [3]. Early diagnosis and accurate classification are important for selecting treatment modalities, as lymphomas can vary significantly in grade, prognosis, and

диагностика и точная классификация имеют важное значение для выбора вариантов лечения, поскольку лимфомы могут существенно различаться по степени злокачественности, прогнозу и ответу на лечение [4]. Диагностика ТКЛК часто затруднена, поскольку на определенных этапах развития этого гемобластоza имеются клинические сходства с такими неопухолевыми заболеваниями кожи, как хронический экзематозный дерматит, псориаз, красный волосяной лишай, лекарственные дермопатии или грибковые инфекции [5]. Кроме того, отмечаются случаи одновременного наличия у пациента как ТКЛК, так и псориаза [6]. Ретроспективные исследования показали, что для постановки окончательного диагноза может потребоваться до 4 лет и несколько биопсий кожи [2]. На ранних стадиях заболевания клетки ТКЛК присутствуют только в небольшом количестве, и актуальной задачей является поиск молекулярно-генетических маркеров, способных повысить точность раннего распознавания данной опухоли. Исследования в этой области способствуют пониманию молекулярного ландшафта, лежащего в основе ТКЛК, и выявлению новых диагностических биомаркеров [7, 8]. Y. Zhang et al. показали, что анализ *TOX* и *PDCD1* способен дифференцировать ранний грибковидный микоз, являющийся наиболее частой клинической формой ТКЛК, от доброкачественного дерматита [9]. М. Nebozhyn et al. отмечают, что анализ 5 генов – *STAT4*, *GATA-3*, *PLS3*, *CD1D* и *TRAIL* позволяет с высокой точностью идентифицировать пациентов с ТКЛК при анализе мононуклеарных клеток периферической крови [10]. В другой работе предлагается использование анализа экспрессии гена *TMEM244* как потенциального диагностического маркера крови, отличающего подтипы ТКЛК и доброкачественную эритродермию [11]. I.V. Litvinov et al. в своем исследовании подтвердили, что гены *TOX*, *FYB*, *LEF1*, *CCR4*, *ITK*, *EED*, *POU2AF*, *IL26*, *STAT5*, *BLK*, *GTSF1* и *PSORS1C2* дифференциально экспрессируются между различными ТКЛК и доброкачественными образованиями кожи [5].

В патогенезе ТКЛК участвуют как генетические, так и эпигенетические факторы [12]. Модификация гистонов, метилирование ДНК и aberrantная экспрессия микроРНК (миРНК) являются эпигенетическими событиями, участвующими в развитии и прогрессировании ТКЛК [13]. U. Ralfkiaer et al. выявили 38 миРНК, которые дифференциально экспрессируются между грибковидным микозом на ранней стадии и атопиче-

response to treatment [4]. Diagnosis of CTCL is often difficult because at certain stages of development, this hematological malignancy has clinical similarities with such non-neoplastic skin diseases as chronic eczematous dermatitis, psoriasis, lichen ruber, drug-induced dermopathies or fungal infections [5]. In addition, Scott et al. reported the cases of coexistence of psoriasis and cutaneous T cell lymphoma [6]. Retrospective studies have shown that it may take up to 4 years and several skin biopsies to make a final diagnosis [2]. In the early stages of the disease, CTCL cells are small in numbers, and the search for molecular genetic markers that can improve the accuracy of early diagnosis of this tumor is an urgent task. Research in this field contributes to the understanding the molecular landscape underlying CTCL and the identification of new diagnostic biomarkers [7, 8]. Zhang et al. showed that the *TOX* and *PDCD1* analysis is capable of differentiating early mycosis fungoides, which is the most common clinical form of CTCL, from benign dermatitis [9]. Nebozhyn et al. note that quantitative PCR of 5 genes – *STAT4*, *GATA-3*, *PLS3*, *CD1D* and *TRAIL* allows for reliably identification of patients with CTCL analyzing peripheral blood mononuclear cells [10]. Another study proposes the use of the analysis of the *TMEM244* gene expression as a potential diagnostic blood marker that distinguishes CTCL subtypes from benign erythroderma [11]. Litvinov et al. confirmed that the genes *TOX*, *FYB*, *LEF1*, *CCR4*, *ITK*, *EED*, *POU2AF*, *IL26*, *STAT5*, *BLK*, *GTSF1* and *PSORS1C2* being differentially expresses between different CTCL and benign skin lesions [5].

Both genetic and epigenetic factors are involved in the pathogenesis of CTCL [12]. Histone modification, DNA methylation, and aberrant expression of microRNAs (miRNAs) are epigenetic events involved in the development and progression of CTCL [13]. Ralfkiaer et al. identified 38 miRNAs that are differentially expressed between early-stage mycosis fungoides and atopic dermatitis, and also described the dynamics of changes in miRNA expression levels during CTCL progression [14]. Another authors reported that a useful tool based on the analysis of the expression of miRNA-155, miRNA-203 and miRNA-205 was developed which allows for the identification of CTCL markers in blood plasma with high sensitivity and specificity [15].

Although a number of papers have been published to date aimed at studying the role of miRNAs in the development and progression of CTCL, there are still insufficient diagnostic markers for routine diagnosis.

ским дерматитом, а также отметили динамику изменения уровней экспрессии миРНК при прогрессировании ТКЛК [14]. В другом исследовании отмечается, что разработан классификатор на основе анализа экспрессии миРНК-155 и отношения миРНК-203/миРНК-205, позволяющий с высокой чувствительностью и специфичностью идентифицировать маркеры ТКЛК в плазме крови [15].

Хотя на сегодняшний день опубликован ряд работ, направленных на изучение роли миРНК в развитии и прогрессировании ТКЛК, диагностических маркеров для рутинной диагностики все еще недостаточно.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Выявление миРНК, позволяющих дифференцировать ТКЛК от доброкачественных образований кожи, и определение их роли в генетических путях, участвующих в лимфоогенезе ТКЛК.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Клинические образцы. В исследование включены 5 фиксированных формалином и залитых парафином (FFPE) образцов биоптатов кожного лоскута пациентов с подтвержденным диагнозом «ТКЛК», а также 20 образцов биопсии кожи пациентов с установленным диагнозом «псориаз», которые сформировали контрольную группу доброкачественных образцов (ДО). Материал был получен с соблюдением требований российского законодательства, от каждого пациента получено письменное информированное согласие, все данные были обезличены. Настоящее исследование одобрено этическим комитетом Новосибирского государственного медицинского университета (протокол № 158 от 21.03.2024).

Выделение общей РНК из FFPE. В пробирку, содержащую три парафиновых среза биоптата ткани в объеме 15 мкм для последующей депарафинизации, добавляли 1 мл минерального масла. Затем пробирку встряхивали в течение 10 с и инкубировали в термошейкере при 65 °C и 1300 об./мин в течение 2 мин. Затем образцы центрифугировали при 13 000–15 000 г в течение 4 мин. Надосадочную жидкость удаляли, не разрушая осадок. К осадку добавляли 1 мл 96% этанола, затем встряхивали в течение 10 с и центрифугировали при 13 000–15 000 г в течение 4 мин. Надосадочную жидкость удаляли, не разрушая осадок, затем добавляли 1 мл 70% этанола и центрифугировали при 13 000–15 000 г в течение 2 мин. Полученный осадок далее использовали для выделения нуклеиновых кислот.

AIM OF THE RESEARCH

To identify miRNAs that differentiate CTCL from benign skin lesions and to determine their role in genetic pathways involved in CTCL lymphomagenesis.

MATERIALS AND METHODS

Clinical samples. A study included 5 formalin-fixed paraffin-embedded (FFPE) skin flap biopsy samples from patients with a confirmed diagnosis of CTCL, as well as 20 skin biopsy samples from patients with a verified diagnosis of psoriasis, which formed the control group of benign samples (BS). The material was obtained in compliance with the requirements of Russian legislation, each patient provided written informed consent, and all data were depersonalized. This study was approved by the Ethics Committee of the Novosibirsk State Medical University (Protocol No. 158 dated 21.03.2024).

Isolation of total RNA from FFPE. One milliliter of mineral oil was added to a tube containing three 15-µm paraffin-embedded tissue biopsy sections for subsequent deparaffinization. The tube was then shaken for 10 s and incubated in a thermoshaker at 65°C and 1300 rpm for 2 min. The samples were then centrifuged at 13 000–15 000 g for 4 min. A supernatant was removed without disrupting the precipitate. One milliliter of 96% ethanol was added to the precipitate, shaken for 10 s, and centrifuged at 13 000–15 000 g for 4 min. The supernatant was removed without disrupting the precipitate, then 1 ml of 70% ethanol was added and centrifuged at 13 000–15 000 g for 2 min. The obtained precipitate was then used to isolate nucleic acids.

Each sample was added 600 µl of lysis buffer. The samples were incubated in the thermoshaker for 15 min at 65°C. An equal volume of isopropanol and 10 µl of magnetic sorbent were then added. A solution was thoroughly mixed and kept at room temperature for 5 min. After centrifugation for 10 min at 14 000 g, the supernatant was removed and the precipitate was washed with 500 µl of 70% ethanol and 300 µl of acetone. The obtained RNA was dissolved in 290 µl of deionized water.

Selection of miRNAs. The studied miRNAs were chosen based on the literature data. A panel of 15 miRNAs was formed: miRNA-181a, -155, -574, -148b, -191, -26a, -21, -124, -221, -200b, -20a, -92a, -145, let-7a and let-7d. For normalization, miRNA-103a was used, which was selected based on [16]. All oligonucleotides were synthesized at Vector-Best (Novosibirsk, Russia). Oligonucleotides were selected using the PrimerQuest tool (<https://eu.idtdna.com/> (accessed June 1, 2020)). The

К каждому образцу добавляли 600 мкл лизирующего буфера. Образцы были инкубированы в термошейкере в течение 15 мин при 65 °С. Затем был добавлен равный объем изопропанола и 10 мкл магнитного сорбента. Раствор был тщательно перемешан и выдержан при комнатной температуре в течение 5 минут. После центрифугирования в течение 10 мин при 14 000 g супернатант был удален, а осадок был промыт 500 мкл 70% этанола и 300 мкл ацетона. Полученную РНК растворили в 290 мкл деионизированной воды.

Выбор миРНК. Спектр исследуемых миРНК был составлен на основе литературных данных. Была сформирована панель из 15 миРНК: миРНК-181a, -155, -574, -148b, -191, -26a, -21, -124, -221, -200b, -20a, -92a, -145, let-7a и let-7d. Для нормализации использовали миРНК-103a, которая была выбрана на основе литературных данных [16]. Все олигонуклеотиды были синтезированы в АО «Вектор-Бест» (Новосибирск, Россия). Олигонуклеотиды были выбраны с помощью инструмента PrimerQuest (<https://eu.idtdna.com/> (дата обращения: 1 июня 2020 г.)). Значение E варьировалось в диапазоне 92.5–99.7 % в зависимости от используемой системы.

Обратная транскрипция. Для синтеза комплементарной ДНК (кДНК) обратную транскрипцию проводили в объеме 30 мкл. Реакционная смесь содержала 3 мкл образца РНК и буферный раствор для обратной транскрипции (ОТ) с праймером ОТ (АО «Вектор-Бест», Новосибирск, Россия). Концентрация общей РНК находилась в диапазоне 120–180 нг/мкл; оптическая плотность 260/280 и 260/230 составляла ≥ 1.9 и ≥ 1.5 соответственно. Реакционную смесь инкубировали при 16 °С в течение 15 мин, затем при 42 °С в течение 15 мин, после чего проводили тепловую инактивацию при 95 °С в течение 2 мин.

ПЦР в реальном времени. Экспрессию миРНК оценивали методом ПЦР в реальном времени с использованием системы детекции CFX96 (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, США). Общий объем каждой реакционной смеси составлял 30 мкл; реакционная смесь содержала 3 мкл кДНК, 1× ПЦР-буфер (АО «Вектор-Бест», Россия), 0.5 мкл каждого праймера и 0.25 мкл зонда с двойной меткой. Протокол ПЦР был следующим: инкубация при 50 °С в течение 2 мин, затем предварительная денатурация при 94 °С в течение 2 мин, затем 50 циклов денатурации (94 °С в течение 10 с), отжига и удлинения (60 °С в течение 20 с).

E value varied in the range of 92.5–99.7% depending on the system used.

Reverse transcription. For complementary DNA (cDNA) synthesis, reverse transcription was performed in a volume of 30 μ l. A reaction mixture contained 3 μ l of RNA sample and a buffer solution for reverse transcription (RT) with RT primer (Vector-Best, Novosibirsk, Russia). The concentration of total RNA was in the range of 120–180 ng/ μ l; the absorbance of 260/280 and 260/230 was ≥ 1.9 and ≥ 1.5 , respectively. The reaction mixture was incubated at 16°C for 15 min, then at 42°C for 15 min, finally, heat inactivation was performed at 95°C for 2 min.

Real-time PCR. The miRNA expression was detected by real-time PCR using a CFX96 detection system (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, USA). The total volume of each reaction mixture was 30 μ l; the reaction mixture contained 3 μ l cDNA, 1× PCR buffer (Vector-Best, Russia), 0.5 μ l of each primer, and 0.25 μ l of a double dye probe. The PCR protocol was as follows: incubation at 50°C for 2 min, then pre-denaturation at 94°C for 2 min, then 50 cycles of denaturation (94°C for 10 s), annealing, and extension (60°C for 20 s).

Statistical analysis. The analysis was performed using the Mann-Whitney *U*-test and Statistica v13.1 software. Values of *p* less than 0.05 were considered statistically significant. Diagnostic values were assessed using ROC analysis and IBM SPSS software.

RESULTS

Comparative analysis of miRNA expression levels between CTCL and benign samples. The comparative analysis of miRNA expression levels between CTCL and BS showed a statistically significant increase in the levels of miRNA-181a, -155, -574, -148b and miRNA-191 in tumor samples ($p < 0.05$) (Table 1). Below, we will consider miRNAs for which the median expression levels between CTCL and BS differ by more than 2 times.

To investigate the possibility of using miRNA-181a and miRNA-155 as new potential biomarkers for the differential diagnosis between CTCL and BS, we performed ROC analysis for two selected cohorts. Fig. 1 shows the ROC curves for miRNA-155 and miRNA-181a, and Table 2 presents the AUC, sensitivity, and specificity values of the studied biomarkers. The results indicate that miRNA-155 and miRNA-181a are highly sensitive and specific markers for the diagnosis of primary CTCL.

Analysis of the miRNA-mRNA interaction network. Next, we performed bioinformatic analy-

Статистический анализ. Анализ был выполнен с использованием *U*-критерия Манна – Уитни на программной платформе Statistica v13.1. Значения *p* менее 0.05 считались статистически значимыми. Диагностические значения были оценены с помощью ROC-анализа на программной платформе IBM SPSS.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Сравнительный анализ уровней экспрессии миРНК между образцами ТКЛК и ДО. Сравнительный анализ уровней экспрессии миРНК между образцами ТКЛК и ДО показал статистически значимое увеличение уровней миРНК-181a, -155, -574, -148b и миРНК-191 в опухолевых образцах ($p < 0.05$) (табл. 1). Далее мы будем рассматривать миРНК, для которых медианные значения уровней экспрессии между ТКЛК и ДО различаются более чем в 2 раза.

Для исследования возможности использования миРНК-181a и миРНК-155 в качестве новых потенциальных биомаркеров для дифференциальной диагностики ТКЛК и ДО мы провели ROC-анализ в двух выбранных когортах. На рис. 1 показаны ROC-кривые для миРНК-155 и миРНК-181a, а в табл. 2 представлены значения AUC, чувствительности и специфичности тестируемых биомаркеров. Результаты показывают, что миРНК-155 и миРНК-181a являются высокочувствительными и специфичными маркерами для диагностики первичной ТКЛК.

sis for the target genes of miRNA-155 and miRNA-181a, which were statistically significantly associated with the diagnosis of CTCL. The data on miRNA target genes involved in such biological pathways as Pathways in cancer, Cell cycle, Apoptosis and T cell receptor signaling were obtained from the Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) database. We identified a total of 85 experimentally confirmed targets using MirTarbase v9.0, of which 64 genes are involved in the regulation of cancer-associated pathways. It is significant that some of the target genes are controlled by both miRNAs. Thus, the genes *KRAS*, *CDKN1B*, *STAT3*, *PTEN*, *FOS*, *SMAD2*, *ETS1*, *CTNNB1* are regulated by both miRNA-155 and miRNA-181a. The obtained data are presented using the capabilities of the miRNet 2.0 resource (Fig. 2). MiRNet is a miRNA-centric network visual analytics platform (<https://www.mirnet.ca/miRNet/home.xhtml>).

DISCUSSION

The comparative analysis of miRNA expression levels between CTCL and benign samples showed a statistically significant increase in the levels of miRNA-181a, -155, -574, -148b and miRNA-191 in tumor samples ($p < 0.05$).

Blood cell division and maturation occur during an intensive and complex process known as hematopoiesis, which can be regulated by various mechanisms, including miRNAs [17]. Georgantas et al. showed that miRNA-17, -24, -146, -155, -128, and

Таблица 1. Сравнительный анализ уровней экспрессии миРНК между образцами Т-клеточной лимфомы кожи и доброкачественными образцами

Table 1. The comparative analysis of miRNA expression levels between cutaneous T cell lymphoma and benign samples

миРНК / miRNA	Различие уровней экспрессии Difference in expression levels	<i>p</i>
миРНК-181a / miRNA-181a	2.68	0.001129
миРНК-155 / miRNA-155	2.51	0.006716
миРНК-574 / miRNA-574	1.58	0.008916
миРНК-148b / miRNA-148b	1.38	0.024250
миРНК-191 / miRNA-191	1.36	0.004933
миРНК-26a / miRNA-26a	1.35	0.363042
миРНК-21 / miRNA-21	1.01	0.800618
миРНК-124 / miRNA-124	-1.43	0.129632
миРНК-221 / miRNA-221	1.01	0.587358
миРНК-200b / miRNA-200b	-1.78	0.079586
миРНК-20a / miRNA-20a	-1.13	0.363042
миРНК-92a / miRNA-92a	-1.13	0.971262
миРНК-145 / miRNA-145	1.05	0.587358
let-7a	1.33	0.150435
let-7d	1.27	0.325181

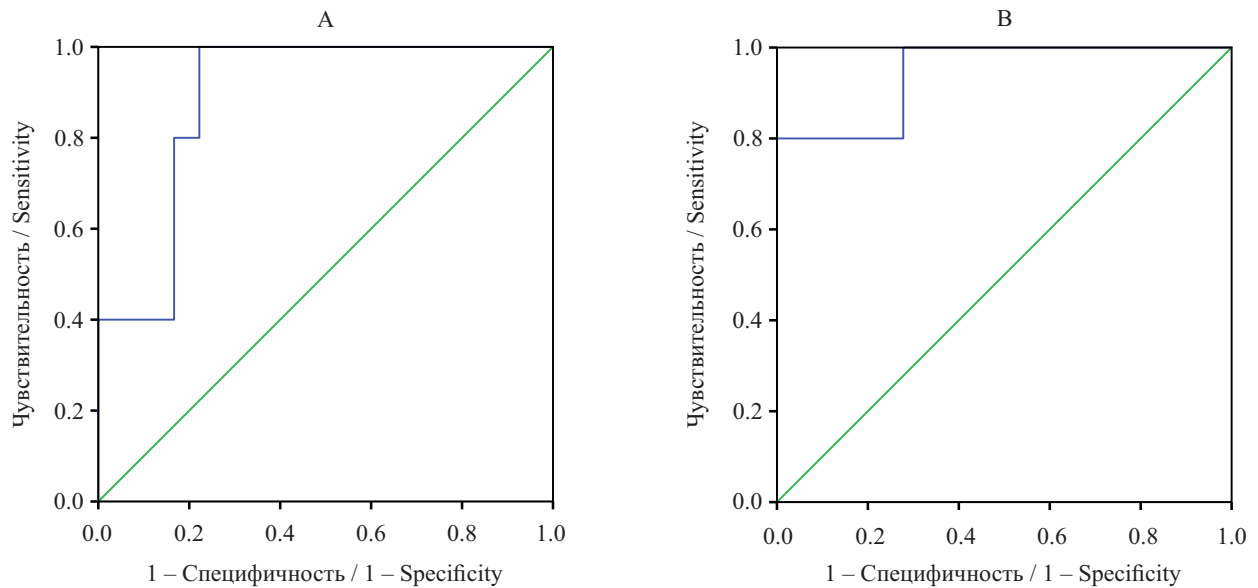


Рис. 1. ROC-кривые для миРНК-155 (А) и миРНК-181а (В) при дифференциальной диагностике между Т-клеточной лимфомой кожи и доброкачественными образцами
Fig. 1. ROC curves for miRNA-155 (A) and miRNA-181a (B) in the differential diagnosis between cutaneous T cell lymphoma and benign samples

Анализ сети взаимодействия миРНК – мРНК. Далее мы провели биоинформатический анализ целевых генов миРНК-155 и миРНК-181а, статистически значимо связанных с диагностикой ТКЛК. Из базы данных Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) получены данные о генах-мишенях миРНК, вовлеченных в такие биологические пути, как Pathways in cancer, Cell cycle, Apoptosis и T cell receptor signaling. Мы идентифицировали в общей сложности 85 экспериментально подтвержденных мишеней с помощью MirTarbase v9.0, из них 64 гена участвуют в регуляции путей, ассоциированных с раком. Стоит отметить, что часть генов-мишеней находится под контролем обеих миРНК. Так, гены *KRAS*, *CDKN1B*, *STAT3*, *PTEN*, *FOS*, *SMAD2*, *ETS1*, *CTNNB1* регулируются как миРНК-155, так и миРНК-181а. Полученные данные представлены с использованием возможностей ресурса miRNet 2.0 (рис. 2). MiRNet представляет собой платформу визуальной аналитики сети миРНК (<https://www.mirnet.ca/miRNet/home.xhtml>).

-181a orchestrate the differentiation of hematopoietic stem cells, noting the special role of miRNA-155 in the regulation of myelopoiesis and erythropoiesis [18]. Another authors reported that miR-181a regulates erythroid cell enucleation via the regulation of Xpo7 expression [19]. MiRNAs are regulators of normal hematopoiesis; therefore, their aberrant expression can contribute to the development of hematological malignancies [17].

In addition to the fact that miRNAs regulate erythropoiesis, megakaryopoiesis, and granulopoiesis, they are also important participants in the differentiation pathway of B and T lymphocytes [20]. Rodriguez et al. found that miRNA-155 plays a key role in lymphopoiesis and function of the immune system [21]. Seddiki et al. showed that miRNA-155 has a high level of expression in both B and T cells and is involved in the formation of the transcriptome of lymphoid cells and, in particular, in the differentiation of T cells [22]. Tan et al. found that miRNA-155, -181b, -15a, -16, -15b, -34a, -9, -30, let-7a, -125b, -217 and miRNA-185 modulate the

Таблица 2. Значения AUC, чувствительности и специфичности для миРНК-155 и миРНК-181а при дифференциальной диагностике между Т-клеточной лимфомой кожи и доброкачественными образцами
Table 2. AUC, sensitivity, and specificity values for miRNA-155 and miRNA-181a in the differential diagnosis between cutaneous T cell lymphoma and benign samples

миРНК / miRNA	AUC	Чувствительность / Sensitivity, %	Специфичность / Specificity, %
миРНК-155/miRNA-155	0.889	80	83
миРНК-181a/miRNA-181a	0.95	80	84

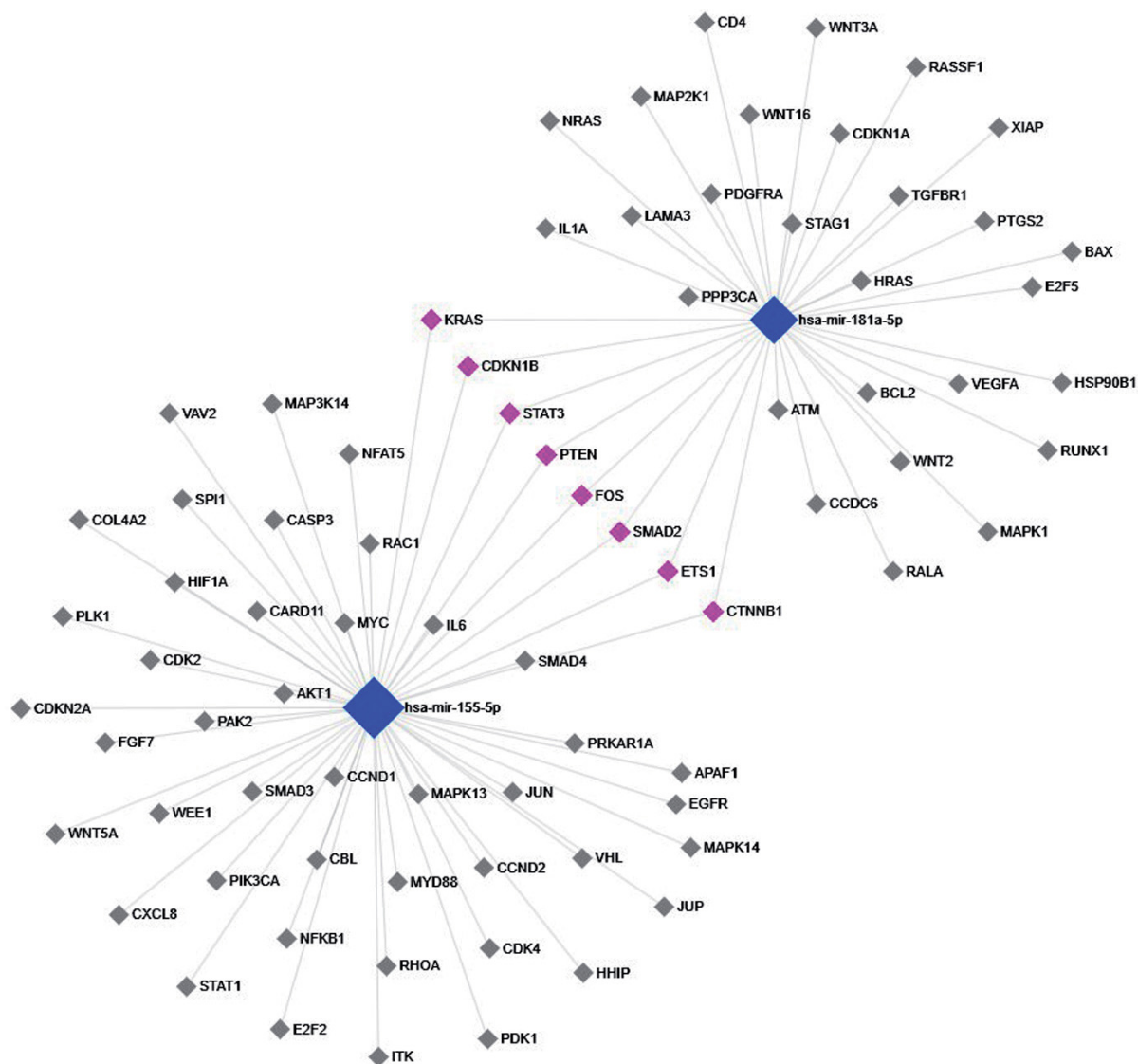


Рис. 2. Анализ генов-мишеней миРНК-155 и миРНК-181а с использованием miRnet 2.0.
Синие ромбы – миРНК, серые и фиолетовые ромбы – их гены-мишени

Fig. 2. The analysis of miRNA-155 and miRNA-181a target genes using miRnet 2.0.
Blue diamonds are miRNAs, gray and purple diamonds are their target genes

ОБСУЖДЕНИЕ

Сравнительный анализ уровней экспрессии миРНК между образцами ТКЛК и ДО показал статистически значимое увеличение уровней миРНК-181a, -155, -574, -148b и миРНК-191 в опухолевых образцах ($p < 0.05$).

Деление и созревание клеток крови происходят в ходе интенсивного и сложного процесса, известного как гемопоэз, который может регулироваться различными механизмами, включая миРНК [17]. R.W. Georgantas et al. показали, что миРНК-17, -24, -146, -155, -128 и -181a контролируют дифференцировку гемопоэтических стволовых клеток, отметив особую роль миРНК-155 в

expression of genes involved in B-cell maturation [23]. Grigoryev et al. identified 71 miRNAs differentially expressed during the immune response, in particular, 12 miRNAs with increased expression: miRNA-221, -210, -98, -29b, -155, -218, -455, -449, -548d, -222, -132, and -18a and miRNAs with decreased expression: miRNA-181a, -223, -224, -150, -146b, -126, -127, -376a, -100, -99a, -125b, and -26a in activated T lymphocytes [24]. Dynamic changes in miRNA production may be an important regulator of gene expression during T cell differentiation [25]. Li et al. described significant dynamics of miRNA-181a expression during T cell maturation [26]. The level of miRNA-155 expression is regu-

регуляции миелопоэза и эритропоэза [18]. В другом исследовании отмечено, что miR-181a регулирует энуклеацию эритроидных клеток посредством регуляции экспрессии Хро7 [19]. МиРНК являются регуляторами нормального кроветворения, следовательно, их aberrантная экспрессия может способствовать развитию гематологических опухолей [17].

Помимо того что миРНК регулируют эритропоэз, мегакариопоэз и гранулопоэз, они также являются важными участниками пути дифференцировки В- и Т-лимфоцитов [20]. A. Rodriguez et al. установили, что миРНК-155 играет ключевую роль в лимфопоэзе и функционировании иммунной системы [21]. N. Seddiki et al. показали, что миРНК-155 имеет высокий уровень экспрессии как в В-, так и Т-клетках и участвует в формировании транскриптома лимфоидных клеток и, в частности, в дифференцировке Т-клеток [22]. L.P. Tan et al. установили, что миРНК-155, -181b, -15a, -16, -15b, -34a, -9, -30, let-7a, -125b, -217 и миРНК-185 модулируют экспрессию генов, участвующих в созревании В-клеток [23]. V.A. Grigoryev et al. выявили 71 миРНК, дифференциально экспрессирующуюся при иммунном ответе, в частности, 12 миРНК с повышенной экспрессией: миРНК-221, -210, -98, -29b, -155, -218, -455, -449, -548d, -222, -132 и -18a и миРНК с пониженной экспрессией: миРНК-181a, -223, -224, -150, -146b, -126, -127, -376a, -100, -99a, -125b и -26a в активированных Т-лимфоцитах [24]. Динамические изменения в продукции миРНК могут быть важным регулятором экспрессии генов во время дифференцировки Т-клеток [25]. Q.J. Li et al. описали существенную динамику экспрессии миРНК-181a во время созревания Т-клеток [26]. Уровень миРНК-155 регулируется на различных стадиях дифференцировки Т-клеток [27]. В другом исследовании отмечается, что миРНК-181a участвует в развитии и активации Т-клеток и противовирусных Т-клеточных реакциях, а снижение экспрессии миРНК-181a в Т-лимфоцитах может способствовать возникновению возрастных дефектов адаптивного иммунитета [28]. МиРНК являются ключевыми регуляторами широкого спектра фундаментальных клеточных процессов [29]. При этом нарушение активации генов, участвующих в пролиферации клеток, дифференцировке или апоптозе, связано с возникновением и прогрессированием целого ряда опухолей. Таким образом, миРНК могут выполнять роль онкогенов или супрессоров опухолей, в зависимости от функции генов-мишеней, которые они регулируют [30].

lated at different stages of T cell differentiation [27]. Another authors showed that miRNA-181a is involved in the development and activation of T cells and antiviral T cell responses, and a decrease in miRNA-181a expression in T-lymphocytes can contribute to age-related defects in adaptive immunity [28]. MiRNAs are key regulators of a wide range of essential cellular processes [29]. Moreover, deactivation of genes involved in cell proliferation, differentiation, or apoptosis is associated with the occurrence and progression of a number of tumors. Thus, miRNAs can act as oncogenes or tumor suppressors, depending on the regulated function of the target genes [30].

We performed bioinformatic analysis and found that miRNA-155 and miRNA-181a regulate 64 target genes related with cancer-associated biological pathways, with 8 genes – *KRAS*, *CDKN1B*, *STAT3*, *PTEN*, *FOS*, *SMAD2*, *ETS1*, *CTNNB1* are regulated by both miRNAs. *PTEN* is one of the most frequently inactivated tumor suppressor genes, and changes in *PTEN* levels are observed in a wide range of human cancers, including hematological malignancies [31]. A decrease in *PTEN* levels was detected in T cell acute lymphoblastic leukemia, diffuse large B cell lymphoma, and mantle cell lymphoma [32]. The *ETS1* proto-oncogene is a transcription factor that is essential to the lymphoid cell development and functioning. Its role as both an oncogene and a suppressor is noted depending on the type of lymphoma, as well as the importance of a cellular landscape in the function of *ETS1* [33]. To date, the role of *STAT3* as a mediator of development, normal physiology, and pathology of many diseases, including cancer, has been well studied [34]. *STAT3* is an oncogenic driver in several types of B cell lymphoma and most T cell lymphomas [35]. Sommer et al. showed that *STAT3* is an oncogene and protects CTCL tumor cells from apoptosis [36]. In addition, *STAT3* can operate as an oncogene in CTCL by inhibiting the expression of miRNA-22, which is a tumor suppressor [37]. The development and progression of CTCL is based on a complex cascade of signaling pathways involving both miRNAs and their target genes, and changes in these signaling networks promote malignant proliferation and survival and migration of T cells, inflammation and suppression of immune regulation of malignant T cell clones, forming a special microenvironment in the affected skin areas, that stimulates disease progression [38, 39]. Further studies of miRNA-mRNA interactions will expand our knowledge of the pathogenesis of CTCL.

Мы провели биоинформатический анализ и выявили, что под контролем миРНК-155 и миРНК-181а находятся 64 гена-мишени, которые связаны с биологическими путями, ассоциированными с раком, при этом 8 генов – *KRAS*, *CDKN1B*, *STAT3*, *PTEN*, *FOS*, *SMAD2*, *ETS1*, *CTNNB1* находятся под контролем обеих миРНК. *PTEN* является одним из наиболее часто инактивируемых генов-супрессоров опухолей, и изменение уровней *PTEN* наблюдается в широком спектре видов рака у человека, включая гематологические патологии [31]. Снижение уровня *PTEN* отмечено при Т-клеточном остром лимфобластном лейкозе, диффузной В-крупноклеточной лимфоме, мантийноклеточной лимфоме [32]. Протоонкоген *ETS1* является фактором транскрипции, необходимым для развития и функционирования лимфоидных клеток. Отмечается его роль как онкогена, так и супрессора в зависимости от типа лимфом, указывается на важность клеточного контекста в функции *ETS1* [33]. На сегодняшний день хорошо изучена роль *STAT3* в качестве медиатора развития, нормальной физиологии и патологии многих заболеваний, включая рак [34]. *STAT3* является онкогенным драйвером в нескольких типах В-клеточной лимфомы и большинстве Т-клеточных лимфом [35]. V.H. Sommer et al. показали, что *STAT3* является онкогеном и защищает опухолевые клетки ТКЛК от апоптоза [36]. Кроме того, *STAT3* может выполнять свою роль онкогена при ТКЛК за счет подавления экспрессии миРНК-22, являющейся супрессором опухолей [37]. В основе развития и прогрессирования ТКЛК лежит сложный каскад сигнальных путей, включающих как миРНК, так и их гены-мишени, и изменения в этих сигнальных сетях способствуют злокачественной пролиферации и выживанию и миграции Т-клеток, воспалению и подавлению иммунной регуляции злокачественных клонов Т-клеток, создавая в зоне кожных поражений особую микросреду, которая стимулирует прогрессирование заболевания [38, 39]. Дальнейшие исследования взаимодействий миРНК – мРНК позволят расширить знания в области патогенеза ТКЛК.

На основе ROC-анализа мы показали, что миРНК-155 и миРНК-181а являются высокочувствительными и специфичными маркерами для диагностики ТКЛК.

На сегодняшний день не вызывает сомнения, что миРНК являются перспективными биомаркерами для раннего выявления и оценки прогноза В-клеточных неходжкинских злокачественных лимфом (В-НХЗЛ) [40]. Основной мас-

Based on ROC analysis, we showed that miRNA-155 and miRNA-181a are highly sensitive and specific markers for the diagnosis of CTCL.

There is currently no doubt, that miRNAs are promising biomarkers for the early diagnosis and assessing the B cell non-Hodgkin's lymphomas (B-NHL) prognosis [40]. The main data set obtained is based on the study of B-NHL, and papers focusing on the role of miRNAs as biomarkers of CTCL are significantly smaller.

Talaat et al. demonstrated that miRNA-93 is an additional diagnostic tool that will allow for early diagnosis of mycosis fungoides [41]. Sørensen et al. described differential expression of miRNA-155, -142, and miRNA-146b when comparing mycosis fungoides with psoriasis-related skin lesions [42]. Ralfkiaer et al. developed a score based on the analysis of miRNA-155, -203, and miRNA-205 expression levels with high specificity and sensitivity for differential diagnosis between CTCL and non-neoplastic skin diseases [16]. Shen et al. propose using a combination of miRNA-155, -200b, -203, -142 and miRNA-130b to verify CTCL and benign inflammatory dermatosis [43].

Drawing a parallel between the data published already and the miRNA spectrum in our study, we can conclude that we also observe a statistically significant increase in the expression of miRNA-155 ($p < 0.05$). At the same time, we did not find significant changes in the expression of miRNA-200b in the tumor substrate of T cell non-Hodgkin's lymphomas with primary skin lesions.

CONCLUSION

Generally, despite the search for prognostic markers in CTCL is a present-day and relevant task of molecular biology, the data obtained have not yet been integrated into routine clinical practice. To validate the data obtained, multicenter studies are needed, including large analysis set. The study of a great number of molecular biomarkers involved in the pathogenesis of CTCL will allow the development of a more advanced diagnostic system and personalization of cytoreductive therapy.

Funding. The research was supported by the grant of the Russian Science Foundation No. 24-25-20059 and the Ministry of Science and Innovation Policy of the Novosibirsk region (Agreement No. p-76).

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

сив полученных данных основан на исследовании В-НХЗЛ, и значительно меньше научных работ, направленных на изучение роли миРНК как биомаркеров ТКЛК.

I.M. Talaat et al. доказали, что миРНК-93 представляет собой дополнительный диагностический инструмент, который позволит проводить раннюю диагностику грибкового микоза [41]. S.T. Sørensen et al. отметили дифференциальную экспрессию миРНК-155, -142 и миРНК-146b при сравнении грибкового микоза с поражениями кожи при псориазе [42]. U. Ralfkiaer et al. разработали классификатор, основанный на анализе уровней экспрессии миРНК-155, -203 и миРНК-205, с высокой специфичностью и чувствительностью для дифференциальной диагностики между ТКЛК и неопухолевыми заболеваниями кожи [16]. X. Shen et al. предлагают использовать комбинацию миРНК-155, -200b, -203, -142 и миРНК-130b для верификации ТКЛК и доброкачественного воспалительного дерматоза [43].

Проводя параллель с уже опубликованными данными и спектром миРНК, проанализированным в настоящем исследовании, можно сделать вывод, что мы также наблюдаем статистически значимое увеличение уровня экспрессии миРНК-155 ($p < 0.05$). Вместе с тем нами не отмечено зна-

чимых изменений экспрессии миРНК-200b в опухолевом субстрате Т-клеточных неходжкинских лимфом с первичным поражением кожи.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В целом следует отметить, что, несмотря на то, что поиск прогностических маркеров при ТКЛК является современной и актуальной задачей молекулярной биологии, полученные данные до сих пор не интегрированы в рутинную клиническую практику. Для валидации полученных данных необходимы многоцентровые исследования, включающие большие выборки анализируемых образцов. Изучение большого количества молекулярных биомаркеров, участвующих в патогенезе ТКЛК, позволит создать более совершенную систему диагностики и персонализировать циторедуктивную терапию.

Финансирование. Работа выполнена при поддержке гранта Российского научного фонда № 24-25-20059 и Министерства науки и инновационной политики Новосибирской области по соглашению № р-76.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Dobos G., Pohrt A., Ram-Wolff C. et al. Epidemiology of cutaneous T-cell lymphomas: a systematic review and meta-analysis of 16,953 patients // *Cancers (Basel)*. 2020;12(10):2921. DOI: 10.3390/cancers12102921.
2. Hristov A.C., Tejasvi T., Wilcox R.A. Cutaneous T-cell lymphomas: 2023 update on diagnosis, risk-stratification, and management // *Am. J. Hematol.* 2023;98(1):193-209. DOI: 10.1002/ajh.26760.
3. Brunner P.M., Jonak C., Knobler R. Recent advances in understanding and managing cutaneous T-cell lymphomas // *F1000Res*. 2020;9(F1000 Faculty Rev):331. DOI: 10.12688/f1000research.21922.1.
4. Sokołowska-Wojdyło M., Olek-Hrab K., Ruckemann-Dziurdzińska K. Primary cutaneous lymphomas: diagnosis and treatment // *Postępy Dermatol. Alergol.* 2015;32(5):368-383. DOI: 10.5114/pdia.2015.54749.
5. Litvinov I.V., Tetzlaff M.T., Thibault P. et al. Gene expression analysis in Cutaneous T-Cell Lymphomas (CTCL) highlights disease heterogeneity and potential diagnostic and prognostic indicators // *Oncoimmunology*. 2017;6(5):e1306618. DOI: 10.1080/2162402X.2017.1306618.
6. Scott J., Lai C., Coltart G. et al. Coexistence of psoriasis and cutaneous T-cell lymphoma // *Clin. Exp. Dermatol.* 2023;48(10):1155-1159. DOI: 10.1093/ced/llad213.
7. Choi J., Goh G., Walradt T. et al. Genomic landscape of cutaneous T cell lymphoma // *Nat. Genet.* 2015;47(9):1011-1019. DOI: 10.1038/ng.3356.

REFERENCES

1. Dobos G., Pohrt A., Ram-Wolff C. et al. Epidemiology of cutaneous T-cell lymphomas: a systematic review and meta-analysis of 16,953 patients. *Cancers (Basel)*. 2020;12(10):2921. DOI: 10.3390/cancers12102921.
2. Hristov A.C., Tejasvi T., Wilcox R.A. Cutaneous T-cell lymphomas: 2023 update on diagnosis, risk-stratification, and management. *Am. J. Hematol.* 2023;98(1):193-209. DOI: 10.1002/ajh.26760.
3. Brunner P.M., Jonak C., Knobler R. Recent advances in understanding and managing cutaneous T-cell lymphomas. *F1000Res*. 2020;9(F1000 Faculty Rev):331. DOI: 10.12688/f1000research.21922.1.
4. Sokołowska-Wojdyło M., Olek-Hrab K., Ruckemann-Dziurdzińska K. Primary cutaneous lymphomas: diagnosis and treatment. *Postępy Dermatol. Alergol.* 2015;32(5):368-383. DOI: 10.5114/pdia.2015.54749.
5. Litvinov I.V., Tetzlaff M.T., Thibault P. et al. Gene expression analysis in Cutaneous T-Cell Lymphomas (CTCL) highlights disease heterogeneity and potential diagnostic and prognostic indicators. *Oncoimmunology*. 2017;6(5):e1306618. DOI: 10.1080/2162402X.2017.1306618.
6. Scott J., Lai C., Coltart G. et al. Coexistence of psoriasis and cutaneous T-cell lymphoma. *Clin. Exp. Dermatol.* 2023;48(10):1155-1159. DOI: 10.1093/ced/llad213.
7. Choi J., Goh G., Walradt T. et al. Genomic landscape of cutaneous T cell lymphoma. *Nat. Genet.* 2015;47(9):1011-1019. DOI: 10.1038/ng.3356.

8. Park J., Daniels J., Wartewig T. et al. Integrated genomic analyses of cutaneous T-cell lymphomas reveal the molecular bases for disease heterogeneity // *Blood*. 2021;138(14):1225-1236. DOI: 10.1182/blood.2020009655.
9. Zhang Y., Wang Y., Yu R. et al. Molecular markers of early-stage mycosis fungoides // *J. Invest. Dermatol.* 2012;132(6):1698-1706. DOI: 10.1038/jid.2012.13.
10. Nebozhyn M., Loboda A., Kari L. et al. Quantitative PCR on 5 genes reliably identifies CTCL patients with 5% to 99% circulating tumor cells with 90% accuracy // *Blood*. 2006;107(8):3189-3196. DOI: 10.1182/blood-2005-07-2813.
11. Rassek K., Iżykowska K., Żurawek M. et al. *TMEM244* gene expression as a potential blood diagnostic marker distinguishing Sézary syndrome from mycosis fungoides and benign erythroderma // *J. Invest. Dermatol.* 2023;143(2):344-347.e3. DOI: 10.1016/j.jid.2022.08.046.
12. Tensen C.P., Quint K.D., Vermeer M.H. Genetic and epigenetic insights into cutaneous T-cell lymphoma // *Blood*. 2022;139(1):15-33. DOI: 10.1182/blood.2019004256.
13. Zhang P., Zhang M. Epigenetics in the pathogenesis and treatment of cutaneous T-cell lymphoma // *Front. Oncol.* 2021;11:663961. DOI: 10.3389/fonc.2021.663961.
14. Ralfkiaer U., Lindahl L.M., Litman T. et al. MicroRNA expression in early mycosis fungoides is distinctly different from atopic dermatitis and advanced cutaneous T-cell lymphoma // *Anticancer Res.* 2014;34(12):7207-7217. Erratum in: *Anticancer Res.* 2015;35(2):1219.
15. Dusílková N., Bašová P., Polívka J. et al. Plasma miR-155, miR-203, and miR-205 are biomarkers for monitoring of primary cutaneous T-cell lymphomas // *Int. J. Mol. Sci.* 2017;18(10):2136. DOI: 10.3390/ijms18102136.
16. Ralfkiaer U., Hagedorn P.H., Bangsgaard N. et al. Diagnostic microRNA profiling in cutaneous T-cell lymphoma (CTCL) // *Blood*. 2011;118(22):5891-5900. DOI: 10.1182/blood-2011-06-358382.
17. Kotaki R., Koyama-Nasu R., Yamakawa N., Kotani A. miRNAs in normal and malignant hematopoiesis // *Int. J. Mol. Sci.* 2017;18(7):1495. DOI: 10.3390/ijms18071495.
18. Georgantas R.W. 3rd, Hildreth R., Morisot S. et al. CD34+ hematopoietic stem-progenitor cell microRNA expression and function: a circuit diagram of differentiation control // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2007;104(8):2750-2755. DOI: 10.1073/pnas.0610983104.
19. Figueroa A.A., Fasano J.D., Martinez-Morilla S. et al. miR-181a regulates erythroid enucleation via the regulation of Xpo7 expression // *Haematologica*. 2018;103(8):e341-e344. DOI: 10.3324/haematol.2017.171785.
20. Lazare S.S., Wojtowicz E.E., Bystrykh L.V., de Haan G. microRNAs in hematopoiesis // *Exp. Cell Res.* 2014;329(2):234-238. DOI: 10.1016/j.yexcr.2014.08.033.
21. Rodriguez A., Vigorito E., Clare S. et al. Requirement of bic/microRNA-155 for normal immune function // *Science*. 2007;316(5824):608-611. DOI: 10.1126/science.1139253.
22. Seddiki N., Brezar V., Ruffin N. et al. Role of miR-155 in the regulation of lymphocyte immune function and disease // *Immunology*. 2014;142(1):32-38. DOI: 10.1111/imm.12227.
8. Park J., Daniels J., Wartewig T. et al. Integrated genomic analyses of cutaneous T-cell lymphomas reveal the molecular bases for disease heterogeneity. *Blood*. 2021;138(14):1225-1236. DOI: 10.1182/blood.2020009655.
9. Zhang Y., Wang Y., Yu R. et al. Molecular markers of early-stage mycosis fungoides. *J. Invest. Dermatol.* 2012;132(6):1698-1706. DOI: 10.1038/jid.2012.13.
10. Nebozhyn M., Loboda A., Kari L. et al. Quantitative PCR on 5 genes reliably identifies CTCL patients with 5% to 99% circulating tumor cells with 90% accuracy. *Blood*. 2006;107(8):3189-3196. DOI: 10.1182/blood-2005-07-2813.
11. Rassek K., Iżykowska K., Żurawek M. et al. *TMEM244* gene expression as a potential blood diagnostic marker distinguishing Sézary syndrome from mycosis fungoides and benign erythroderma. *J. Invest. Dermatol.* 2023;143(2):344-347.e3. DOI: 10.1016/j.jid.2022.08.046.
12. Tensen C.P., Quint K.D., Vermeer M.H. Genetic and epigenetic insights into cutaneous T-cell lymphoma. *Blood*. 2022;139(1):15-33. DOI: 10.1182/blood.2019004256.
13. Zhang P., Zhang M. Epigenetics in the pathogenesis and treatment of cutaneous T-cell lymphoma. *Front. Oncol.* 2021;11:663961. DOI: 10.3389/fonc.2021.663961.
14. Ralfkiaer U., Lindahl L.M., Litman T. et al. MicroRNA expression in early mycosis fungoides is distinctly different from atopic dermatitis and advanced cutaneous T-cell lymphoma. *Anticancer Res.* 2014;34(12):7207-7217. Erratum in: *Anticancer Res.* 2015;35(2):1219.
15. Dusílková N., Bašová P., Polívka J. et al. Plasma miR-155, miR-203, and miR-205 are biomarkers for monitoring of primary cutaneous T-cell lymphomas. *Int. J. Mol. Sci.* 2017;18(10):2136. DOI: 10.3390/ijms18102136.
16. Ralfkiaer U., Hagedorn P.H., Bangsgaard N. et al. Diagnostic microRNA profiling in cutaneous T-cell lymphoma (CTCL). *Blood*. 2011;118(22):5891-5900. DOI: 10.1182/blood-2011-06-358382.
17. Kotaki R., Koyama-Nasu R., Yamakawa N., Kotani A. miRNAs in normal and malignant hematopoiesis. *Int. J. Mol. Sci.* 2017;18(7):1495. DOI: 10.3390/ijms18071495.
18. Georgantas R.W. 3rd, Hildreth R., Morisot S. et al. CD34+ hematopoietic stem-progenitor cell microRNA expression and function: a circuit diagram of differentiation control. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2007;104(8):2750-2755. DOI: 10.1073/pnas.0610983104.
19. Figueroa A.A., Fasano J.D., Martinez-Morilla S. et al. miR-181a regulates erythroid enucleation via the regulation of Xpo7 expression. *Haematologica*. 2018;103(8):e341-e344. DOI: 10.3324/haematol.2017.171785.
20. Lazare S.S., Wojtowicz E.E., Bystrykh L.V., de Haan G. microRNAs in hematopoiesis. *Exp. Cell Res.* 2014;329(2):234-238. DOI: 10.1016/j.yexcr.2014.08.033.
21. Rodriguez A., Vigorito E., Clare S. et al. Requirement of bic/microRNA-155 for normal immune function. *Science*. 2007;316(5824):608-611. DOI: 10.1126/science.1139253.

23. Tan L.P., Wang M., Robertus J.L. et al. miRNA profiling of B-cell subsets: specific miRNA profile for germinal center B cells with variation between centroblasts and centrocytes // *Lab. Invest.* 2009;89(6):708-716. DOI: 10.1038/labinvest.2009.26.
24. Grigoryev Y.A., Kurian S.M., Hart T. et al. MicroRNA regulation of molecular networks mapped by global microRNA, mRNA, and protein expression in activated T lymphocytes // *J. Immunol.* 2011;187(5):2233-2243. DOI: 10.4049/jimmunol.1101233.
25. Wu H., Neilson J.R., Kumar P. miRNA profiling of naïve, effector and memory CD8 T cells // *PLoS One.* 2007;2(10):e1020. DOI: 10.1371/journal.pone.0001020.
26. Li Q.J., Chau J., Ebert P.J. et al. miR-181a is an intrinsic modulator of T cell sensitivity and selection // *Cell.* 2007;129(1):147-161. DOI: 10.1016/j.cell.2007.03.008.
27. Dudda J.C., Salaun B., Ji Y. et al. MicroRNA-155 is required for effector CD8+ T cell responses to virus infection and cancer // *Immunity.* 2013;38(4):742-753. DOI: 10.1016/j.immuni.2012.12.006.
28. Kim C., Ye Z., Weyand C.M., Goronzy J.J. miR-181a-regulated pathways in T-cell differentiation and aging // *Immun. Ageing.* 2021;18(1):28. DOI: 10.1186/s12979-021-00240-1.
29. Ben-Hamo R., Efroni S. MicroRNA regulation of molecular pathways as a generic mechanism and as a core disease phenotype // *Oncotarget.* 2015;6(3):1594-1604. DOI: 10.18632/oncotarget.2734.
30. Macfarlane L.A., Murphy P.R. MicroRNA: biogenesis, function and role in cancer // *Curr. Genomics.* 2010;11(7):537-561. DOI: 10.2174/138920210793175895.
31. Luongo F., Colonna F., Calapà F. et al. PTEN tumor-suppressor: the dam of stemness in cancer // *Cancers (Basel).* 2019;11(8):1076. DOI: 10.3390/cancers11081076.
32. Wang X., Huang H., Young K.H. The PTEN tumor suppressor gene and its role in lymphoma pathogenesis // *Aging (Albany NY).* 2015;7(12):1032-1049. DOI: 10.18632/aging.100855.
33. Luchtel R.A. ETS1 function in leukemia and lymphoma // *Adv. Exp. Med. Biol.* 2024;1459:359-378. DOI: 10.1007/978-3-031-62731-6_16.
34. Carpenter R.L., Lo H.W. STAT3 target genes relevant to human cancers // *Cancers (Basel).* 2014;6(2):897-925. DOI: 10.3390/cancers6020897.
35. Zhu F., Wang K.B., Rui L. STAT3 activation and oncogenesis in lymphoma // *Cancers (Basel).* 2019;12(1):19. DOI: 10.3390/cancers12010019.
36. Sommer V.H., Clemmensen O.J., Nielsen O. et al. *In vivo* activation of STAT3 in cutaneous T-cell lymphoma. Evidence for an antiapoptotic function of STAT3 // *Leukemia.* 2004;18(7):1288-1295. DOI: 10.1038/sj.leu.2403385.
37. Sibbesen N.A., Kopp K.L., Litvinov I.V. et al. Jak3, STAT3, and STAT5 inhibit expression of miR-22, a novel tumor suppressor microRNA, in cutaneous T-Cell lymphoma // *Oncotarget.* 2015;6(24):20555-20569. DOI: 10.18632/oncotarget.4111.
38. Rendón-Serna N., Correa-Londoño L.A., Velásquez-Lopera M.M., Bermudez-Muñoz M. Cell signaling in cutaneous T-cell lymphoma microenvironment: promising targets for molecular-specific treatment // *Int. J. Dermatol.* 2021;60(12):1462-1480. DOI: 10.1111/ijd.15451.
39. Sun Z., Yao X., Ding X. et al. MicroRNAs and their signaling pathway in mycosis fungoides // *Medicine*
22. Seddiki N., Brezar V., Ruffin N. et al. Role of miR-155 in the regulation of lymphocyte immune function and disease. *Immunology.* 2014;142(1):32-38. DOI: 10.1111/imm.12227.
23. Tan L.P., Wang M., Robertus J.L. et al. miRNA profiling of B-cell subsets: specific miRNA profile for germinal center B cells with variation between centroblasts and centrocytes. *Lab. Invest.* 2009;89(6):708-716. DOI: 10.1038/labinvest.2009.26.
24. Grigoryev Y.A., Kurian S.M., Hart T. et al. MicroRNA regulation of molecular networks mapped by global microRNA, mRNA, and protein expression in activated T lymphocytes. *J. Immunol.* 2011;187(5):2233-2243. DOI: 10.4049/jimmunol.1101233.
25. Wu H., Neilson J.R., Kumar P. miRNA profiling of naïve, effector and memory CD8 T cells. *PLoS One.* 2007;2(10):e1020. DOI: 10.1371/journal.pone.0001020.
26. Li Q.J., Chau J., Ebert P.J. et al. miR-181a is an intrinsic modulator of T cell sensitivity and selection. *Cell.* 2007;129(1):147-161. DOI: 10.1016/j.cell.2007.03.008.
27. Dudda J.C., Salaun B., Ji Y. et al. MicroRNA-155 is required for effector CD8+ T cell responses to virus infection and cancer. *Immunity.* 2013;38(4):742-753. DOI: 10.1016/j.immuni.2012.12.006.
28. Kim C., Ye Z., Weyand C.M., Goronzy J.J. miR-181a-regulated pathways in T-cell differentiation and aging. *Immun. Ageing.* 2021;18(1):28. DOI: 10.1186/s12979-021-00240-1.
29. Ben-Hamo R., Efroni S. MicroRNA regulation of molecular pathways as a generic mechanism and as a core disease phenotype. *Oncotarget.* 2015;6(3):1594-1604. DOI: 10.18632/oncotarget.2734.
30. Macfarlane L.A., Murphy P.R. MicroRNA: biogenesis, function and role in cancer. *Curr. Genomics.* 2010;11(7):537-561. DOI: 10.2174/138920210793175895.
31. Luongo F., Colonna F., Calapà F. et al. PTEN tumor-suppressor: the dam of stemness in cancer. *Cancers (Basel).* 2019;11(8):1076. DOI: 10.3390/cancers11081076.
32. Wang X., Huang H., Young K.H. The PTEN tumor suppressor gene and its role in lymphoma pathogenesis. *Aging (Albany NY).* 2015;7(12):1032-1049. DOI: 10.18632/aging.100855.
33. Luchtel R.A. ETS1 function in leukemia and lymphoma. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2024;1459:359-378. DOI: 10.1007/978-3-031-62731-6_16.
34. Carpenter R.L., Lo H.W. STAT3 target genes relevant to human cancers. *Cancers (Basel).* 2014;6(2):897-925. DOI: 10.3390/cancers6020897.
35. Zhu F., Wang K.B., Rui L. STAT3 activation and oncogenesis in lymphoma. *Cancers (Basel).* 2019;12(1):19. DOI: 10.3390/cancers12010019.
36. Sommer V.H., Clemmensen O.J., Nielsen O. et al. *In vivo* activation of STAT3 in cutaneous T-cell lymphoma. Evidence for an antiapoptotic function of STAT3. *Leukemia.* 2004;18(7):1288-1295. DOI: 10.1038/sj.leu.2403385.
37. Sibbesen N.A., Kopp K.L., Litvinov I.V. et al. Jak3, STAT3, and STAT5 inhibit expression of miR-22, a novel tumor suppressor microRNA, in cutaneous T-Cell lymphoma. *Oncotarget.* 2015;6(24):20555-20569. DOI: 10.18632/oncotarget.4111.

- (Baltimore). 2022;101(25):e29248. DOI: 10.1097/MD.00000000000029248.
40. Solé C., Arnaiz E., Lawrie C.H. MicroRNAs as biomarkers of B-cell lymphoma // *Biomark. Insights*. 2018;13:1177271918806840. DOI: 10.1177/1177271918806840.
 41. Talaat I.M., Abdelmaksoud R.E., Guimei M. et al. Potential role for microRNA-16 (miR-16) and microRNA-93 (miR-93) in diagnosis and prediction of disease progression in mycosis fungoides in Egyptian patients // *PLoS One*. 2019;14(10):e0224305. DOI: 10.1371/journal.pone.0224305.
 42. Sørensen S.T., Litman T., Glud M. et al. miRNA signature in early-stage mycosis fungoides // *Acta Derm. Venereol*. 2022;102:adv00785. DOI: 10.2340/actadv.v102.628.
 43. Shen X., Wang B., Li K. et al. MicroRNA signatures in diagnosis and prognosis of cutaneous T-cell lymphoma // *J. Invest. Dermatol*. 2018;138(9):2024-2032. DOI: 10.1016/j.jid.2018.03.1500.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Веряскина Юлия Андреевна – канд. биол. наук, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики ФГБУН «Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН», Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0002-3799-9407.

Ковынев Игорь Борисович – д-р мед. наук, доцент кафедры терапии, гематологии и трансфузиологии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия.

Пахомова Вера Владимировна – заместитель главного врача по медицинской части, врач-дерматовенеролог ГБУЗ НСО «Новосибирский областной клинический кожно-венерологический диспансер», Новосибирск, Россия.

Титов Сергей Евгеньевич – канд. биол. наук, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики ФГБУН «Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН»; старший научный сотрудник АО «Вектор-Бест», Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0001-9401-5737.

Войтко Мария Сергеевна – канд. мед. наук, ассистент кафедры терапии, гематологии и трансфузиологии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Новосибирск, Россия.

Цигулёв Константин Сергеевич – студент 6-го курса ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия.

Онипченко Вера Викторовна – главный внештатный специалист по дерматовенерологии и косметологии Новосибирской области, главный врач ГБУЗ НСО «Новосибирский областной клинический кожно-венерологический диспансер», Новосибирск, Россия.

38. Rendón-Serna N., Correa-Londoño L.A., Velásquez-Lopera M.M., Bermudez-Muñoz M. Cell signaling in cutaneous T-cell lymphoma microenvironment: promising targets for molecular-specific treatment. *Int. J. Dermatol*. 2021;60(12):1462-1480. DOI: 10.1111/ijd.15451.
39. Sun Z., Yao X., Ding X. et al. MicroRNAs and their signaling pathway in mycosis fungoides. *Medicine (Baltimore)*. 2022;101(25):e29248. DOI: 10.1097/MD.00000000000029248.
40. Solé C., Arnaiz E., Lawrie C.H. MicroRNAs as biomarkers of B-cell lymphoma. *Biomark. Insights*. 2018;13:1177271918806840. DOI: 10.1177/1177271918806840.
41. Talaat I.M., Abdelmaksoud R.E., Guimei M. et al. Potential role for microRNA-16 (miR-16) and microRNA-93 (miR-93) in diagnosis and prediction of disease progression in mycosis fungoides in Egyptian patients. *PLoS One*. 2019;14(10):e0224305. DOI: 10.1371/journal.pone.0224305.
42. Sørensen S.T., Litman T., Glud M. et al. miRNA signature in early-stage mycosis fungoides. *Acta Derm. Venereol*. 2022;102:adv00785. DOI: 10.2340/actadv.v102.628.
43. Shen X., Wang B., Li K. et al. MicroRNA signatures in diagnosis and prognosis of cutaneous T-cell lymphoma. *J. Invest. Dermatol*. 2018;138(9):2024-2032. DOI: 10.1016/j.jid.2018.03.1500.

ABOUT THE AUTHORS

Yulia A. Veryaskina – Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Laboratory of Molecular Genetics, Institute of Molecular and Cellular Biology, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0002-3799-9407.

Igor B. Kovynev – Dr. Sci. (Med.), Associate Professor, Department of Therapy, Hematology and Transfusiology, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia.

Vera V. Pakhomova – Deputy Chief Physician for Medical Affairs, Dermatovenereologist, Novosibirsk Regional Clinical Skin and Venereal Diseases Dispensary, Novosibirsk, Russia.

Sergey E. Titov – Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Laboratory of Molecular Genetics, Institute of Molecular and Cellular Biology, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences; Senior Researcher, Vector-Best, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0001-9401-5737.

Maria S. Voitko – Cand. Sci. (Med.), Assistant Professor, Department of Therapy, Hematology and Transfusiology, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia.

Konstantin S. Tsigulev – 6-year Student, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia.

Vera V. Onipchenko – Chief Non-staff Specialist on Dermatovenereology and Cosmetology of the Novosibirsk Region, Chief Physician, Novosibirsk Regional Clinical Skin and Venereal Diseases Dispensary, Novosibirsk, Russia.

Клинико-морфологические особенности эндометрия при бесплодии у женщин, направляемых на ЭКО

А.В. Волчек^{1, 2}, К.Ю. Макаров¹, В.М. Кулешов¹, С.В. Айдагулова¹, И.О. Маринкин¹

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

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

АННОТАЦИЯ

В в е д е н и е . Бесплодие у женщин остается трудно разрешимой социальной и медицинской проблемой, особенно в случае диагноза «хронический эндометрит» с вариантом тонкого эндометрия.

Ц е л ь . Изучить клинико-морфологические особенности эндометрия при бесплодии у женщин, направляемых на экстракорпоральное оплодотворение (ЭКО).

М а т е р и а л ы и м е т о д ы . Изучены клинические данные и результаты иммуногистохимического исследования эндометрия у 181 направленной на ЭКО и родоразрешенной женщины в возрасте 30 [22; 38] лет. Причинами нарушения репродуктивной функции были «тонкий эндометрий» (1-я группа – 64 пациентки); непроходимость маточных труб (2-я группа – 55 женщин) и мужской фактор бесплодия (3-я группа – 62 случая). Обследование пациенток включало в себя ультразвуковое исследование. В пайпель-биоптатах эндометрия перед процедурой ЭКО оценивали количество пиноподий в эпителии, изучали экспрессию HLA-DR и эстрогеновых (ER) и прогестероновых (PR) рецепторов с помощью иммуногистохимии. Применяли методы непараметрической статистики.

Р е з у л ь т а т ы . У женщин с бесплодием, направленных на ЭКО, в секреторную фазу цикла выявлен низкий процент пиноподий эпителия в эндометрии. Самые низкие показатели экспрессии HLA-DR, ER и PR рецепторов – в эндометрии пациенток с непроходимостью маточных труб. При этом у пациенток с тонким эндометрием – сравнительно высокие показатели экспрессии ER и PR в эпителии. Экспрессия ER и PR в стромальных клетках эндометрия не имела статистически значимых различий при парных сравнениях.

З а к л ю ч е н и е . У пациенток с тонким эндометрием формирование пиноподий имеет высокую диагностическую значимость для рецептивного статуса, подтвержденного ERA-тестом, и не имеет зависимости от экспрессии PR рецепторов в эпителии и строме.

Ключевые слова: бесплодие у женщин, тонкий эндометрий, пиноподии, экстракорпоральное оплодотворение, прогестероновые рецепторы, иммуногистохимия.

Образец цитирования: Волчек А.В., Макаров К.Ю., Кулешов В.М., Айдагулова С.В., Маринкин И.О. Клинико-морфологические особенности эндометрия при бесплодии у женщин, направляемых на ЭКО // Journal of Siberian Medical Sciences. 2024;8(4):130-142. DOI: 10.31549/2542-1174-2024-8-4-130-142

Clinical and morphological features of the endometrium in infertility in women referred for IVF

A.V. Volchek^{1, 2}, K.Yu. Makarov¹, V.M. Kuleshov¹, S.V. Aidagulova¹, I.O. Marinkin¹

¹Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia

²State Novosibirsk Regional Clinical Hospital, Novosibirsk, Russia

ABSTRACT

I n t r o d u c t i o n . Infertility in women is being a difficult social and medical problem for resolving, especially in the case of a chronic endometritis diagnosis with a variant of so called “thin” endometrium.

Поступила в редакцию 01.11.2024
Прошла рецензирование 27.11.2024
Принята к публикации 05.12.2024

Автор, ответственный за переписку
Айдагулова Светлана Владимировна: ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России. 630091, г. Новосибирск, Красный просп., 52.
E-mail: asvetvlad@yandex.ru

Received 01.11.2024
Revised 27.11.2024
Accepted 05.12.2024

Corresponding author
Svetlana V. Aidagulova: Novosibirsk State Medical University, 52, Krasnyy prosp., Novosibirsk, 630091, Russia.
E-mail: asvetvlad@yandex.ru

A i m . To study the clinical and morphological features of the endometrium in infertility in women referred for *in vitro* fertilization (IVF).

M a t e r i a l s a n d m e t h o d s . The clinical data and results of immunohistochemical examination of the endometrium were studied in 181 women aged 30 [22; 38] years who were referred for IVF and gave birth. The causes of reproductive dysfunction were thin endometrium (group 1, 64 patients), fallopian tube obstruction (group 2, 55 women) and male factor infertility (group 3, 62 cases). The examination of patients included ultrasound imaging. In Pipelle biopsies of the endometrium before the IVF procedure, the number of pinopodia in the epithelium was assessed, the expression of HLA-DR and estrogen and progesterone receptors (ERs and PRs, respectively) was measured using immunohistochemistry. Nonparametric statistical tests were used.

R e s u l t s . In women with infertility referred for IVF, a low percentage of endometrial pinopodia in the epithelium was detected in the secretory phase of the cycle. The lowest expression rates of HLA-DR, ERs and PRs were found in the endometrium of patients with tubal obstruction. At the same time, patients with thin endometrium had relatively high expression rates of ERs and PRs in the epithelium. The expression of ERs and PRs in endometrial stromal cells did not have statistically significant differences in pairwise comparisons.

C o n c l u s i o n . In patients with thin endometrium, the formation of pinopodia has a high diagnostic significance for the receptive status confirmed by the ERA test, and does not depend on the PRs expression in the epithelium and stroma.

Keywords: female infertility, thin endometrium, pinopodia, *in vitro* fertilization, progesterone receptors, immunohistochemistry.

Citation example: Volchek A.V., Makarov K.Yu., Kuleshov V.M., Aidagulova S.V., Marinkin I.O. Clinical and morphological features of the endometrium in infertility in women referred for IVF. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2024;8(4):130-142. DOI: 10.31549/2542-1174-2024-8-4-130-142

ВВЕДЕНИЕ

Достижение более высоких показателей рождаемости на этапе имплантации эмбриона человека постоянно находится в центре внимания врачей-репродуктологов в центрах вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ). При использовании ВРТ частота успешной имплантации относительно количества переносов эмбрионов составляет приблизительно 30 %; при этом частота рецидивирующей неэффективности имплантации, т.е. три или более неудачных переноса у женщин, прошедших экстракорпоральное оплодотворение (ЭКО), достигает 10 % [1].

В большинстве случаев первичное бесплодие, идиопатические выкидыши при привычном невынашивании беременности (ПНБ), как и неудачи имплантации при ЭКО, ассоциированы с нарушением секреторной трансформации эндометрия, обусловленной недостаточностью лютеиновой фазы овариально-маточного цикла с неадекватностью реакции на прогестерон. Слабую рецепторную чувствительность эндометрия связывают с воспалительными и/или аутоиммунными нарушениями, в том числе из-за широкой распространенности возбудителей хронических инфекций и бесконтрольного использования антимикробных препаратов [2, 3].

Одной из существенных неблагоприятных причин бесплодия у женщин считается тонкий эндометрий [4], ассоциированный с более низ-

INTRODUCTION

Achieving higher fertility rates during human embryo implantation is a constant focus of reproductive physicians in assisted reproductive technology (ART) centers. When using ART, the rate of successful implantation relative to the number of embryo transfers is approximately 30%; however, the rate of recurrent implantation failure, i.e. three or more unsuccessful transfers in women who have undergone *in vitro* fertilization (IVF), reaches 10% [1].

In most cases, primary infertility, idiopathic miscarriages in recurrent pregnancy loss (RPL), as well as implantation failures in IVF, are associated with impaired secretory transformation of the endometrium caused by luteal phase insufficiency with non-specific response to progesterone. A low sensitivity of the endometrial receptors is associated with inflammatory and/or autoimmune disorders, including due to the widespread prevalence of pathogens of chronic infections and non-rational use of antimicrobial drugs [2, 3].

One of the significant unfavorable causes of infertility in women is considered to be so called "thin" endometrium [4] associated with lower birth rates followed by planned pregnancy which is largely due to implantation failure. The formation of thin endometrium is considered as an outcome of chronic endometritis with or without an autoimmune component [5, 6] or is regarded as a primarily degenerative process, i.e. endometriopathy with insufficient

кими показателями реализации планируемой беременности, что в значительной степени связано с неудачей имплантации. Формирование тонкого эндометрия интерпретируют как исход хронического эндометрита с наличием или отсутствием аутоиммунной компоненты [5, 6] либо расценивают как первично дистрофический процесс, т.е. эндометриопатия с недостаточной секреторной трансформацией эндометрия, не соответствующей нормальным циклическим изменениям, необходимым для имплантации бластоцисты и вынашивания беременности [7, 8]. У пациенток с тонким эндометрием в аркуатной артерии матки обнаружено замедление кровотока, и лечение витамином Е, L-аргинином и цитратом силденафила, которые увеличивают кровоток в аркуатной артерии матки, способствовало утолщению эндометрия [9]. Однако в большинстве случаев реабилитация тонкого эндометрия требует больших усилий в связи с торпидностью фенотипа даже при терапии эстрогенами и воздействии низкими дозами аспирина [10].

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучить клинко-морфологические особенности эндометрия при бесплодии у женщин, направляемых на ЭКО.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведено ретроспективное когортное исследование в рамках проспективного исследования, изучены клинко-инструментальные показатели и результаты иммуногистохимического исследования эндометрия у 181 направленной на ЭКО и родоразрешенной женщины в возрасте 30 [22; 38] лет в стационарах ГБУЗ НСО «Государственная Новосибирская областная клиническая больница» и ГБУЗ НСО «Новосибирский городской клинический перинатальный центр», являющихся клиническими базами кафедры акушерства и гинекологии Новосибирского государственного медицинского университета. Критерии включения в исследование: успешно родоразрешенные женщины в результате беременности, наступившей с помощью ЭКО собственными ооцитами, и информированное согласие на участие в исследовании. Критерии исключения: пациентки с глубоким инфильтративным эндометриозом, онкологическими заболеваниями, ВИЧ-инфекцией, системными заболеваниями, являющимися противопоказаниями к ВРТ.

Причинами бесплодия и направления на ЭКО были нарушения рецептивности эндометрия при хроническом эндометрите с вариантом

secretory transformation of the endometrium that does not correspond to the normal cyclic changes necessary for blastocyst implantation and pregnancy [7, 8]. In patients with thin endometrium, a low blood flow was found in the arcuate artery of the uterus, and treatment with vitamin E, L-arginine and sildenafil citrate, which increase blood flow in the arcuate artery of the uterus, contributed to thickening of the endometrium [9]. However, in most cases, recovery of thin endometrium requires great efforts due to the torpidity of the phenotype even with estrogen therapy and administration of low doses of aspirin [10].

AIM OF THE RESEARCH

To study the clinical and morphological features of the endometrium in infertility in women referred for IVF.

MATERIALS AND METHODS

A retrospective cohort study within the framework of a prospective investigation was performed. Results of clinical investigation and immunohistochemical examination of the endometrium in 181 women aged 30 [22; 38] years referred for IVF and delivered in the Novosibirsk Regional Clinical Hospital and the Novosibirsk City Clinical Perinatal Center, which are clinical bases of the Department of Obstetrics and Gynecology of the Novosibirsk State Medical University, were studied. Inclusion criteria were: women who had successful delivery as a result of pregnancy achieved through IVF with their own oocytes, and informed consent to participate in the study. Exclusion criteria are: deep infiltrating endometriosis, malignant diseases, HIV infection, systemic diseases that are contraindications to ART.

The causes of infertility and reasons for referral to IVF were disorders of endometrial receptivity in chronic endometritis, a variant of thin endometrium (group 1, 64 female patients); tubal obstruction (group 2, 55 female patients) and male infertility factor (group 3, 62 female patients). Endometrial thickness was measured using ultrasound, and the number of pinopodia in the epithelium (expressed as persents) was assessed in Pipelle biopsies taken in the secretory phase of the cycle before an IVF procedure at a 400-fold magnification. The expression of HLA-DR (inflammatory cell activation marker) and estrogen (ERs) and progesterone (PRs) receptors was measured using immunohistochemistry (IHC) and presented in points. In addition, the native endometrial samples from 13 patients from group 1 were examined at the Igenomix laboratory (Spain) which holds a patent for the development of a specific

«тонкого эндометрия» (1-я группа – 64 пациентки); непроходимость маточных труб (2-я группа – 55 женщин) и мужской фактор бесплодия (3-я группа – 62 случая). С помощью УЗИ измеряли толщину эндометрия, а в пайпель-биоптатах, взятых в секреторную фазу цикла перед процедурой ЭКО, при увеличении в 400 раз оценивали количество пиноподий эпителиоцитов (выражали в процентах), а также с помощью иммуногистохимии (ИГХ) изучали экспрессию HLA-DR (маркер активации клеток воспаления) и эстрогеновых (ER) и прогестероновых (PR) рецепторов, которую выражали в баллах. Кроме того, у 13 пациенток 1-й группы нативные образцы эндометрия были исследованы в лаборатории Igenomix (Испания), обладающей патентом на разработку специфического микрочипа на основе профиля экспрессии более 50 генов (Endometrial Receptivity Array, или ERA), который позволяет оценить «восприимчивое состояние эндометрия человека» (т.е. рецептивность эндометрия) для диагностических и терапевтических целей [11].

Обследование и наблюдение пациенток проводили с их письменного информированного согласия в соответствии с законодательством Российской Федерации и этическими принципами проведения медицинских исследований, изложенными в Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации. Исследование одобрено этическим комитетом Новосибирского государственного медицинского университета (протокол № 111 от 29.11.2018).

Для статистической обработки сведения о пациентках, включая паспортную часть, клинические характеристики и результаты инструментальных и лабораторных исследований о течении основного заболевания и сопутствующей патологии, были закодированы и введены в базу данных, созданную с помощью программы Microsoft Excel. Для статистического анализа использовали программное обеспечение RStudio (<http://www.rstudio.com/>). Нормальность распределения показателей в группах проверяли с помощью критерия Шапиро – Уилка, и поскольку она отсутствовала, данные представлены в виде медианы (Me), первого и третьего квартилей (Q1; Q3). Применяли методы непараметрической статистики: внутригрупповые сравнения проводили с помощью критерия Вилкоксона; межгрупповые парные сравнения данных – с помощью критерия Манна – Уитни; множественные межгрупповые сравнения – с помощью критерия Краскала – Уоллиса. Использовали критерий χ^2 для

microarray based on the expression profile of more than 50 genes (Endometrial Receptivity Array – ERA), which allows one to assess the “receptive state of human endometrium” (i.e. endometrial receptivity) for diagnostic and therapeutic purposes [11].

The examination and follow up of patients was carried out with their written informed consent in accordance with the legislation of the Russian Federation and the ethical principles of medical research set out in the Helsinki Declaration of the World Medical Association. The study was approved by the Ethics Committee of the Novosibirsk State Medical University (Protocol No. 111 dated November 29, 2018).

For statistical processing, data on patients, including personal information, clinical characteristics and results of clinical investigation and lab tests characterizing the underlying disease and concomitant pathology, were coded and entered into a database created using Microsoft Excel. RStudio software (<http://www.rstudio.com/>) was used for statistical analysis. A normal distribution of variables in groups was checked using the Shapiro-Wilk test, and since it was absent, the data are presented as the median (Me), the first and third quartiles (Q1; Q3). Nonparametric statistical tests were used: comparisons between groups were performed using the Wilcoxon test; paired comparisons between groups – using the Mann-Whitney test; multiple comparisons between groups – using the Kruskal-Wallis test. The χ^2 test was used to evaluate binary data. Differences were considered statistically significant at a level of $p < 0.05$.

RESULTS AND DISCUSSION

In patients of group 1 (with chronic endometritis as the main cause of infertility), the endometrial thickness in the mid-secretory phase of the cycle was less than 7 mm, which had statistically significant differences compared to the values of the other two groups (Fig. 1). It is noteworthy that in group 2 in which the cause of infertility was the inflammation-induced fallopian tube obstruction, the endometrial thickness was reduced in many cases, which can be regarded as the development of endometriopathy, atrophic changes in the uterine mucosa as a result of long-term inflammation [7, 8].

Differing by endometrial thickness, group 1 and group 2 were virtually indistinguishable from each other in the number of pinopodia visually assessed in Pipelle biopsies during the secretory phase of the cycle. Pinopodia are protrusions up to 10 μm on the apical surface of endometrial epithelial cells that appear on the 20th and 21st days of the cycle (can vary within 5 days) and characterize endometrial

оценки бинарных данных. Различия считали статистически значимыми при уровне $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

У пациенток 1-й группы (с хроническим эндометритом как ведущей причиной бесплодия) толщина эндометрия в средне-секреторную фазу овариально-маточного цикла составила менее 7 мм, статистически значимо отличаясь от показателей двух других групп (рис. 1). Обращает на себя внимание, что во 2-й группе, фактором бесплодия в которой явилась непроходимость маточных труб в результате воспалительного процесса, толщина эндометрия была снижена во многих клинических наблюдениях, что можно расценивать как развитие эндометриопатии – атрофического изменения слизистой оболочки матки в итоге длительного воспаления [7, 8].

Отличаясь по толщине эндометрия, 1-я и 2-я группы практически не отличались друг от друга по количеству пиноподий, визуально оцениваемых в пайпель-биоптатах в секреторную фазу цикла. Пиноподии – это выросты до 10 мкм на апикальной поверхности эпителиальных клеток эндометрия, которые появляются на 20-й и 21-й дни овариально-маточного цикла (могут варьироваться в пределах 5 сут) и характеризуют восприимчивость (рецептивность) эндометрия [12].

receptivity [12]. The percentage of epithelial cells with pinopodia in group 3 showed a statistically significant increase compared to the values of the other two groups (Fig. 2), which once again confirms the highly informative value of this long-described and available for analysis marker [13].

Among the molecular markers detected by IHC and currently used in routine practice for the diagnosis of endometrial receptivity in patients with infertility, the role of cell surface receptors (HLA-DR) of antigen-presenting cells, which bind foreign peptide (including bacterial) antigens and autoantigens, is recognized. In our study, the HLA-DR expression was significantly reduced, below the diagnostic significance, in the endometrium of patients in group 2 relative to groups 1 and 3, which did not differ from each other (Fig. 3). HLA-DR expression is considered as a marker of activation of cells involved in inflammation, however, a decrease in the HLA-DR level, reflecting a deficiency of antigen-presenting cells in the endometrium, according to [14], can serve as a general biomarker for the diagnosis of infertility in women, despite the major role of inflammation in the pathogenesis of chronic endometritis as the main reason of infertility.

The epithelium and stroma of the endometrium, rapidly renewing during reproductive age, are highly sensitive to sex steroids. Insufficient PR expression due to inadequate level and/or reception of estro-

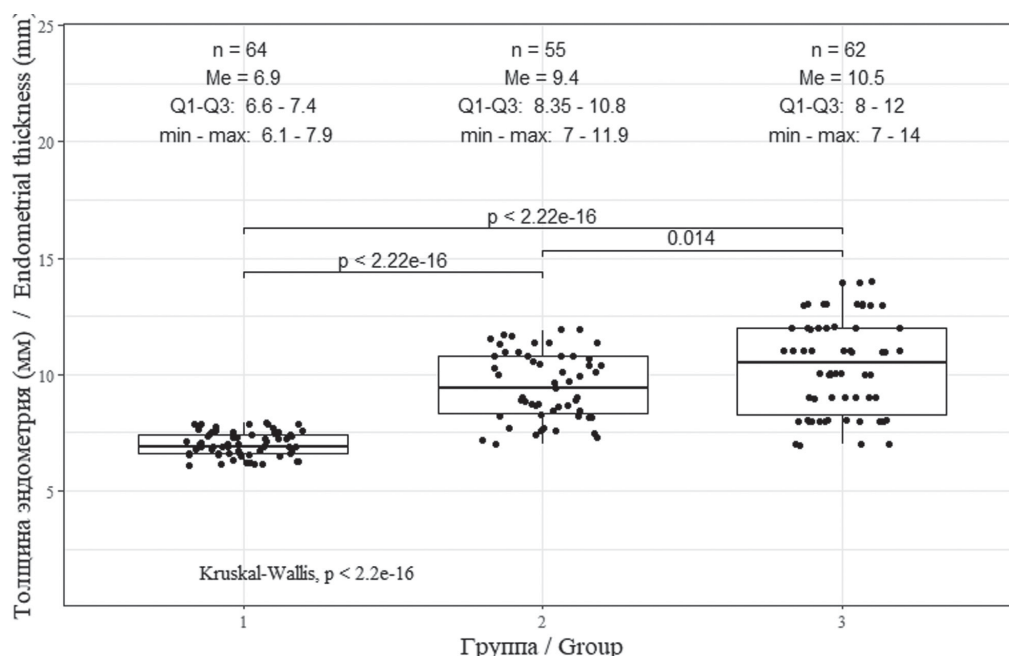


Рис. 1. Показатели толщины эндометрия в секреторную фазу цикла. Очень высокая статистическая значимость отличий (критерий Краскела – Уоллиса) между группами с наименьшими показателями в 1-й группе (вариант «тонкого эндометрия»)

Fig. 1. Endometrial thickness indices in the secretory phase of the cycle. Very high statistical significance of differences (Kruskal-Wallis test) between groups with the lowest indices in group 1 (variant of “thin endometrium”)

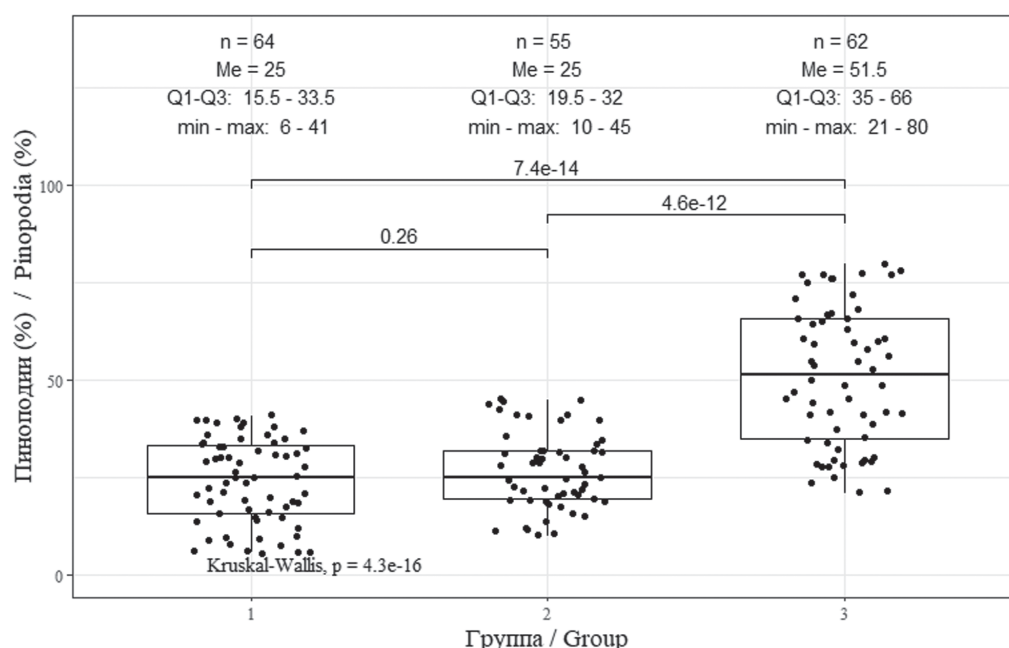


Рис. 2. Низкие и практически одинаковые показатели пиноподий эпителия в эндометрии пациенток 1-й и 2-й групп в секреторную фазу цикла. Критерий Краскела – Уоллиса

Fig. 2. Small and almost identical indicators of epithelial pinopodia in the endometrium of patients of groups 1 and 2 in the secretory phase of the cycle. Kruskal-Wallis test

Процент эпителиоцитов с пиноподиями в 3-й группе статистически значимо превысил показатели других двух групп (рис. 2), что еще раз подтверждает высокую информативность этого давно описанного и доступного для анализа маркера [13].

Среди выявляемых с помощью ИГХ молекулярных маркеров, в настоящее время используемых в рутинной практике для диагностики рецептивности эндометрия у пациенток с бесплодием, признана роль рецепторов клеточной поверхности (HLA-DR) антиген-презентирующих клеток, которые связывают пептидные чужеродные (в том числе бактериальные) антигены и аутоантигены. В нашем исследовании экспрессия HLA-DR оказалась статистически значимо сниженной, ниже диагностической значимости, в эндометрии пациенток 2-й группы относительно 1-й и 3-й групп, не отличающихся между собой (рис. 3). Экспрессию HLA-DR расценивают как маркер активации клеток, участвующих в воспалении, однако снижение уровня HLA-DR, отражающее дефицит антиген-презентирующих клеток в эндометрии, согласно [14], может служить общим биомаркером для диагностики бесплодия у женщин, несмотря на большую роль воспаления в патогенезе хронического эндометрита как главного фактора бесплодия.

Быстро обновляющиеся в репродуктивном возрасте эпителий и строма эндометрия высоко

gens often underlies luteal phase deficiency [15]. Since morphological immaturity of the endometrium can be observed even with sufficient progesterone production, not only the level of steroids in the body is important, but also the preservation of all pathways to exert the hormonal effect. In the panel of IHC markers of endometrial receptivity in infertility, the analysis of ER and PR expression in the epithelium and stroma is mandatory. In the endometrial epithelium, the ER expression was the highest in patients of group 1 and lowest in patients of group 2, with the differences between all groups being statistically significant (Kruskal-Wallis test) (Fig. 4). Moreover, the ER expression in stromal cells did not have statistically significant differences in paired comparisons (in groups 1, 2 and 3, respectively, 174 (142–211), 157 (144–180) and 176 (161–199) points, $p = 0.21$). Similar results were obtained for the expression of PRs in endometrial stromal cells (in groups 1, 2 and 3, respectively, 178 (147–221), 172 (147–222) and 175 (145–208) points, $p = 0.73$).

In contrast to the pattern of the ER expression in the endometrial epithelium, the PR expression in thin endometrium of group 1 did not differ from that of group 3 which was virtually unaltered receptive endometrium. However, the PR expression was reduced in the epithelium of group 2 relative to groups 1 and 3 (Fig. 5).

Controversies about the diagnostic role of pinopodia, steroid receptors and many other molecules

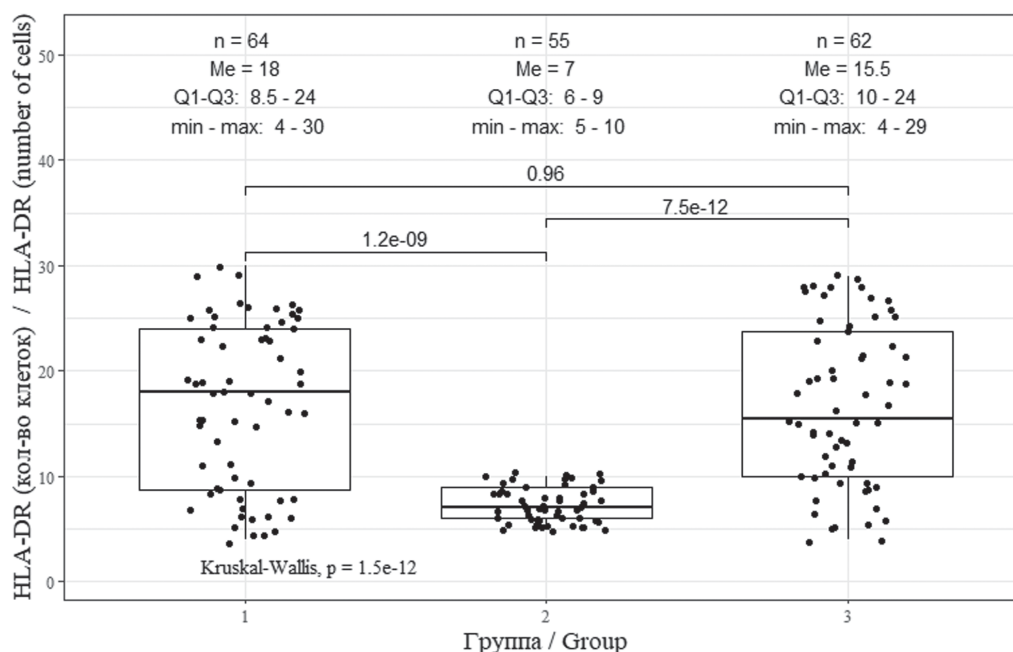


Рис. 3. Экспрессия HLA-DR статистически значимо снижена (ниже пороговых значений) в эндометрии пациенток 2-й группы относительно 1-й и 3-й групп, не отличающихся между собой. Критерий Краскела – Уоллиса
Fig. 3. The HLA-DR expression is statistically significantly reduced (below the threshold values) in the endometrium of patients in group 2 compared to groups 1 and 3, which do not differ from each other. Kruskal-Wallis test

чувствительны к половым стероидам. Недостаточная экспрессия PR в связи с неадекватными содержанием и/или рецепцией эстрогенов часто лежит в основе недостаточности лютеиновой фазы цикла [15]. Поскольку даже при достаточной продукции прогестерона может наблюдаться «морфологическая незрелость» эндометрия, то важен не только уровень стероидов в организме, но и сохранение всех путей реализации гормонального эффекта. В панели ИГХ маркеров рецептивности эндометрия при бесплодии обязателен анализ экспрессии ER и PR в эпителии и строме. В эпителии эндометрия экспрессия ER оказалась наибольшей у пациенток 1-й группы и наименьшей – у пациенток 2-й группы, причем различия между всеми группами статистически значимы (критерий Краскела – Уоллиса) (рис. 4). При этом экспрессия ER в стромальных клетках не имела статистически значимых различий при парных сравнениях (соответственно в 1, 2 и 3-й группах 174 (142–211); 157 (144–180) и 176 (161–199) баллов, $p = 0.21$). Аналогичные результаты получены и для экспрессии PR в стромальных клетках эндометрия (соответственно в 1, 2 и 3-й группах 178 (147–221); 172 (147–222) и 175 (145–208) баллов, $p = 0.73$).

В отличие от характера экспрессии ER в эпителии эндометрия, экспрессия PR в эпителии тонкого эндометрия 1-й группы не отличалась от

(hormones, cytokines, integrins, enzymes, etc.) that are involved in the blastocyst-maternal endometrium interaction to achieve implantation, have induced the search for a reliable panel of molecular markers of receptivity [16]. This research group has developed and patented the ERA test – a molecular diagnostic tool based on the specific transcriptomic signature that identifies receptive endometrium in natural and artificial (e.g., during hormone replacement therapy) cycles. Based on the results of ERA testing, the Igenomix laboratory makes an assessment of the endometrial window of implantation (WOI): for example, delayed WOI, i.e. prereceptive, advanced WOI, or postreceptive, and unusually short windows of receptivity, the best time (window) for implantation (Fig. 6). This allows personalization of the time of embryo transfer in IVF procedures [17].

Based on the results of ERA testing, 13 patients from group 1 were divided into 3 subgroups with pre-receptive (5 cases), receptive (4 cases) and postreceptive (4 cases) status. Despite the small number of samples, the PR expression in the epithelium and endometrial stroma was analyzed, and statistically significant differences were not revealed, however, a comparison of the percentage of pinopodia of epithelial cells showed their diagnostic significance (Fig. 7).

Thus, based on a small number of clinical observations, we have shown that the epithelial pinopodia in the endometrium in the secretory phase of the

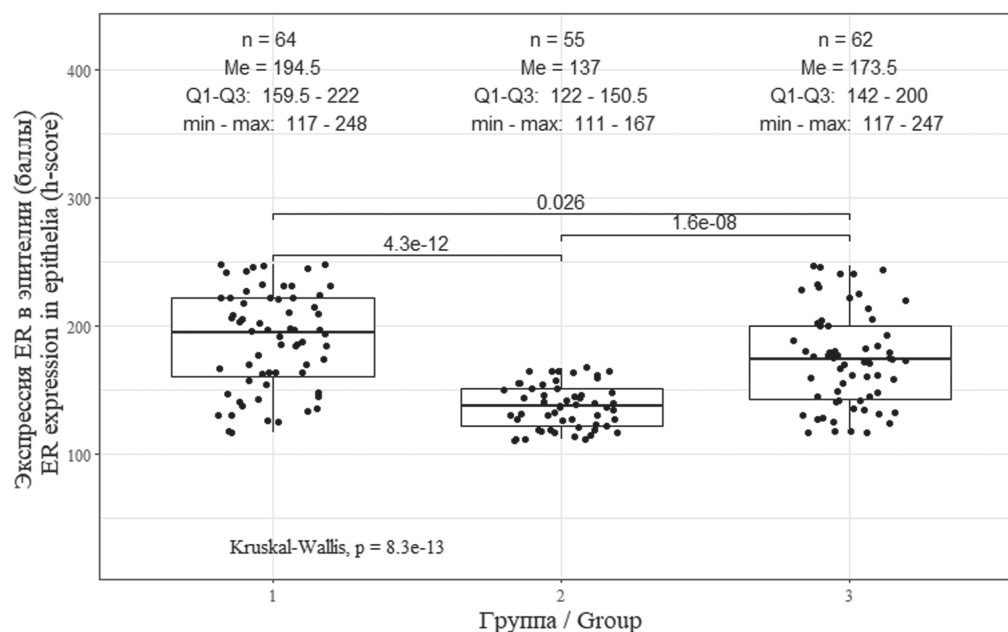


Рис. 4. В эпителии эндометрия экспрессия эстрогеновых рецепторов (ER) наибольшая – у пациенток 1-й группы, наименьшая – у пациенток 2-й группы. Различия между всеми группами статистически значимы (критерий Краскела – Уоллиса)

Fig. 4. The expression of estrogen receptors (ER) in the endometrial epithelium was highest in patients of group 1 and lowest in patients of group 2. The differences between all groups are statistically significant (Kruskal-Wallis test)

3-й группы – фактически неизмененного, рецептивного эндометрия. Однако экспрессия PR была снижена в эпителии 2-й группы относительно 1-й и 3-й групп (рис. 5).

cycle are a noteworthy diagnostic marker of the implantation window, which has been re-evaluated by other researchers. The implantation window is a 4–5-day period of the cycle during which successful

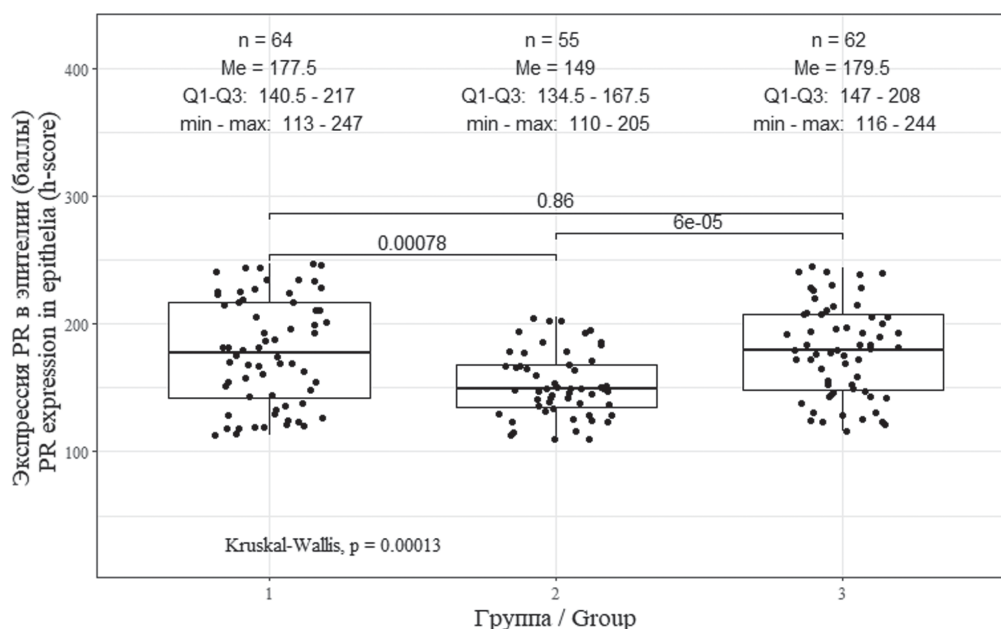


Рис. 5. Экспрессия PR в эпителии тонкого эндометрия 1-й группы не отличалась от 3-й группы – женщин с мужским фактором бесплодия, и во 2-й группе статистически значимо меньше (критерий Краскела – Уоллиса)

Fig. 5. The progesterone receptors (PR) expression in the epithelium of the thin endometrium of group 1 did not differ from group 3 (women with male infertility factor), and in group 2 it was statistically significantly lower (Kruskal-Wallis test)



ТЕСТ ERA (АНАЛИЗ РЕЦЕПТИВНОСТИ ЭНДОМЕТРИЯ) TEST ERA (ANALYSIS OF ENDOMETRIAL RECEPTIVITY)

Данные пациента Patient's data		Информация об образце Sample information		Данные клиники Clinic's data	
№ медицинской карты: Medical card No.:		Дата поступления материала в лабораторию: Delivery date to a laboratory:	27/04/2022	Клиника: Clinic:	
Тип материала: Sample type:	Образец ткани эндометрия Sample endometrial tissue	Дата выдачи заключения: Date of conclusion:	07/05/2022	Лечащий врач: Physician:	
Ф.И.О. / Full name:	Elena	Прогестерон: Progesterone:	Меньше 1 нг/мл Less than 1 ng/ml	№ пункции: Puncture No.:	
Дата рождения: Date of birth:	17/06/1974	Дата измерения: Date of measurement:	18/04/2022		
		Дата начала приема прогестерона: Date of progesterone intake:	18/04/2022		
		Дата биопсии: Biopsy date:	23/04/2022		
		Тип цикла: Cycle type:	HRT (115 часов) (115 hours)		

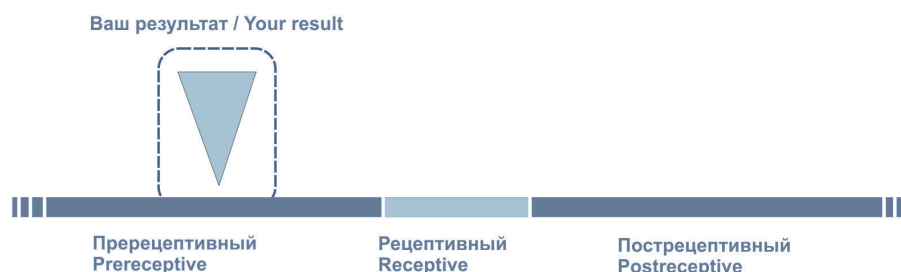
РЕЗУЛЬТАТ ИССЛЕДОВАНИЯ / RESEARCH RESULT:

ПРЕРЕЦЕПТИВНЫЙ / PRERECCEPTIVE

Заключение: перенос эмбриона(-ов) на стадии бластоцисты рекомендовано проводить через 130 ± 3 часа после начала приема препарата прогестерона (на 1 день позже биопсии ткани эндометрия в рамках данного исследования).

Повторная биопсия эндометрия не требуется.

Conclusion: transfer of embryo(s) at the blastocyst stage is recommended 130 ± 3 h after intake of progesterone (one day after endometrial biopsy). Repeat endometrial biopsy is not required.



Интерпретация результата исследования / Result interpretation:

Согласно данным лаборатории Igenomix, у 89% женщин с подобным профилем экспрессии генов в рамках цикла с заместительной гормональной терапией уровень максимальной рецептивности эндометрия наступает на 1 день позже (ДИ 95% [86–91%]). Повторной биопсии эндометрия в данном случае не требуется. Учитывая полученный результат, перенос эмбриона(-ов) на стадии бластоцисты следует проводить через 139 ± 3 часа после первого приема препарата прогестерона.

В случае эмбриона(-ов) третьего дня развития перенос должен быть проведен на 2 дня раньше.

According to the Igenomix laboratory data, 89% of women with a similar gene expression profile in a cycle with hormone replacement therapy the level of maximum endometrial receptivity comes 1 day later (CI 95% [86–91%]). In this case, repeat endometrial biopsy is not required. Given this result, transfer of embryo(s) at the blastocyst stage should be performed 139 ± 3 h after the first intake of progesterone.

In case of day 3 of embryo culture, transfer should be carried out 2 days earlier.

Рис. 6. Пример заключения ERA-тестирования эндометрия у пациентки 1-й группы с бесплодием
Fig. 6. An example of the conclusion of ERA testing for the endometrium in a patient in group 1 with infertility

Контраверсии о диагностической роли пиноподий, стероидных рецепторов и многих других молекул (гормоны, цитокины, интегрины, ферменты и т.д.), которые принимают участие во

implantation of the blastocyst can occur, usually dating from the 19th–20th day of the idealized 28-day cycle. The first steps in dating this window by establishing a set of morphological criteria for assessing

взаимодействии бластоцисты и материнского эндометрия для достижения имплантации, индуцировали поиск надежной панели молекулярных маркеров рецептивности [16]. Данной исследовательской группой был разработан и запатентован ERA-тест – молекулярный диагностический инструмент, основанный на специфической транскриптомной панели, которая идентифицирует восприимчивый эндометрий в естественных и искусственных (например, при заместительной гормонотерапии) циклах. По итогу ERA-тестирования лаборатория Igenomix выдает заключение об интерпретации состояния образца – например, статус рецептивности «отсроченный», т.е. «пререцептивный», у других – «пострецептивный», и могут быть необычно короткие «окна восприимчивости» – наилучший период времени (или «окно») для имплантации (рис. 6). Это позволяет персонализировать время переноса эмбриона в случаях ЭКО [17].

По итогам ERA-тестирования 13 пациенток 1-й группы разделились на 3 подгруппы с пререцептивным (5 наблюдений), рецептивным (4) и пострецептивным (4) статусом. Несмотря на малое количество образцов, была проанализирована экспрессия PR в эпителии и строме эндометрия и статистически значимые различия не выявлены, однако сравнение процента пиноподий эпителиоцитов показало их диагностическую значимость (рис. 7).

the development and receptivity of the endometrium were made [13, 18], but then came a period of declining interest in pinopodia with the search for molecular markers of endometrial receptivity.

In recent clinical studies pinopodia are associated with the favorable fertility outcomes in women, and since they are directly associated with the increased progesterone levels, the potential usefulness of these hormonally regulated cellular biological structures in predicting or improving implantation in clinical settings is promising. There has been renewed interest in pinopodia [19].

Answers to complicated questions of women with infertility management which have a critical importance for clinical practice and reproductive health, are needed, and further experimental and clinical studies to elucidate the cellular and molecular mechanisms are necessary as well [20].

CONCLUSION

In women with infertility of various origins, referred for IVF, the low and virtually identical formation of epithelial pinopodia in the endometrium was revealed in the secretory phase of the cycle. Formation of pinopodia has high diagnostic significance for the receptive status of the endometrium, confirmed by the ERA test, in patients of group 1 with infertility (chronic endometritis with thin endometrium) and does not depend on the expression of progesterone receptors in the epithelium and stroma.

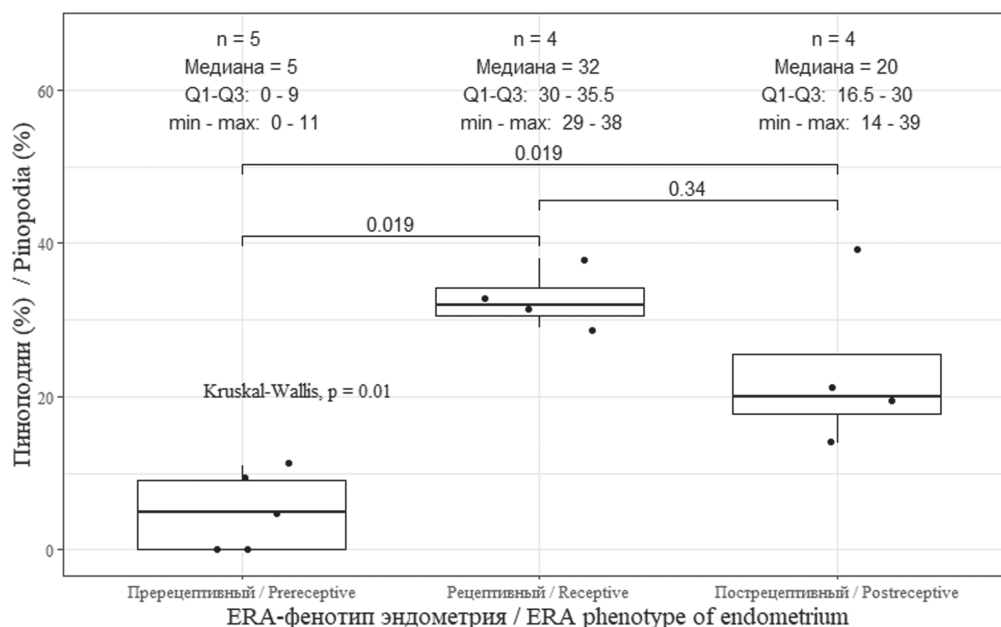


Рис. 7. Формирование пиноподий имеет высокую диагностическую значимость для рецептивного статуса эндометрия, подтвержденного ERA-тестом, у пациенток 1-й группы с бесплодием (хронический эндометрит с тонким эндометрием)

Fig. 7. The pinopodia formation has a high diagnostic significance for the receptive status of the endometrium, confirmed by the ERA test, in patients of group 1 with infertility (chronic endometritis with thin endometrium)

Таким образом, на небольшом количестве клинических наблюдений нами показано, что пиноподии эпителия в эндометрии в секреторную фазу цикла являются заслуживающим внимания диагностическим маркером «окна имплантации», к переоценке которого обратились и другие исследователи. Окно имплантации – это 4–5-дневный период овариально-маточного цикла, в течение которого может произойти нормальная имплантация бластоцисты, обычно датируемый с 19–20-го дня идеализированного 28-дневного цикла. Первые шаги в датировании этого окна – установление набора морфологических критериев для оценки развития и рецептивности эндометрия – были сделаны [13, 18], но затем наступил период отказа от внимания к пиноподиям с поиском молекулярных маркеров рецептивности эндометрия.

Недавние клинические исследования связывают высокий уровень экспрессии пиноподий с благоприятным прогнозом в отношении фертильности у женщин, и поскольку их наличие напрямую связано с повышением уровня прогестерона, потенциальная полезность этих гормонально регулируемых клеточных биологических структур в прогнозировании или улучшении имплантации в клинических условиях является многообещающей. Появился новый интерес к пиноподиям [19].

Необходимы ответы на сложные вопросы ведения пациенток, имеющие решающее значение для клинической практики и репродуктивного здоровья, и подчеркивается необходимость дальнейших экспериментальных и клинических исследований для изучения клеточных и молекулярных механизмов [20].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

У женщин с бесплодием различного генеза, направленных на ЭКО, в секреторную фазу цикла выявлено низкое и практически одинаковое формирование пиноподий эпителия в эндометрии.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Cimadomo D., Craciunas L., Vermeulen N. et al. Definition, diagnostic and therapeutic options in recurrent implantation failure: an international survey of clinicians and embryologists// *Hum. Reprod.* 2021;36(2):305-317. DOI: 10.1093/humrep/deaa317
2. Трунова Л.А., Трунов А.Н., Маринкин И.О. и др. Дисбаланс цитокинов и активность иммунновоспалительного процесса у женщин с бесплодием// *Аллергология и иммунология.* 2014;15(1):22-26.

The HLA-DR expression showed a statistically significant increase (below threshold values) in the endometrium of patients with tubal obstruction. The ER expression in the endometrial epithelium is highest in patients with thin endometrium, and lowest in patients with tubal factor infertility. The PR expression in the epithelium of thin endometrium in patients from group 1 did not differ from group 3 (women with male infertility factor) and shows a statistically significant increase in patients with tubal infertility. At the same time, the ER and PR expression in endometrial stromal cells had no statistically significant differences in paired comparisons.

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

Формирование пиноподий имеет высокую диагностическую значимость для рецептивного статуса эндометрия, подтвержденного ERA-тестом, у пациенток 1-й группы с бесплодием (хронический эндометрит с тонким эндометрием) и не имеет зависимости от экспрессии прогестероновых рецепторов в эпителии и строме.

Экспрессия HLA-DR статистически значимо снижена (ниже пороговых значений) в эндометрии пациенток с непроходимостью маточных труб. Экспрессия ER в эпителии эндометрия наибольшая – у пациенток с тонким эндометрием, наименьшая – у пациенток с трубным бесплодием. Экспрессия PR в эпителии тонкого эндометрия 1-й группы не отличалась от 3-й группы – женщин с мужским фактором бесплодия и была статистически значимо меньшей при трубном бесплодии. При этом экспрессия ER и PR в стромальных клетках эндометрия не имела статистически значимых различий при парных сравнениях.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

REFERENCES

1. Cimadomo D., Craciunas L., Vermeulen N. et al. Definition, diagnostic and therapeutic options in recurrent implantation failure: an international survey of clinicians and embryologists. *Hum. Reprod.* 2021;36(2):305-317. DOI: 10.1093/humrep/deaa317
2. Trunova L.A., Trunov A.N., Marinkin I.O. et al. Features of immuno-inflammatory process in the pathogenesis of infertility in women with chronic reproductive infectious and inflammatory diseases. *Allergology and Immunology.* 2014;15(1):22-26. (In Russ.)

3. D'Ippolito S., Di Nicuolo F., Pontecorvi A. et al. Endometrial microbes and microbiome: Recent insights on the inflammatory and immune "players" of the human endometrium// *Am. J. Reprod. Immunol.* 2018;80(6):e13065. DOI:10.1111/aji.13065.
4. He T., Li M., Li W. et al. Endometrial thickness is associated with low birthweight in frozen embryo transfer cycles: A retrospective cohort study of 8,235 singleton newborns// *Front. Endocrinol (Lausanne)*. 2022;13:929617. DOI: 10.3389/fendo.2022.929617.
5. Hillier S.L., Bernstein K.T., Aral S. A review of the challenges and complexities in the diagnosis, etiology, epidemiology, and pathogenesis of pelvic inflammatory disease// *J. Infect. Dis.* 2021;224(12 Suppl 2):S23-S28. DOI: 10.1093/infdis/jiab116.
6. Klimaszuk K., Svarre Nielsen H., Wender-Ozegowska E., Kedzia M. Chronic endometritis – is it time to clarify diagnostic criteria? // *Ginek. Pol.* 2023;94(2):152-157. DOI: 10.5603/GP.a2022.0147.
7. Маринкин И.О., Непомнящих Г.И., Кулешов В.М. и др. Атрофия эндометрия как проявление синдрома регенераторно-пластической недостаточности при привычном невынашивании беременности//Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина. 2012;5:223-230.
8. Маринкин И.О., Кулешов В.М., Илизарова Н.А., Айдагулова С.В. Закрытое окно. Новая интерпретация снижения рецептивности эндометрия при привычном невынашивании беременности // *StatusPraesens. Гинекология, акушерство, бесплодный брак.* 2014;6(23):74-81.
9. Miwa I., Tamura H., Takasaki A. et al. Pathophysiologic features of "thin" endometrium//*Fertil. Steril.* 2009;91(4):998-1004. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2008.01.029.
10. Gharibeh N., Aghebati-Maleki L., Madani J. et al. Cell-based therapy in thin endometrium and Asherman syndrome// *Stem Cell Res. Ther.* 2022;13(1):33. DOI: 10.1186/s13287-021-02698-8.
11. Place T.L., Agarwal R., Najafzadeh P. et al. Consistency of endometrial receptivity array and histologic dating of spatially distinct endometrial samplings: a prospective, blinded study // *F S Rep.* 2023;4(4):375-379. DOI: 10.1016/j.xfre.2023.08.008.
12. Mrozikiewicz A.E., Ożarowski M., Jędrzejczak P. Biomolecular markers of recurrent implantation failure – A review // *Int. J. Mol. Sci.* 2021;22(18):10082. DOI: 10.3390/ijms221810082.
13. Noyes R.W., Hertig A.T., Rock J. Reprint of: Dating the endometrial biopsy // *Fertil. Steril.* 2019;112(4 Suppl.1):e93-e115. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2019.08.079.
14. Jiang L., Wang X., Zhang T. et al. Down-regulation of HLA-DRs and HLA-DPs reflects the deficiency of antigen-presenting cells in endometrium from infertile women with and without ovarian endometriosis // *Hum. Fertil. (Camb.)*. 2022;25(4):716-727. DOI: 10.1080/14647273.2021.1902576.
15. Аничков Н.М. Патоморфология эндометрия при гормональных воздействиях // Архив патологии. 2001;6:3-8.
16. Valles C.S., Domínguez F. Embryo-endometrial interaction // *Chang Gung Med. J.* 2006;29(1):9-14.
3. D'Ippolito S., Di Nicuolo F., Pontecorvi A. et al. Endometrial microbes and microbiome: Recent insights on the inflammatory and immune "players" of the human endometrium. *Am. J. Reprod. Immunol.* 2018;80(6):e13065. DOI:10.1111/aji.13065.
4. He T., Li M., Li W. et al. Endometrial thickness is associated with low birthweight in frozen embryo transfer cycles: A retrospective cohort study of 8,235 singleton newborns. *Front. Endocrinol (Lausanne)*. 2022;13:929617. DOI: 10.3389/fendo.2022.929617.
5. Hillier S.L., Bernstein K.T., Aral S. A review of the challenges and complexities in the diagnosis, etiology, epidemiology, and pathogenesis of pelvic inflammatory disease. *J. Infect. Dis.* 2021;224(12 Suppl 2):S23-S28. DOI: 10.1093/infdis/jiab116.
6. Klimaszuk K., Svarre Nielsen H., Wender-Ozegowska E., Kedzia M. Chronic endometritis – is it time to clarify diagnostic criteria? *Ginek. Pol.* 2023;94(2):152-157. DOI: 10.5603/GP.a2022.0147.
7. Marinkin I.O., Nepomnyashchikh G.I., Kuleshov V.M. et al. Atrophy of endometrium as manifestation of regenerative-plastic insufficiency syndrome at recurrent pregnancy loss. *RUDN Journal of Medicine.* 2012;5:223-230. (In Russ.)
8. Marinkin I.O., Kuleshov V.M., Ilizarova N.A., Aidagulova S.V. Closed window. New interpretation of decreased endometrial receptivity in recurrent pregnancy loss. *StatusPraesens. Gynecology, Obstetrics, Infertility.* 2014;6(23):74-81. (In Russ.)
9. Miwa I., Tamura H., Takasaki A. et al. Pathophysiologic features of "thin" endometrium. *Fertil. Steril.* 2009;91(4):998-1004. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2008.01.029.
10. Gharibeh N., Aghebati-Maleki L., Madani J. et al. Cell-based therapy in thin endometrium and Asherman syndrome. *Stem Cell Res. Ther.* 2022;13(1):33. DOI: 10.1186/s13287-021-02698-8.
11. Place T.L., Agarwal R., Najafzadeh P. et al. Consistency of endometrial receptivity array and histologic dating of spatially distinct endometrial samplings: a prospective, blinded study. *F S Rep.* 2023;4(4):375-379. DOI: 10.1016/j.xfre.2023.08.008.
12. Mrozikiewicz A.E., Ożarowski M., Jędrzejczak P. Biomolecular markers of recurrent implantation failure – A review. *Int. J. Mol. Sci.* 2021;22(18):10082. DOI: 10.3390/ijms221810082.
13. Noyes R.W., Hertig A.T., Rock J. Reprint of: Dating the endometrial biopsy. *Fertil. Steril.* 2019;112(4 Suppl.1):e93-e115. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2019.08.079.
14. Jiang L., Wang X., Zhang T. et al. Down-regulation of HLA-DRs and HLA-DPs reflects the deficiency of antigen-presenting cells in endometrium from infertile women with and without ovarian endometriosis. *Hum. Fertil. (Camb.)*. 2022;25(4):716-727. DOI: 10.1080/14647273.2021.1902576.
15. Anichkov N.M. Pathomorphology of the endometrium under hormonal influences. *Archive of Pathology.* 2001;6:3-8. (In Russ.)
16. Valles C.S., Domínguez F. Embryo-endometrial interaction. *Chang Gung Med. J.* 2006;29(1):9-14.
17. Blesa D., Ruiz-Alonso M., Simón C. Clinical management of endometrial receptivity. *Semin. Reprod. Med.* 2014;32(5):410-413. DOI : 10.1055/s-0034-1376360.

17. Blesa D., Ruiz-Alonso M., Simón C. Clinical management of endometrial receptivity // *Semin. Reprod. Med.* 2014;32(5):410-413. DOI: 10.1055/s-0034-1376360.
18. Noyes R.W., Hertig A.T., Rock J. Dating the endometrial biopsy // *Fertil. Steril.* 1950;1:3-25.
19. Quinn K.E., Matson B.C., Wetendorf M., Caron K.M. Pinopodes: Recent advancements, current perspectives, and future directions // *Mol. Cell Endocrinol.* 2020;501:110644. DOI: 10.1016/j.mce.2019.110644.
20. Илизарова Н.А., Маринкин И.О., Агеева Т.А. и др. Ультразвуковые и гистохимические маркеры индукции секреторной активности эндометрия при привычном невынашивании беременности // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* 2009;148(10):468-472.
18. Noyes R.W., Hertig A.T., Rock J. Dating the endometrial biopsy. *Fertil. Steril.* 1950;1:3-25.
19. Quinn K.E., Matson B.C., Wetendorf M., Caron K.M. Pinopodes: Recent advancements, current perspectives, and future directions. *Mol. Cell Endocrinol.* 2020;501:110644. DOI: 10.1016/j.mce.2019.110644.
20. Ilizarova N.A., Marinkin I.O., Ageeva T.A. et al. Ultrastructural and histochemical markers of endometrial secretion induction in habitual miscarriage. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2009;148(4):663-667. DOI: 10.1007/s10517-010-0790-x.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Волчек Александр Викторович – младший научный сотрудник лаборатории клеточной биологии и фундаментальных основ репродукции центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России; врач – акушер-гинеколог Областного перинатального центра ГБУЗ НСО «Государственная Новосибирская областная клиническая больница», Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0003-4458-1158.

Макаров Константин Юрьевич – д-р мед. наук, доцент, профессор кафедры акушерства и гинекологии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0003-3574-6382.

Кулешов Виталий Михайлович – д-р мед. наук, профессор кафедры акушерства и гинекологии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия.

Айдагулова Светлана Владимировна – д-р биол. наук, профессор, заведующий лабораторией клеточной биологии и фундаментальных основ репродукции центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0001-7124-1969.

Маринкин Игорь Олегович – д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой акушерства и гинекологии, ректор ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0002-9409-482X.

ABOUT THE AUTHORS

Aleksandr V. Volchek – Junior Researcher, Laboratory of Cell Biology and Fundamental Foundations of Reproduction, Central Research Laboratory, Novosibirsk State Medical University; Obstetrician-Gynecologist, Regional Perinatal Center, Novosibirsk Regional Clinical Hospital, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0003-4458-1158.

Konstantin Yu. Makarov – Dr. Sci. (Med.), Associate Professor, Professor, Department of Obstetrics and Gynecology, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0003-3574-6382.

Vitaliy M. Kuleshov – Dr. Sci. (Med.), Professor, Department of Obstetrics and Gynecology, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia.

Svetlana V. Aidagulova – Dr. Sci. (Biol.), Professor, Head, Laboratory of Cell Biology and Fundamental Foundations of Reproduction, Central Research Laboratory, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0001-7124-1969.

Igor O. Marinkin – Dr. Sci. (Med.), Professor, Head, Department of Obstetrics and Gynecology, Rector, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0002-9409-482X.

Диагностика и лечение тромбоза полости правого желудочка у больной с тромбоэмболией легочной артерии, ассоциированной с тяжелой пневмонией (Клиническое наблюдение)

Т.Д. Мальченко¹, И.Я. Цеймах¹, Д.Е. Богачев¹, Т.А. Корнилова², М.Е. Цеймах¹

¹ФГБОУ ВО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава России, Барнаул, Россия

²КГБУЗ «Городская больница № 5, г. Барнаул», Барнаул, Россия

АННОТАЦИЯ

Введение. Тромбоз полости правого желудочка (ПЖ) является редким жизнеугрожающим осложнением правожелудочковой сердечной недостаточности, развивающимся на фоне венозных тромбоэмболических осложнений, тяжелых инфекций нижних дыхательных путей.

Цель. Обмен опытом диагностики и лечения пациентов с тромбозом полости ПЖ на фоне тяжелой пневмонии.

Материалы и методы. Изучали историю болезни стационарного больного и архив медицинских документов, включая результаты лабораторных, функциональных и лучевых методов диагностики.

Результаты. Представлено клиническое наблюдение пациентки 19 лет, у которой клиническая картина острой правожелудочковой сердечной недостаточности и тромбоза полости правого желудочка возникла на фоне тяжелой пневмонии.

Заключение. Своевременная диагностика и лечение острой правожелудочковой сердечной недостаточности, легочной тромбоэмболии, тромбоза полости ПЖ могут улучшить исходы и снизить летальность больных с тяжелой пневмонией.

Ключевые слова: внутрисердечный тромбоз, тромбоэмболия легочной артерии, острая правожелудочковая сердечная недостаточность.

Образец цитирования: Мальченко Т.Д., Цеймах И.Я., Богачев Д.Е., Корнилова Т.А., Цеймах М.Е. Диагностика и лечение тромбоза полости правого желудочка у больной с тромбоэмболией легочной артерии, ассоциированной с тяжелой пневмонией (Клиническое наблюдение) // Journal of Siberian Medical Sciences. 2024;8(4):143-160. DOI: 10.31549/2542-1174-2024-8-4-143-160

Diagnosis and treatment of right ventricular thrombosis in a female patient with pulmonary thromboembolism associated with severe pneumonia (Case report)

T.D. Malchenko¹, I.Ya. Tseimakh¹, D.E. Bogachev¹, T.A. Kornilova², M.E. Tseimakh¹

¹Altay State Medical University, Barnaul, Russia

²City Hospital No. 5, Barnaul, Russia

ABSTRACT

Introduction. Right ventricular (RV) thrombosis is a rare life-threatening complication of right heart failure developing amid venous thromboembolic complications and severe lower respiratory tract infections.

Поступила в редакцию 30.05.2024
Прошла рецензирование 26.06.2024
Принята к публикации 12.07.2024

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

Received 30.05.2024
Revised 26.06.2024
Accepted 12.07.2024

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

A i m . Exchange of experiences in the diagnosis and treatment of patients with RV thrombosis associated with severe pneumonia.

M a t e r i a l s a n d m e t h o d s . We studied a history of the inpatient and the archive of medical records, including the results of lab tests, functional diagnostics and radiologic imaging.

R e s u l t s . The article presents a case report of a 19-year-old female patient, in whom the clinical picture of acute right heart failure and RV thrombosis occurred amid severe pneumonia.

C o n c l u s i o n . Timely diagnosis and treatment of acute right heart failure, pulmonary thromboembolism, and RV thrombosis can improve outcomes and reduce mortality in patients with severe pneumonia.

Keywords: intracardiac thrombosis, pulmonary thromboembolism, acute right heart failure.

Citation example: Malchenko T.D., Tseimakh I.Ya., Bogachev D.E., Kornilova T.A., Tseimakh M.E. Diagnosis and treatment of right ventricular thrombosis in a female patient with pulmonary thromboembolism associated with severe pneumonia (Case report). *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2024;8(4):143-160. DOI: 10.31549/2542-1174-2024-8-4-143-160

ВВЕДЕНИЕ

Тромботические и тромбоэмболические осложнения широко распространены при респираторных инфекциях. Средняя распространенность тромбоэмболии легочной артерии (ТЭЛА) у госпитализированных больных с COVID-19 в условиях прижизненной диагностики варьирует в диапазоне от 13 до 32 %, в зависимости от тяжести заболевания [1, 2]. В периоде после перенесенного заболевания COVID-19 длительно, более 6 мес, сохраняются повышенные риски тромбозов глубоких вен нижних конечностей и тенденция к увеличению риска ТЭЛА [3].

Внебольничная пневмония ассоциируется с повышенными рисками венозных тромбозов и ТЭЛА, достигающими в отделениях интенсивной терапии 10.7 % у пациентов, не получавших профилактической антикоагулянтной терапии, и 6.4 % – на фоне применения антикоагулянтов [4, 5]. У госпитализированных пациентов с внебольничной пневмонией значительно возрастают риски сердечно-сосудистых осложнений, включая сердечную недостаточность, прогрессирующую аритмию, инфаркт миокарда, геморрагический или ишемический инсульт, транзиторную ишемическую атаку, достигая кумулятивной частоты до 26 % при тяжелом течении заболевания [6, 7].

В эпидемиологическом исследовании T.C. Clayton et al. (2011) с использованием дизайна «случай-контроль» подтверждена роль тяжелой пневмонии и других тяжелых респираторных инфекций как независимых факторов риска ТЭЛА [8]. Авторами установлено, что у пациентов, перенесших тяжелые респираторные инфекции, включавшие острый ларингит, острый брон-

INTRODUCTION

Thrombotic and thromboembolic complications are common in respiratory infections. The average prevalence of pulmonary thromboembolism (PTE) in hospitalized patients with COVID-19 in antemortem diagnosis varies from 13 to 32%, depending on the severity of the disease [1, 2]. In the period after COVID-19, increased risks of deep vein thrombosis of the lower extremities and a tendency to an increased risk of PTE persist for a long time, more than 6 months [3].

Community-acquired pneumonia is associated with increased risks of venous thrombosis and PTE, reaching 10.7% in intensive care units in preventive anticoagulant-naïve patients and 6.4% with the use of anticoagulants [4, 5]. In hospitalized patients with the community-acquired pneumonia, the risks of cardiovascular complications, including heart failure, progressive arrhythmia, myocardial infarction, hemorrhagic or ischemic stroke, transient ischemic attack, significantly increase, reaching a cumulative frequency of up to 26% in severe cases of the disease [6, 7].

In an epidemiological case-control study by Clayton et al. (2011), the role of severe pneumonia and other severe respiratory infections as independent risk factors for PTE was confirmed [8]. The authors found that patients who had severe respiratory infections, including acute laryngitis, acute bronchitis, pneumonia, and productive cough, had an increased risk of developing deep vein thrombosis within a month, and an increased risk of developing PTE within three months. The increased risk of developing these venous thromboembolic complications persisted up to a year.

хит, пневмонию и продуктивный кашель, в течение месяца наблюдался повышенный риск развития тромбоза глубоких вен, а в течение трех месяцев – повышенный риск развития ТЭЛА. Повышенный риск развития этих венозных тромбоэмболических осложнений сохранялся до года.

Выраженные нарушения легочной гемодинамики с формированием острой правожелудочковой сердечной недостаточности (ОПЖСН), в ряде случаев формирующиеся у пациентов с тяжелой пневмонией, ТЭЛА, могут представлять угрозу жизни пациентов [9–12]. Непосредственная угроза жизни в этих ситуациях может быть обусловлена развитием тромбоза в полости правого желудочка. Дополнительными факторами риска тромбоза полости правого желудочка у пациентов с тяжелыми пневмониями могут быть ТЭЛА с распространенной окклюзией крупных легочных артерий, дилатационная кардиомиопатия.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Обмен опытом диагностики и лечения пациентов с внутрисердечным тромбозом, ассоциированным с тяжелой пневмонией и тромбоэмболией легочной артерии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Клиническое наблюдение пациентки представлено на основе комплексного изучения истории болезни стационарного больного и архива медицинских документов, включая результаты лабораторных, функциональных и лучевых методов диагностики. Период наблюдения составил 21 день. Публикация клинического наблюдения получила одобрение Комитета по этике ФГБОУ ВО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава России (протокол № 6 от 24 мая 2024 г).

КЛИНИЧЕСКОЕ НАБЛЮДЕНИЕ

Пациентка 19 лет родилась и проживала в Алтайском крае. В период, предшествовавший госпитализации, имела при росте 168 см вес 70 кг, индекс массы тела 24.8 кг/м². Наследственный анамнез по заболеваниям системы кровообращения не был отягощен: отсутствовали данные о случаях внезапной сердечной смерти, аритмии, острых сосудистых заболеваниях у родственников по отцовской и материнской линии. Не установлен прием пероральных контрацептивных препаратов в анамнезе. Отсутствовали данные о лекарственной или наркотической зависимости.

Severe disturbances of pulmonary hemodynamics with the development of acute right heart failure (ARHF), which in some cases occur in patients with severe pneumonia, PTE, may pose a threat to the lives of patients [9–12]. An immediate threat to life in these situations may be due to the development of thrombosis in the right ventricular cavity. Additional risk factors for right ventricular thrombosis in patients with severe pneumonia may be PTE with extent occlusion of large pulmonary arteries, dilated cardiomyopathy.

AIM OF THE RESEARCH

Exchange of experiences in the diagnosis and treatment of patients with intracardiac thrombosis associated with severe pneumonia and pulmonary thromboembolism.

MATERIALS AND METHODS

The case report of the patient is presented on the basis of a comprehensive study of a medical history of the inpatient and the medical records, including the results of the lab tests, functional diagnostics and radiologic imaging. The hospital stay comprised 21 days. The publication of the case report was approved by the Ethics Committee of the Altai State Medical University (protocol No. 6 dated May 24, 2024).

CASE REPORT

A female patient, aged 19, was born and resided in the Altai Territory. Before hospitalization, she had body height 168 cm, weight 70 kg, and body mass index of 24.8 kg/m². No hereditary taint of circulatory diseases: no data on cases of sudden cardiac death, arrhythmia, or acute vascular diseases in relatives on her mother's and father's sides. No taking oral contraceptives. No data on drug dependence and substance abuse.

The acute deterioration of the condition was preceded by a complicated course of a soft tissue abscess in the middle third of the left forearm. Two weeks after lancing the abscess, symptoms of intoxication presenting as myalgia, general fatigue and temperature rising to 39° C appeared in the outpatient setting, with a short-term decrease when taking non-steroidal anti-inflammatory drugs. On the 5th day after the signs of infectious inflammation appeared, a dry paroxysmal cough started, on the 6th day – rapidly increasing shortness of breath. On October 29, 2022, on the 6th day from the onset of the disease, the patient was urgently hospitalized with a diagnosis of severe pneumonia, severe hypoxemic respiratory failure and acute hypotension in the

Развитию острого ухудшения состояния предшествовало осложненное течение абсцесса мягких тканей в области средней трети левого предплечья. Через 2 нед после вскрытия абсцесса мягких тканей в амбулаторных условиях появились симптомы интоксикации в виде миалгий, общей слабости и повышения температуры до 39 °С, с кратковременным снижением при приеме нестероидных противовоспалительных лекарственных средств. На 5-й день после появления симптомов инфекционного воспаления появился сухой приступообразный кашель, на 6-й день – быстро усиливающаяся одышка. 29.10.2022, на 6-й день от начала заболевания, пациентка была экстренно госпитализирована с диагностированной тяжелой пневмонией, тяжелой гипоксемической дыхательной недостаточностью и острой гипотонией в отделение реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ). Оценка критериев сепсиса по шкале SOFA от 29.10.22 составила 7 баллов [13]. В анамнезе жизни были установлены железодефицитная анемия средней степени тяжести, язвенная болезнь желудка вне обострения, психовегетативный синдром с паническими атаками (по данным амбулаторной карты).

Обзорная рентгенография грудной клетки от 29.10.2022 показала двухстороннюю инфильтрацию легочной ткани с большим объемом вовлечения обоих легких, утолщение междолевой плевры справа, расширение тени сердца в поперечнике. Плевральные синусы были свободны.

Пациентка получала эмпирическую антимикробную терапию в соответствии с актуальными клиническими рекомендациями [14]; в последующем проводилась этиотропная терапия, с учетом выделяемых в мокроте и крови бактериальных возбудителей, их чувствительности к антибиотикам. Лечение тяжелой пневмонии с первого дня госпитализации включало применение антикоагулянтной терапии – эноксапарин 60 мг 2 раза в день, что соответствовало диапазону промежуточной дозы этого низкомолекулярного гепарина – не менее 50–75 % от лечебной дозы или подкожно ≥ 40 мг 2 раза в день, максимально приближаясь к лечебной дозе эноксапарина – подкожно 1 мг/кг 2 раза в сутки [15, 16]. В связи с неэффективностью кислородотерапии с первого дня госпитализации в течение 8 суток пациентке проводилась инвазивная вентиляция легких. На фоне комбинированной этиотропной антибактериальной терапии состояние пациентки значительно улучшилось и позволило 06.11.2022, до госпитализации в пульмонологическое отделение, отменить респираторную поддержку.

intensive care unit (ICU). The SOFA score on October 29, 2022 was 7 [13]. Patient's life history revealed moderate iron deficiency anemia, gastric ulcer (remission), and psychovegetative syndrome with panic attacks (according to the outpatient medical records).

A chest radiograph on October 29, 2022 showed bilateral infiltration of lung tissue with involvement of a large volume of both lungs, thickening of the interlobar pleura on the right, and cardiac shadow widening in cross-section. The pleural recesses were clear.

The patient received empirical antimicrobial therapy in accordance with the current clinical guidelines [14]; subsequently, etiotropic therapy was carried out, taking into account the bacterial pathogens in sputum and blood and their antibiotic sensitivity. Treatment of severe pneumonia from the first day of hospitalization included the use of anticoagulant therapy – enoxaparin 60 mg twice a day, which corresponded to the intermediate dose range of this low molecular weight heparin – at least 50–75% of the therapeutic dose, or subcutaneously ≥ 40 mg 2 times a day, as close as possible to the therapeutic dose of enoxaparin – subcutaneously 1 mg/kg 2 times a day [15, 16]. Due to the ineffectiveness of oxygen therapy, from the first day of hospitalization, the patient was on invasive mechanical ventilation for 8 days. Amid combined etiotropic antibacterial therapy, the patient's condition improved significantly and made it possible to discontinue respiratory support on 06.11.2022, before hospitalization in the pulmonology department.

When evaluating the dynamics of chest X-rays as of 07.11.2022, amid a decrease in the area of infiltrative changes, the signs of lung tissue destruction appeared as multiple thin-walled annular cavities with unclear external contours, of various diameters. A small volume of pleural effusion appeared in both pleural cavities. Given the negative X-ray dynamics, a decision was made to transfer the patient to the pulmonology department.

At the pulmonology department of a general hospital in Barnaul, the patient was diagnosed with respiratory infection pathogens: on November 14, 2022, SARS-CoV-2 coronavirus RNA was detected in nasopharyngeal swabs using nucleic acid amplification; from 08.11.2022 to 29.11.2022, *Klebsiella* spp. 10^5 CFU/ml was detected in sputum culture. Penicillin-resistant *Staphylococcus aureus* was detected in the patient's blood for the first time on 03.11.2022, and subsequently – on 08.11.2022.

Based on the clinical investigation, the patient was diagnosed with a combined disease: coronavirus

При оценке рентгенограмм органов грудной клетки в динамике от 07.11.22 на фоне уменьшения площади инфильтративных изменений появились признаки деструкции легочной ткани в виде множественных тонкостенных кольцевидных полостей с нечеткими наружными контурами, различного диаметра. В обеих плевральных полостях появился плевральный выпот небольшого объема. Учитывая выявленную отрицательную рентгенологическую динамику, было принято решение о переводе пациентки в специализированное пульмонологическое отделение.

В пульмонологическом отделении многопрофильной больницы г. Барнаула у пациентки определялись возбудители респираторной инфекции: 14.11.2022 в мазках из носоглотки выделена методом амплификации нуклеиновых кислот РНК коронавируса SARS-CoV-2, с 08.11.2022 по 29.11.2022 в мокроте выделялась культуральным методом *Klebsiella* spp. 10^5 КОЕ/мл. *Staphylococcus aureus*, устойчивый к пенициллину, был выделен в крови пациентки впервые 03.11.2022, в последующем повторно выделялся в крови 08.11.2022.

На основании проведенного обследования пациентке постановлен диагноз комбинированного заболевания: коронавирусная инфекционная болезнь (COVID-19), подтвержденная выделением в дыхательных путях РНК SARS-CoV-2; тяжелая внебольничная двусторонняя пневмония, ассоциированная с инфекцией *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella* spp. Осложнениями заболевания были сепсис (SOFA – 7 баллов), острая дыхательная недостаточность гипоксемического типа, проведение ИВЛ в течение 8 суток.

При поступлении в пульмонологическое отделение, по данным клинического анализа крови, выявлялись анемический синдром, умеренный нейтрофильный лейкоцитоз (табл. 1). С 10-го дня госпитализации отмечалась нормализация общего количества лейкоцитов, абсолютного количества их субпопуляций. Анемия сохранялась в течение всего периода госпитализации, с положительной динамикой увеличения содержания эритроцитов, уровня гемоглобина и гематокрита крови. На фоне улучшения показателей красной крови и лейкоцитарной реакции на воспаление в период госпитализации в пульмонологическом отделении определялась эозинофилия крови – по-видимому, как транзиторная реакция в период восстановления иммунного ответа при обратном развитии тяжелой респираторной инфекции.

Изменения со стороны биохимических показателей крови при поступлении характеризова-

infectious disease (COVID-19) confirmed by the detection of SARS-CoV-2 RNA in the respiratory tract; severe community-acquired bilateral pneumonia associated with *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella* spp. Complications: sepsis (SOFA score 7), acute hypoxemic respiratory failure, mechanical ventilation for 8 days.

On admission to the pulmonology department, according to the blood cell count, anemia and moderate neutrophilic leukocytosis were diagnosed (Table 1). From the 10th day of hospitalization, the leukocyte count and the absolute number of their subpopulations were normalized. Anemia persisted throughout the whole period of hospitalization, with positive dynamics of an increase in the erythrocyte count, hemoglobin and hematocrit levels. Amid improved red blood cell counts and leukocyte response to inflammation during hospitalization in the pulmonology department, eosinophilia was determined – apparently, as a transient reaction during the immune response restoration and the reversal of a severe respiratory infection.

Changes in blood biochemistry upon admission were characterized by hypoproteinemia and hypoalbuminemia, as well as a severe shift in a number of inflammatory markers: a six-fold increase in C-reactive protein, a marked increase in procalcitonin, and ferritin. In tests assessing the general state of the hemostasis system, clinically significant changes consisted of an increase in the plasma concentration of D-dimers by more than 10 times compared with the upper limit of the reference range along with an insignificant increase in the concentration of fibrinogen on the 10th day of treatment in the pulmonology department.

Insignificant hypocoagulation, mainly based on activated partial thromboplastin time, was, apparently, due to the anticoagulant therapy. No changes in the gas composition or acid-base balance were revealed upon transfer to the pulmonology department.

Based on the results of the investigation on the first day of hospitalization in the pulmonology department, it was concluded that the symptoms of multiple organ failure had been reversed; sepsis criteria in the patient had not been identified since November 9, 2022.

When analyzing the high-resolution computed tomography (HRCT) data from November 09, 2022, areas of increased pulmonary parenchyma density of the ground-glass type were identified in all fields of both lungs, the denser areas of infiltration in the right middle and lower lobes peribronchially, with ill-defined and uneven contours. Besides, destructive

Таблица 1. Результаты в динамике общих клинических анализов у пациентки 19 лет в период госпитализации в пульмонологическом отделении**Table 1.** Dynamics of the results of the lab tests of a 19-year-old female patient during hospitalization in the pulmonology department

Показатель Parameter	Референсные значения Reference values	09.11.2022	19.11.2022	27.11.2022
<i>Клинический анализ крови / Blood cell count</i>				
Эритроциты ($\times 10^{12}$ клеток/л) Red blood cells ($\times 10^{12}$ cells/l)	4.00–6.00	3.07	3.35	3.78
Hb (г/л) (g/l)	120–160	93	103	116
Ht (%)	36.0–48.0	30	32.5	34.6
MCH (пг) (pg)	27.0–31.0	30.3	30.7	30.8
MCV (фл) (fl)	82.0–95.0	97.7	96.9	91.4
RDW-CV (%)	11.5–14.5	13.2	14.4	–
Лейкоциты ($\times 10^9$ клеток/л) White blood cells ($\times 10^9$ cells/l)	4.00 – 9.00	14.95	6.41	4.6
Нейтрофилы (%) / Neutrophils (%)	50.00–70.00	83	47	43
Нейтрофилы ($\times 10^9$ клеток/л) Neutrophils ($\times 10^9$ cells/l)	2.00 – 7.00	10.47	2.93	1.9
Лимфоциты ($\times 10^9$ клеток/л) Lymphocytes ($\times 10^9$ cells/l)	0.80–4.00	3.35	2.5	2.3
Эозинофилы ($\times 10^9$ клеток/л) Eosinophils ($\times 10^9$ cells/l)	0.02 – 0.40	0.49	0.69	–
Базофилы ($\times 10^9$ клеток/л) Basophils ($\times 10^9$ cells/l)	0.00–0.10	0.01	0.01	–
Моноциты ($\times 10^9$ клеток/л) Monocytes ($\times 10^9$ cells/l)	0.12– 0.90	0.63	0.28	–
Тромбоциты ($\times 10^9$ клеток/л) Platelets ($\times 10^9$ cells/l)	160–400	358	269	280
<i>Биохимический анализ крови / Biochemistry</i>				
Билирубин общий (мкмоль/л) Total bilirubin ($\mu\text{mol/l}$)	1.70–21.00	8.56	5	–
Аспартатаминотрансфераза (ед./л) Aspartate aminotransferase (units/l)	0.00–31.00	19.74	16	–
Аланин-трансаминаза (ед./л) Alanine transaminase (units/l)	0.00–40.00	24.19	28.7	–
Общий белок (г/л) Total protein (g/l)	65.00–85.00	53.53	–	–
Альбумин (г/л) Albumin (g/l)	35.00–50.00	27.58	–	38.82
Мочевина (ммоль/л) Blood urea nitrogen (mmol/l)	1.70–8.30	4.12	1.95	–
Креатинин (мкмоль/л) Creatinine ($\mu\text{mol/l}$)	80.00–115.00	70.64	78.59	–
Глюкоза (ммоль/л) Glucose (mmol/l)	4.40–6.60	7.44	4.53	–
Натрий (ммоль/л) Sodium (mmol/l)	130.00–156.00	138.78	134	–
Калий (ммоль/л) Potassium (mmol/l)	3.40–5.30	4.25	3.77	–
С-реактивный белок (мг/л) C-reactive protein (mg/l)	0.00–10.00	66.57	1.71	4.21
Прокальцитонин (нг/мл) Procalcitonin (ng/ml)	<0.05	0.114	0.053	–
Лактатдегидрогеназа (ед./л) Lactate dehydrogenase (units/l)	135.00–225.00	188.94	126.13	–
Ферритин (мг/л) Ferritin (mg/l)	15.00–150.00	926.1	640.5	389.6
<i>Основные показатели гемостаза / Main parameters of hemostasis</i>				
ПВ (с) / PT (s)	9.7–11.8	12.4	11.3	–
АПТВ (с) / АРТТ (s)	21.6–28.7	37.2	36.9	30.4
Фибриноген (г/л) Fibrinogen (g/l)	1.70–4.20	4.28	3.47	–
D-димеры (мг/л) D-dimers (mg/l)	<0.5	5.34	2.2	–
<i>Анализ газового состава и кислотно-основного состояния крови / Blood gas composition and acid-base balance</i>				
$p_a\text{O}_2$ (мм рт. ст.) / (mm Hg)	80–100	108	–	–
$p_a\text{O}_2 / \text{FiO}_2$	≥ 400	514	–	–
A-aDO ₂ (мм рт. ст.) / (mm Hg)	7–13	10	–	–
Концентрация HCO_3^- (ммоль/л) HCO_3^- concentration (mmol/l)	22–28	30.5	–	–

П р и м е ч а н и е . Hb – гемоглобин; Ht – гематокрит; MCH – среднее содержание гемоглобина в эритроцитах; MCV – средний объем эритроцитов; RDW-CV – ширина распределения эритроцитов; ПВ – протромбиновое время; АПТВ – активированное парциальное тромбопластиновое время; $p_a\text{O}_2$ – парциальное давление кислорода в артериальной крови; FiO_2 – фракция инспираторная кислорода; A-aDO₂ – альвеолярно-артериальный градиент давления.

Н о т е . Hb – hemoglobin; Ht – hematocrit; MCH – mean corpuscular hemoglobin; MCV – mean corpuscular volume; RDW-CV – red cell distribution width, coefficient of variation; PT – prothrombin time; АРТТ – activated partial thromboplastin time; $p_a\text{O}_2$ – partial pressure of arterial oxygen; FiO_2 – fraction of inspired oxygen; A-aDO₂ – alveolar-arterial oxygen tension.

лись гипопроотеинемией и гипоальбуминемией, а также острофазовым сдвигом целого ряда воспалительных маркеров: шестикратное увеличение С-реактивного белка, выраженное увеличение прокальцитонина, ферритина. В тестах оценки общего состояния системы гемостаза клинически значимыми изменениями были увеличение концентрации в плазме D-димеров более чем в 10 раз по сравнению с верхней границей референсного интервала на фоне незначительного увеличения концентрации фибриногена на 10-й день лечения в пульмонологическом отделении.

Незначительная гипокоагуляция, преимущественно по показателю активированного парциального тромбопластинового времени, по-видимому, была обусловлена проводимой антикоагулянтной терапией. Изменений газового состава и кислотно-основного состояния крови при переводе в пульмонологическое отделение выявлено не было.

По результатам обследования в первый день госпитализации в пульмонологическое отделение был сделан вывод о купировании симптомов полиорганной недостаточности, критерии сепсиса у пациентки с 09.11.2022 не выявлялись.

При анализе данных компьютерной томографии высокого разрешения (КТВР) от 09.11.22 были выявлены по всем легочным полям обеих легких зоны повышенной плотности легочной паренхимы по типу «матового стекла», более плотные участки инфильтрации в средней и нижней долях справа перибронхиально, с нечеткими и неровными контурами. На этом фоне по всем легочным полям визуализировались разнокалиберные деструктивные полости с неравномерно утолщенными стенками, количественно больше в верхних долях, от 0.4 см в диаметре до крупной, размером 4.0×3.0 см в восьмом сегменте левого легкого с жидкостным содержимым, с тяжами к плевре. Бронхиальные разветвления с утолщенными стенками бронхов визуализировались до субсегментарных бронхов, без нарушения проходимости. В плевральных полостях с обеих сторон, а также в полости перикарда определялся выпот в небольшом объеме (рис. 1).

Учитывая выраженное увеличение плазменного содержания D-димеров с момента госпитализации в палату ОРИТ 29.10.22, наличие у больной других факторов риска венозных тромбоэмболических осложнений, включая тяжелую дыхательную недостаточность, пребывание в отделении интенсивной терапии, иммобилизацию в течение 8 суток, диагностические усилия врачей были направлены, помимо оценки эффек-

cavities of different sizes with unevenly thickened walls were visualized in all fields of the lungs, quantitatively larger in the upper lobes, from 0.4 cm in diameter to large, 4.0 × 3.0 cm in size, in the eighth segment of the left lung with liquid contents, with bands to the pleura. Bronchial branches with thickened bronchial walls were visualized up to the subsegmental bronchi, without airway obstruction. In the pleural cavities on both sides, as well as in the pericardial cavity, a mild effusion was detected (Fig. 1).

Taking into account the marked increase in plasma D-dimer levels from the moment of hospitalization in the ICU on October 29, 2022, the presence of other risk factors for venous thromboembolic complications in the patient, including severe respiratory failure, stay in the ICU, immobilization for 8 days, the efforts of doctors were focused, in addition to assessing the effectiveness of pneumonia treatment, on the timely diagnosis of PTE.

Electrocardiographic monitoring at the time of admission did not reveal any pathological changes except tachycardia. On October 30, 2022, repolarization abnormalities along the inferior lateral wall were detected, which showed no progress over time, but on November 02, 2022, polytopic extrasystoles were recorded amid tachycardia.

The echocardiography (EchoCG) technique and evaluation of its results complied with the recommendations for quantitative assessment of the structure and function of the cardiac chambers using the reference values of the Nomenclature and Standards Committee of the American Society of Echocardiography in the adapted translation into Russian, 2012 [17]. During the EchoCG examination on October 29, 2022 in the ICU, pericardial effusion was detected without signs of left ventricular compression (thickness of the pericardial fluid layer behind the posterior wall of the left ventricle during diastole was 4 mm). Minimal regurgitation on the valves of the heart and pulmonary artery was observed. During the repeated EchoCG on November 9, 2022, revealed enlargement of the right ventricular outflow tract and the fibrous ring of the valve and the pulmonary artery (PA) trunk, a change in the flow shape in the PA with a decrease in acceleration time were detected (Table 2). Using continuous-wave Doppler technique, based on the peak gradient of pulmonary regurgitation flow, an increase in the mean pulmonary artery pressure to 31 mm Hg, an intense spectrum of tricuspid regurgitation flow with an increased maximal velocity of 3.2 m/s compared to the reference values were determined. The calculated systolic pressure in the right ventricle was 46 mm Hg. At the

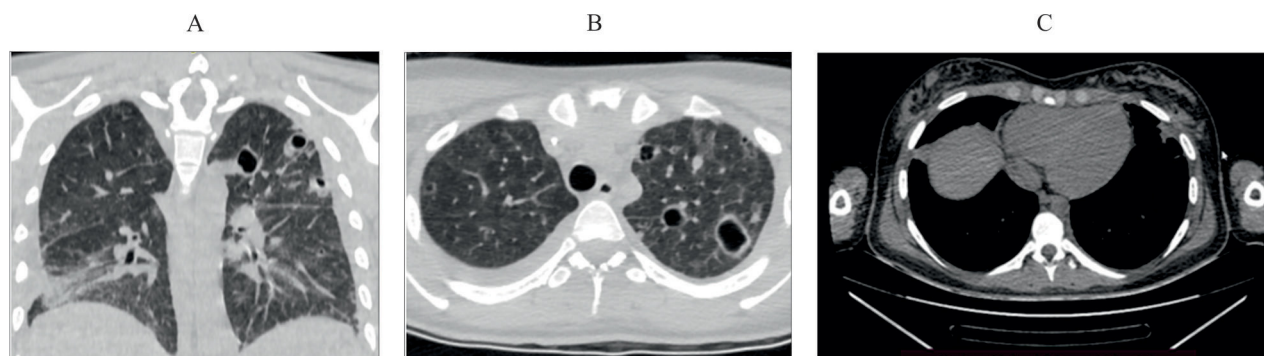


Рис. 1. Компьютерная томография легких высокого разрешения:

А – реконструкция во фронтальной проекции; В – аксиальный скан на уровне верхней трети трахеи, 17-й день заболевания (описание дано в тексте); С – компьютерная томография органов грудной клетки, 17-й день заболевания: гидроперикард малого объема

Fig. 1. High-resolution computed tomography images:

А – frontal view; В – axial view at the level of the upper third of the trachea, 17th day of the illness (description was given in the text); С – chest computed tomography, 17th day of illness: mild hydropericardium

тивности лечения пневмонии, на своевременную диагностику ТЭЛА.

При электрокардиографическом мониторинге на момент поступления кроме тахикардии никаких патологических изменений не наблюдалось. 30.10.22 было выявлено нарушение процессов реполяризации по нижнебоковой стенке, которое не прогрессировало в динамике, но 02.11.22 на фоне тахикардии регистрировалась политопная экстрасистолия.

Методика проведения эхокардиографии (ЭхоКГ) и оценка ее результатов соответствовали рекомендациям по количественной оценке структуры и функции камер сердца с использованием нормативных величин комитета по номенклатуре и стандартам Американского эхокардиографического общества в адаптированном переводе на русский язык, 2012 г. [17]. При ЭхоКГ-исследовании от 29.10.2022 в ОРИТ определялся перикардиальный выпот без признаков сдавления левого желудочка (толщина слоя перикардиальной жидкости за задней стенкой левого желудочка в диастолу – 4 мм). Отмечалась минимальная регургитация на клапанах сердца и легочной артерии. При повторном проведении ЭхоКГ от 09.11.2022 были выявлены расширение выносящего тракта правого желудочка и фиброзного кольца клапана и ствола легочной артерии (ЛА), изменение формы потока в ЛА с уменьшением времени ускорения (табл. 2). В режиме непрерывного доплера, по пиковому градиенту потока регургитации на клапане легочной артерии, были определены увеличение среднего давления в легочной артерии до 31 мм рт. ст., интенсивный спектр потока

same time, pathological aortic and mitral regurgitation was not determined using Doppler color imaging.

During the treatment, according to the EchoCG data from November 28, 2022, there was a significant improvement and normalization of the abovementioned parameters, resolution of pericardial effusion. Considering the dynamics of EchoCG results during the treatment, the dynamic changes in the size of the right ventricle and pulmonary artery trunk, Doppler parameters of blood flow through the tricuspid valve and pulmonary artery valve, the identified changes were assessed as characteristic of ARHF. No signs of chronic pulmonary hypertension were revealed in the patient.

During echocardiography on 09.11.2022, a small amount of fluid was detected in the pericardial cavity – 4 mm behind the inferior wall of the left ventricle during diastole. In echocardiographic signs of ARHF, an additional mean intensity formation, linked with the interventricular septum with a long peduncle, measuring 18×10 mm was visualized in the right ventricle outflow tract under the pulmonary valve leaflets (Fig. 2).

The additional formation was assessed as a thrombus of the right ventricle outflow tract. In addition, movable thread-like formations linked with the floating part of the thrombus were identified (Fig. 2, C).

CT angiography revealed a 10×15×8 mm filling defect in the right ventricular cavity, as well as uneven filling of the lobar arteries and orifices of the segmental arteries with contrast on both sides due to the parietal filling defects.

Таблица 2. Результаты эхокардиографического исследования пациентки 19 лет с тяжелой пневмонией, осложнившейся тромбозом легочной артерии и тромбозом полости правого желудочка, на фоне лечения
Table 2. Results of the echocardiographic examination of a 19-year-old female patient with severe pneumonia complicated by pulmonary thromboembolism and right ventricular thrombosis, during treatment

Показатель Parameter	Референсные значения Reference values	09.11.2022	28.11.2022
<i>Линейные измерения, В-режим / Linear measurements, B-mode</i>			
ММЛЖ (г) / LVM (g)	66–150	110	110
ММЛЖ/ППТ (г/м ²) LVM/TBA (g/m ²)	44–88	65	65
Толщина МЖП (см) / Thickness of IVS (cm)	0.6–0.9	0.9	0.9
Толщина ЗСЛЖ (см) / Thickness of PLVW (cm)	0.6–0.9	0.8	0.8
<i>Размеры и объемы левого желудочка / Left ventricular dimensions and volumes</i>			
КДР (см) EDD (cm)	3.9–5.3	4.2	4.2
КДР/ППТ (см/м ²)	2.4–3.2	2.5	2.5
КДО (мл) / EDV (ml)	56–104	79	79
КДО/ППТ (мл/м ²) EDV/TBA (ml/m ²)	35–75	47	47
КСО (мл) / ESV (ml)	19–49	27	20
КСО/ППТ (мл/м ²) ESV/TBA (ml/m ²)	12–30	16	12
Фракция выброса (%) / Ejection fraction (%)	≥55	66	74
<i>Размеры ПЖ и ЛА / RV and PA dimensions</i>			
Базальный диаметр ПЖ (см) / RV basal diameter (cm)	2.0–2.8	2.5	2.0
Средний диаметр ПЖ (см) / Mean RV diameter (cm)	2.7–3.3	3.1	2.7
Продольный размер ПЖ (см) / Longitudinal RV size (cm)	7.1–7.9	7.7	7.3
Размер выносящего тракта ПЖ над клапаном ЛА (см) RV outflow tract size above the valve of pulmonary trunk (cm)	1.7–2.3	3.0	2.2
Размер ЛА (см) / PA size (cm)	1.5–2.1	2.6	2.0
Фракция изменения площади ПЖ (%) Fraction of change in RV area (%)	32–60	56	45
<i>Дополнительные линейные размеры / Additional linear dimensions</i>			
Размеры левого предсердия (см) / Left atrium size (cm)	2.7–3.8	3.6	3.6
Малый диаметр правого предсердия (см) Right atrium minor diameter (cm)	2.9–4.5	3.4	3.4
Диаметр корня аорты (см) / Aortic root diameter (cm)	2.4–3.0	2.9	2.9
Диаметр нижней полой вены (см) / Inferior vena cava diameter (cm)	1.5–1.7	1.7	1.5
<i>Допплерографические измерения / Doppler measurements</i>			
Систолический градиент на аортальном клапане (мм рт. ст.) Aortic valve systolic gradient (mm Hg)	<13	6	5
Систолический градиент на клапане ЛА (мм рт. ст.) Pulmonary systolic gradient (mm Hg)	<9	4	3.4
Максимальный градиент регургитации на клапане ЛА (мм рт. ст.) Maximum pulmonary regurgitation gradient (mm Hg)	<15	26	<15
Максимальный градиент регургитации на трикуспидальном клапане (мм рт. ст.) Maximal tricuspid regurgitation gradient (mm Hg)	<25	41	20
Максимальная скорость трикуспидальной регургитации (м/с) Maximal tricuspid regurgitation velocity (m/s)	<2.8	3.2	2.2
Систолическое давление в ЛА (мм рт. ст.) Systolic pressure in PA (mm Hg)	<30	46	25
Среднее давление в ЛА (мм рт. ст.) Mean pressure in PA (mm Hg)	<20	31	<20

П р и м е ч а н и е . ММЛЖ – масса миокарда левого желудочка; ППТ – площадь поверхности тела; МЖП – межжелудочковая перегородка; ЗСЛЖ – задняя стенка левого желудочка; КДР – конечно-диастолический размер; КДО – конечно-диастолический объем; КСО – конечно-систолический объем; ПЖ – правый желудочек; ЛА – легочная артерия.

Н о т е . LVM – left ventricular mass; TBA – total body area; IVS – interventricular septum; PLVW – posterior LV wall; EDD – end-diastolic dimension; EDV – end-diastolic volume; ESV – end-systolic volume; RV – right ventricle; PA – pulmonary artery.

трикуспидальной регургитации с увеличенной по сравнению с референсными значениями максимальной скоростью 3.2 м/с. Расчетное систолическое давление в правом желудочке составило 46 мм рт. ст. При этом на аортальном и митральном клапанах патологической регургитации в режиме цветового доплера не определялось.

На фоне лечения, по данным ЭхоКГ от 28.11.2022, наблюдалось значительное улучшение и нормализация вышеописанных показателей, разрешение перикардального выпота. Учитывая динамику показателей ЭхоКГ на фоне лечения, динамические изменения размеров правого желудочка и ствола легочной артерии, доплерографических показателей кровотока по трикуспидальному клапану и клапану легочной артерии, выявленные изменения расценены как характерные для ОПЖСН. Признаков хронической легочной гипертензии у пациентки не выявлено.

При проведении ЭхоКГ 09.11.2022 в полости перикарда определялось небольшое количество жидкости – 4 мм за нижней стенкой левого желудочка в диастолу. На фоне эхокардиографических симптомов ОПЖСН в выносящем отделе ПЖ под створками клапана ЛА было визуализировано дополнительное образование средней интенсивности, связанное с межжелудочковой перегородкой длинной ножкой, размером 18×10 мм (рис. 2).

Дополнительное образование было расценено как тромб выносящего отдела правого желудочка. Кроме того, были выявлены подвижные нитевидные образования, связанные с флотирующей частью тромба (рис. 2, С).

Проведение КТ-ангиографии позволило выявить в полости правого желудочка дефект наполнения 10×15×8 мм, а также неравномерное заполнение контрастом долевых и устьев сегментарных артерий с обеих сторон вследствие наличия пристеночных дефектов наполнения.

Таким образом, был подтвержден тромбоз полости правого желудочка и двухсторонняя ТЭЛА в стадии восстановления легочного кровотока, которая и явилась наиболее вероятной причиной острой правожелудочковой сердечной недостаточности.

Для исключения эндогенных факторов тромбофилии проведено исследование системы гемостаза, выявившее недостаточный антикоагулянтный потенциал системы протеина С (табл. 3). В то время как снижение активности антитромбина III можно объяснить характерной для тяже-

Thus, thrombosis of the right ventricular cavity and bilateral PTE in the stage of restoration of pulmonary blood flow were confirmed which was the most likely cause of acute right heart failure.

To exclude endogenous thrombophilia factors, a study of the hemostasis system was performed which revealed an insufficient anticoagulant potential of the protein C system (Table 3). While a decrease in the antithrombin III activity can explain by coagulopathy characteristic of severe respiratory infection and sepsis, a decrease in the anticoagulant potential of the protein C system required clarification of the causes in the additional research. Alterations in the protein C system can be due to a deficiency of both the anticoagulant itself and its cofactors – thrombomodulin, free protein S. Coagulation factor V resistance to protein C is the most clinically significant disorder causing a decrease in the anticoagulant potential of this system. Among the acquired causes of resistance to protein C, the most common is the presence in the blood plasma of antibodies produced by the immune system against the body's own phospholipids of cell membranes (so-called lupus anticoagulant, a marker of antiphospholipid syndrome). The patient's hemostasis system examination revealed no signs of antiphospholipid syndrome. The most important congenital causes of resistance to protein C include mutation of the coagulation factor V (Leiden) gene, which is an established risk factor for venous thromboembolic complications [18]. To exclude this type of hereditary thrombophilia, it is necessary to study the genetic risk factors for thrombophilia.

The complexity of this case was that the patient was diagnosed with clinically obvious thrombophilia which manifested itself by pulmonary thromboembolism and the right ventricular thrombosis, during severe pneumonia, during the period of its reversal and during the relief of sepsis, therefore it was necessary to provide appropriate anticoagulant therapy. At the same time, it was necessary to take into account the risks of bleeding. To assess the risk of venous thromboembolic complications (VTEC), an adapted Russian version of the IMPROVE DD score was used, and to assess the risk of bleeding, an adapted Russian version of the IMPROVE score [19] was used. The risk of recurrent VTEC in the patient turned out to be increased, amounting to ≥ 5 on the IMPROVE DD (Table 4). When using the IMPROVE score, no factors of increased risk of bleeding were identified.

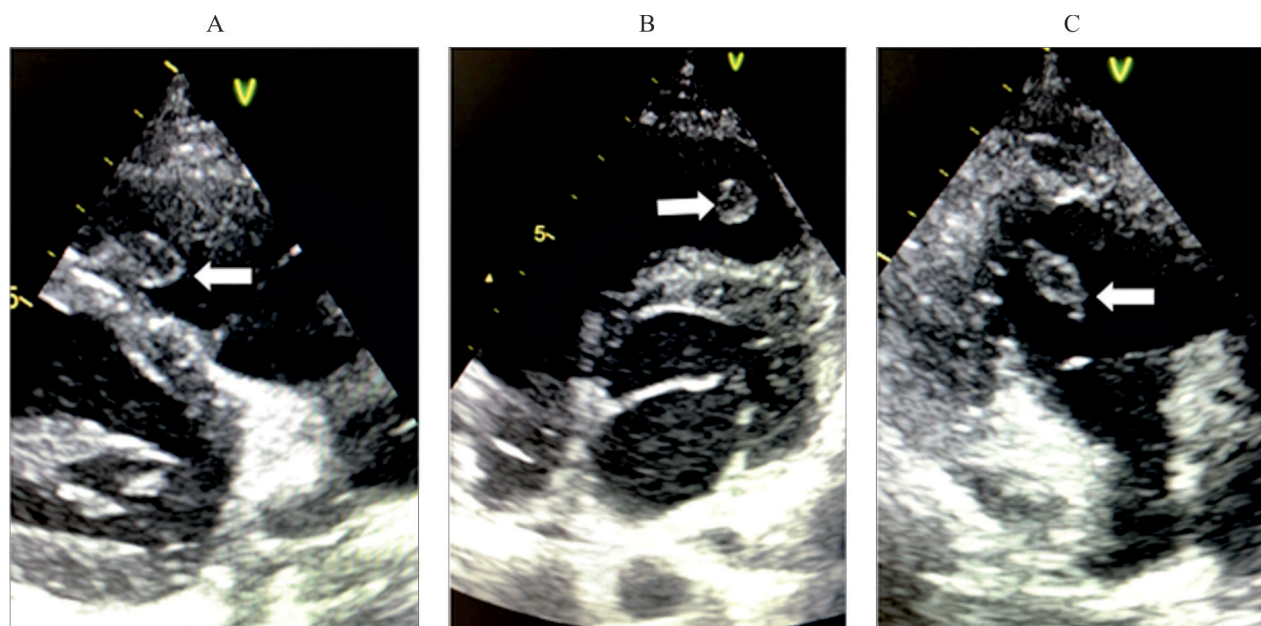


Рис. 2. Эхокардиограммы от 09.11.2022:

А – в выводном отделе правого желудочка под створками клапана легочной артерии лоцируется дополнительное образование средней интенсивности, связанное с межжелудочковой перегородкой длинной ножкой, размером 18×10 мм; В – краевая флотирующая часть образования размером 9×10 мм шаровидной формы; С – нитевидное подвижное образование, связанное с флотирующей частью тромба

Fig. 2. Echocardiograms from 09.11.2022:

А – in the left ventricular outflow tract, under the pulmonary valve leaflets, an additional formation of mean intensity is localized, linked with the interventricular septum by a long peduncle, measuring 18×10 mm; В – marginal floating part of the formation measuring 9×10 mm, spherical in shape; С – thread-like movable formation linked with the floating part of a thrombus

лой респираторной инфекции и сепсиса коагулопатией, снижение антикоагулянтного потенциала системы протеина С требовало уточнения причин в ходе дополнительных исследований. К нарушениям в системе протеина С может приводить дефицит как самого антикоагулянта, так и его кофакторов – тромбомодулина, свободного протеина S. Резистентность к протеину С коагуляционного фактора V является наиболее клинически значимым нарушением, вызывающим снижение антикоагулянтного потенциала в этой системе. Среди приобретенных причин резистентности к протеину С наиболее частой является присутствие в плазме крови антител, вырабатываемых иммунной системой против собственных фосфолипидов клеточных мембран (так называемого волчаночного антикоагулянта – маркера антифосфолипидного синдрома). У пациентки по результатам исследования системы гемостаза не выявлено признаков антифосфолипидного синдрома. К важнейшим врожденным причинам резистентности к протеину С относится мутация гена коагуляционного фактора V (Leiden), являющаяся установленным фактором риска венозных тромбоэмболических

Based on the standardized assessment of the risks of thrombotic and thromboembolic complications, taking into account the exclusion of high-risk factors for bleeding in the patient, a decision was made to continue anticoagulant therapy with a regimen adjustment: enoxaparin was discontinued and a direct oral anticoagulant, rivaroxaban was prescribed at a dose of 20 mg per day.

During the treatment, positive clinical and laboratory dynamics were noted: a decrease in body temperature to subfebrility, in leukocytosis, in the concentration of C-reactive protein and procalcitonin (Table 1).

During the control CT on November 23, 2022, a positive dynamics in the course of bilateral septic pneumonia in the stage of regression were revealed – obliteration of small cavities of destruction, a significant decrease in infiltrative changes. During the control EchoCG on November 27, 2022, no additional formations in the RV were visualized; changes characteristic of acute right heart failure were not detected.

On November 29, 2022, the patient was discharged from the hospital with clinical recovery and transferred to be followed up in the outpatient set-

Таблица 3. Показатели системы гемостаза у пациентки 19 лет с тяжелой пневмонией, осложнившейся тромбоэмболией легочной артерии и тромбозом полости правого желудочка**Table 3.** Hemostasis system parameters in a 19-year-old female patient with severe pneumonia complicated by pulmonary thromboembolism and right ventricular thrombosis

Показатель Parameter	Референсный интервал Reference values	Результат исследования на 11.11.2022 Test result as of 11.11.2022
Протромбиновое время свертывания плазмы (с) Prothrombin time (s)	10.0–13.2	13.1
Международное нормализованное отношение (ед.) International normalized ratio (units)	0.90–1.20	1.19
Активированное парциальное тромбопластиновое время свертывания плазмы (с) Activated partial thromboplastin time (s)	23.0–33.0	37.3
Концентрация фибриногена в плазме по Клаусу (г/л) Plasma fibrinogen concentration according to Claus (g/l)	2.0–4.0	4.3
Тромбиновое время свертывания плазмы (с) Thrombin clotting time of plasma (s)	14.0–21.0	19.8
Коагуляционная активность фактора VIII (%) Coagulation activity of factor VIII (%)	70.0–150.0	92.3
Коагуляционная активность фактора IX (%) Coagulation activity of factor IX (%)	70.0–120.0	111.4
Коагуляционные тесты на определение волчаночного антикоагулянта Coagulation tests for lupus anticoagulant	Отрицательный Negative	Отрицательный Negative
Активность антитромбина III (%) / Antithrombin III activity (%)	80.0–120.0	112.6
Антикоагулянтный потенциал системы протеина С, нормализованное отношение (ед.)* Anticoagulant potential of the protein C system, normalized ratio (units)*	0.69–1.56	0.62
Активность плазминогена (%) / Plasminogen activity (%)	75.0–125.0	124.2
Активность фактора фон Виллебранда (%) Von Willebrand factor activity (%)	70.0–130.0	72.0
XIIa-зависимый фибринолиз (мин) / XIIa-dependent fibrinolysis (min)	4.0–10.0	9.0
Агрегация тромбоцитов, индуцированная адреналином (%) Adrenaline-induced platelet aggregation (%)	61.0–81.0	61.0
Агрегация тромбоцитов, индуцированная аденозиндифосфатом (%) Adenosine diphosphate-induced platelet aggregation (%)	65.0–85.0	64.0
Агрегация тромбоцитов, индуцированная ристомисином (%) Ristomycin-induced platelet aggregation (%)	65.0–85.0	72.0

* Антикоагулянтный потенциал системы протеина С определялся в тесте «протеин С глобал» – скрининговое исследование для выявления изменений в системе протеина С.

The anticoagulant potential of the protein C system was determined using a global test for detecting changes in the protein C system.

осложнений [18]. Для исключения этого типа наследственной тромбофилии необходимо исследование генетических факторов риска тромбофилии.

Сложность данного клинического случая заключалась в том, что у пациентки была диагностирована клинически явная тромбофилия, проявившаяся легочной тромбоэмболией и тромбозом полости правого желудочка на фоне тяжелой пневмонии, в периоде обратного ее развития и при купировании септического процесса, в связи с чем было необходимо проведение адекватной антикоагулянтной терапии. При этом необходимо было учесть риски кровоте-

ting. The patient was recommended testing for polymorphic genetic markers of hemostasis system proteins to exclude endogenous risk factors for thrombotic and thromboembolic complications, and to be followed up by a cardiologist to assess the outcomes of acute right heart failure and determine further management tactics. The patient was given recommendations for secondary pharmacological prevention of VTEC: 12 hours after stopping subcutaneous administration of enoxaparin, start regular intake of rivaroxaban – one 20 mg tablet once a day, which is consistent with the experience of the drug use in clinical trials on the effectiveness of VTEC prevention in non-surgical patients [15, 20].

Таблица 4. Оценка риска венозных тромбозмболических осложнений у пациентки 19 лет в период госпитализации в пульмонологическом отделении по поводу тяжелой пневмонии, осложнившейся тромбозмболией легочной артерии и тромбозом полости правого желудочка, по шкале IMPROVE DD

Table 4. Risk assessment of venous thromboembolic complications in a 19-year-old female patient during hospitalization in the pulmonology department for severe pneumonia complicated by pulmonary thromboembolism and right ventricular thrombosis, using the IMPROVEDD score

Фактор риска Risk factor	Оценка в баллах* Score in points *
Тромбоз глубоких вен/тромбозмболия легочной артерии в анамнезе Deep vein thrombosis/pulmonary thromboembolism in a history	3
Уровень D-димера ≥ 2 раза верхней границы нормы D-dimer level ≥ 2 times the upper limit of the reference range	2
Известная тромбофилия (дефицит протеина С или S, фактор V (Лейден), волчаночный антикоагулянт) Known thrombophilia (protein C or S deficiency, factor V (Leiden), lupus anticoagulant)	0–2**
Парез или паралич нижних конечностей / Paresis or paralysis of the lower extremities	0
Злокачественное новообразование (кроме меланомы кожи) в любое время последние 5 лет Malignant neoplasm (except skin melanoma) at any time in the last 5 years	0
Пребывание в отделении (блоке) интенсивной терапии / Stay in the intensive care unit	0
Полная иммобилизация ≥ 7 сут (нахождение в кровати или на стуле с выходом в туалет или без него) Complete immobilization ≥ 7 days (staying in bed or on a chair with or without access to the toilet)	0
Возраст >60 лет / Age >60 years	0
Итого / Total	≥ 5

*При сумме баллов ≥ 2 риск венозных тромбозмболических осложнений считается повышенным.
If the score is ≥ 2 , the risk of venous thromboembolic complications is considered increased.

** Оценка требует дообследования в амбулаторных условиях для исключения врожденного дефицита протеина С, мутации фактора V (Leiden).
The assessment requires additional examination in the outpatient settings to exclude congenital protein C deficiency and factor V (Leiden) mutation.

ний. Для оценки риска венозных тромбозмболических осложнений использовали адаптированную версию на русском языке шкалы IMPROVE DD, для оценки риска кровотечений – адаптированную версию на русском языке шкалы IMPROVE [19]. Риск повторных венозных тромбозмболических осложнений у пациентки оказался повышенным, составив по шкале IMPROVE DD ≥ 5 баллов (табл. 4). При использовании прогностической шкалы IMPROVE не было выявлено факторов повышенного риска кровотечений.

На основании стандартизированной оценки рисков тромботических и тромбозмболических осложнений, с учетом исключения факторов высокого риска кровотечений у пациентки было принято решение о продолжении антикоагулянтной терапии с коррекцией режима: прекращено применение эноксапарина и назначен прямой оральный антикоагулянт – ривароксабан в дозе 20 мг в сутки.

На фоне проводимого лечения отмечалась положительная клиничко-лабораторная динамика: снижение температурной реакции до субфебрильных значений, уменьшение лейкоцитоза, снижение концентрации С-реактивного белка и прокальцитонина (см. табл. 1).

DISCUSSION

This case report presents the features of the course of severe pneumonia complicated by right ventricular thrombosis and bilateral PTE, the difficulties of diagnosis and determination of treatment tactics for this combined pathology. Among the risk factors for the development of thrombotic and thromboembolic complications, in addition to severe respiratory failure, staying in a critical condition in the intensive care unit, it is necessary to note the combination of highly contagious pathogens of respiratory infection present in the patient's respiratory tract: coronavirus SARS-CoV-2, bacterial pathogens *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella* spp.

Severe pneumonia associated with COVID-19, bacterial infection and sepsis are assessed by experts as independent risk factors for VTEC requiring monitoring and correction of key indicators of coagulopathy, primarily plasma concentration of D-dimers [20–22]. The highest frequency of PTE is noted by researchers in hospitalized patients with COVID-19, with a pooled estimate of 32% (95% confidence interval (CI) 25–40%), despite the conventional preventive anticoagulant therapy with heparins [22, 23]. In patients with community-acquired pneumonia, the prevalence of VTEC in intensive care units reaches cumulative rates of 10.7% (95% CI 9.0–12.6) in pre-

При проведении контрольного КТ-исследования от 23.11.2022 была выявлена положительная динамика течения двусторонней септической пневмонии в стадии обратного развития – облитерация мелких полостей деструкции, значительное уменьшение инфильтративных изменений. При контрольном ЭхоКТ-исследовании от 27.11.2022 дополнительных образований в ПЖ не визуализировалось; изменения, характерные для острой правожелудочковой сердечной недостаточности, не выявлялись.

29.11.22 пациентка была выписана из стационара с клиническим выздоровлением и переведена на амбулаторное наблюдение. Рекомендовано исследование полиморфных генетических маркеров белков системы гемостаза для исключения эндогенных факторов риска тромботических и тромбоэмболических осложнений, наблюдение кардиолога для оценки исходов острой правожелудочковой сердечной недостаточности и определения дальнейшей тактики наблюдения. Пациентке даны рекомендации по вторичной фармакологической профилактике венозных тромбоэмболических осложнений (ВТЭО): через 12 ч после прекращения подкожного введения эноксапарина начать регулярный прием ривароксабана – одну таблетку 20 мг один раз в день, что соответствует опыту применения препарата в клинических исследованиях эффективности профилактики ВТЭО у нехирургических больных [15, 20].

ОБСУЖДЕНИЕ

В данном клиническом наблюдении представлены особенности течения тяжелой пневмонии, осложненной тромбозом полости правого желудочка и двусторонней ТЭЛА, трудности диагностики и определения тактики лечения при этой сочетанной патологии. Среди факторов риска развития тромботических и тромбоэмболических осложнений, помимо тяжелой дыхательной недостаточности, пребывания в критическом состоянии в реанимационном отделении, следует отметить сочетание высокопатогенных инфекционных возбудителей респираторной инфекции, присутствовавших в дыхательных путях пациентки: коронавируса SARS-CoV-2, бактериальных патогенов *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella* spp.

Тяжелые пневмонии, ассоциированные с COVID-19, бактериальной инфекцией и сепсисом, оцениваются экспертами как независимые факторы риска венозных тромбоэмболических осложнений, требующих контроля и коррекции ключевых показателей коагулопатии, прежде

ventive anticoagulant-naïve patients, and 6.4% (95% CI 5.4–7.6) in thromboprophylaxis with anticoagulants [24, 25]. Among the reasons limiting the effectiveness of heparins in patients with severe pneumonia associated with COVID-19 and sepsis, acute coagulopathies associated with the “cytokine storm”, with sepsis-induced apoptosis of neutrophilic leukocytes with the release of neutrophil extracellular traps have been intensively studied in recent years [26–28]. These mechanisms are a manifestation of the relationship between maladaptive immune response and activation of reactions of hemocoagulation in patients with severe respiratory infections, which trigger widespread damage to the vascular endothelium, capturing the microcirculatory bed, impaired blood supply of the organs, thrombotic and thromboembolic complications.

Despite the relatively low prevalence of right ventricular thrombosis in patients with severe pneumonia, this complication has a significant impact on the risk of hospital and long-term mortality of patients, requiring increased efficiency of diagnosis and treatment, taking into account the risks of adverse effects of therapy and comorbid factors [9–12]. It should be noted that to date, conventional criteria for assessing the risk of venous thromboembolic complications, including PTE, venous thrombosis, depending on the stratification of hospitalized non-surgical patients, taking into account the pathogenetic features of inflammation and the risk of acquired coagulopathy in these conditions, which complicates the assessment of the prognosis and feasibility of preventive use of anticoagulants.

A special feature of this case report was the development of pulmonary thromboembolism after the reversal of sepsis symptoms with the effective etiotropic and pathogenetic therapy of pneumonia. At the same time, the development of right ventricular thrombosis was not accompanied by clinical, laboratory or electrocardiographic signs of myocarditis. The patient had no signs of previous chronic circulatory diseases. In our opinion, one of the possible causes of atypical conditions for the development of thrombotic and thromboembolic complications may be hereditary thrombophilia, which was preliminary confirmed by identifying dysfunctions of the protein C system, in the absence of criteria for sepsis-induced coagulopathy or disseminated intravascular coagulation syndrome according to laboratory hemostasis testing. In this case report, the tactic of diagnosis and treatment correction of thrombophilia associated with the severe pneumonia and COVID-19 are demonstrated and critically analyzed. The criterion for the effective correction of manifesting thrombo-

всего плазменной концентрации D-димеров [20–22]. Наиболее высокая частота ТЭЛА отмечается исследователями у госпитализированных больных с инфекционным заболеванием COVID-19, с объединенной оценкой 32 % (95% доверительный интервал (ДИ) 25–40 %), несмотря на проведение стандартной профилактической антикоагулянтной терапии гепаринами [22, 23]. У пациентов с внебольничной пневмонией распространенность ВТЭО достигает в отделениях интенсивной терапии кумулятивных показателей 10.7 % (95% ДИ 9.0–12.6) у пациентов, не получавших профилактической антикоагулянтной терапии, и 6.4 % (95% ДИ 5.4–7.6) на фоне антикоагулянтной тромбопрофилактики [24, 25]. Среди причин, ограничивающих эффективность гепаринов у больных с тяжелым течением пневмонии, ассоциированной с COVID-19, сепсисом, в последние годы интенсивно изучаются острые коагулопатии, ассоциированные с синдромом «цитокинового шторма», с сепсис-индуцированным апоптозом нейтрофильных лейкоцитов с высвобождением нейтрофильных внеклеточных ловушек [26–28]. Эти механизмы являются проявлением взаимосвязи между дезадаптивными реакциями иммунного ответа и активацией гемокоагуляционных реакций у больных с тяжелыми респираторными инфекциями, которые инициируют распространенное повреждение эндотелия сосудов, захватывая микроциркуляторное русло, нарушения кровоснабжения органов, тромботические и тромбоэмболические осложнения.

Несмотря на относительно невысокую частоту тромбоза полости правого желудочка у пациентов с тяжелой пневмонией, это осложнение оказывает значительное влияние на риск госпитальной и отдаленной летальности больных, требуя повышения эффективности распознавания и лечения, с учетом рисков нежелательных эффектов терапии и коморбидных факторов [9–12]. Необходимо отметить, что до настоящего времени не разработаны общепринятые критерии оценки риска венозных тромбоэмболических осложнений, в том числе ТЭЛА, венозного тромбоза, в зависимости от стратифицированной категории госпитализированных нехирургических больных, с учетом патогенетических особенностей воспаления и риска приобретенной коагулопатии при этих состояниях, что затрудняет оценку прогноза и целесообразности профилактического применения антикоагулянтов.

Особенностью данного клинического наблюдения явилось развитие тромбоэмболии легоч-

philia was, in addition to positive clinical and echocardiographic dynamics, a significant decrease in the plasma concentration of D-dimers during etiotropic and adjuvant therapy, including anticoagulants.

CONCLUSION

Severe pneumonia remains a difficult disease to treat, due to difficulties in timely diagnosis and therapeutic decision, and complications that often require a multidisciplinary approach. Thrombotic and thromboembolic cardiovascular complications of pneumonia often lead to the development of life-threatening conditions, their frequency increases in severe forms of respiratory infection.

Right ventricular thrombosis is often associated with pulmonary thromboembolism, acute right heart failure, and increased risks of mortality. Severe viral and bacterial infections have been described as etiologic factors for this rare thrombotic event.

Timely diagnosis and effective treatment of intracardiac thrombosis in individual clinical cases of severe pneumonia can prevent the development of irreversible cardiovascular consequences and reduce the risk of fatal outcome.

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

ной артерии в период после купирования симптомов сепсиса, на фоне эффективной этиотропной и патогенетической терапии пневмонии. При этом развитие тромбоза полости правого желудочка не сопровождалось клиническими, лабораторными или электрокардиографическими симптомами миокардита. У пациентки отсутствовали симптомы предшествовавших хронических заболеваний системы кровообращения. Одной из возможных причин нетипичных условий развития тромботических и тромбоэмболических осложнений может быть, по нашему мнению, наследственно обусловленная тромбофилия, что получило предварительное подтверждение при выявлении нарушений функционирования системы протеина С, при отсутствии критериев сепсис-индуцированной коагулопатии или синдрома диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови по данным лабораторных исследований системы гемостаза. В настоящем клиническом наблюдении продемонстрирована и подвергнута критическому анализу тактика диагностики и коррекции ассоции-

рованной с тяжелой пневмонией и COVID-19 тромбозии. Критерием эффективной коррекции манифестной тромбозии явилось, помимо положительной клинической и эхокардиографической динамики, значительное снижение концентрации D-димеров в плазме крови на фоне этиотропной и адъювантной терапии, включавшей антикоагулянты.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Тяжелая пневмония остается сложным для лечения заболеванием, что обусловлено трудностями своевременной диагностики и лечения и осложнениями, часто требующими мультидисциплинарного подхода. Тромботические и тромбоэмболические сердечно-сосудистые осложнения пневмонии нередко приводят к развитию жизнеугрожающих состояний, частота их возрас-

тает при тяжелых формах респираторной инфекции.

Тромбоз полости правого желудочка часто ассоциируется с тромбоэмболией легочной артерии, острой правожелудочковой сердечной недостаточностью, повышенными рисками летального исхода. Среди этиологических факторов этого редкого тромботического события описаны тяжелые вирусные и бактериальные инфекции.

Своевременная диагностика и эффективное лечение внутрисердечных тромбозов в отдельных клинических случаях тяжелой пневмонии могут предотвратить развитие необратимых сердечно-сосудистых последствий, снизить риски летального исхода.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Kollias A., Kyriakoulis K.G., Lagou S. et al. Venous thromboembolism in COVID-19: A systematic review and meta-analysis // *Vasc. Med.* 2021;26(4):415-425. DOI: 10.1177/1358863X21995566.
2. Malas M.B., Naazie I.N., Elsayed N. et al. Thromboembolism risk of COVID-19 is high and associated with a higher risk of mortality: A systematic review and meta-analysis // *eClinicalMedicine*. 2020;29:100639. DOI: 10.1016/j.eclinm.2020.100639.
3. Zuin M., Barco S., Giannakoulas G. et al. Risk of venous thromboembolic events after COVID-19 infection: a systematic review and meta-analysis // *J. Thromb. Thrombolysis*. 2023;55(3):490-498. DOI: 10.1007/s11239-022-02766-7.
4. Boyd S., Sheng Loh K., Lynch J. et al. The incidence of venous thromboembolism in critically ill patients with SARS-CoV-2 infection compared with critically ill influenza and community-acquired pneumonia patients: A retrospective chart review // *Med. Sci (Basel)*. 2022;10(2):30. DOI: 10.3390/medsci10020030.
5. Pisani M., Orsi F.A., Annichino-Bizzacchi J.M. et al. Venous thromboembolism in critically ill patients with pneumonia in the pre-COVID-19 era: Data from a large public database // *Res. Pract. Thromb. Haemost.* 2022;6(7):e12816. DOI: 10.1002/rth2.12816.
6. Corrales-Medina V.F., Musher D.M., Wells G.A. et al. Cardiac complications in patients with community-acquired pneumonia: incidence, timing, risk factors, and association with short-term mortality // *Circulation*. 2012;125(6):773-781. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.111.040766.
7. Pieralli F., Vannucchi V., Nozzoli C. et al; FADOI-ICECAP Study Group. Acute cardiovascular events in patients with community acquired pneumonia: results from the observational prospective FADOI-ICECAP study // *BMC Infect. Dis.* 2021;21(1):116. DOI: 10.1186/s12879-021-05781-w.
8. Clayton T.C., Gaskin M., Meade T.W. Recent respiratory infection and risk of venous thromboembolism:

REFERENCES

1. Kollias A., Kyriakoulis K.G., Lagou S. et al. Venous thromboembolism in COVID-19: A systematic review and meta-analysis. *Vasc. Med.* 2021;26(4):415-425. DOI: 10.1177/1358863X21995566.
2. Malas M.B., Naazie I.N., Elsayed N. et al. Thromboembolism risk of COVID-19 is high and associated with a higher risk of mortality: A systematic review and meta-analysis. *eClinicalMedicine*. 2020;29:100639. DOI: 10.1016/j.eclinm.2020.100639.
3. Zuin M., Barco S., Giannakoulas G. et al. Risk of venous thromboembolic events after COVID-19 infection: a systematic review and meta-analysis. *J. Thromb. Thrombolysis*. 2023;55(3):490-498. DOI: 10.1007/s11239-022-02766-7.
4. Boyd S., Sheng Loh K., Lynch J. et al. The incidence of venous thromboembolism in critically ill patients with SARS-CoV-2 infection compared with critically ill influenza and community-acquired pneumonia patients: A retrospective chart review. *Med. Sci (Basel)*. 2022;10(2):30. DOI: 10.3390/medsci10020030.
5. Pisani M., Orsi F.A., Annichino-Bizzacchi J.M. et al. Venous thromboembolism in critically ill patients with pneumonia in the pre-COVID-19 era: Data from a large public database. *Res. Pract. Thromb. Haemost.* 2022;6(7):e12816. DOI: 10.1002/rth2.12816.
6. Corrales-Medina V.F., Musher D.M., Wells G.A. et al. Cardiac complications in patients with community-acquired pneumonia: incidence, timing, risk factors, and association with short-term mortality. *Circulation*. 2012;125(6):773-781. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.111.040766.
7. Pieralli F., Vannucchi V., Nozzoli C. et al; FADOI-ICECAP Study Group. Acute cardiovascular events in patients with community acquired pneumonia: results from the observational prospective FADOI-ICECAP study. *BMC Infect. Dis.* 2021;21(1):116. DOI: 10.1186/s12879-021-05781-w.
8. Clayton T.C., Gaskin M., Meade T.W. Recent respiratory infection and risk of venous thromboembolism:

- case-control study through a general practice database // *Int. J. Epidemiol.* 2011;40(3):819-827. DOI: 10.1093/ije/dyr012.
9. Venkata C., Aruchamy S., Kasal J. Acute right ventricular dysfunction in a critically ill patient with COVID-19 // *CASE (Phila)*. 2020;4(6):474-476. DOI: 10.1016/j.case.2020.08.007.
10. Huang Y., Li L.C., Li Y.X. et al. Development and validation of a risk model for intracardiac thrombosis in patients with dilated cardiomyopathy: a retrospective study // *Sci. Rep.* 2024;14(1):1431. DOI: 10.1038/s41598-024-51745-w.
11. Gaspar V., Silva B., Ambrosio I. et al. Right ventricle thrombus in a massive pulmonary embolism COVID-19 patient // *Cureus*. 2023;15(8):e43937. DOI: 10.7759/cureus.43937.
12. Mitsis A., Alexi A., Constantinides T. et al. A case of right ventricular thrombus in a patient with recent COVID-19 infection // *Cureus*. 2022;14(5):e25150. DOI: 10.7759/cureus.25150.
13. Руднов В.А., Кулабухов В.В. Сепсис-3: обновленные ключевые положения, потенциальные проблемы и дальнейшие практические шаги // *Вестник анестезиологии и реанимации*. 2016;13(4):4-11. DOI: 10.21292/2078-5658-2016-13-4-4-11.
14. Авдеев С.Н., Белобородов В.Б., Белоцерковский Б.З. и др. Тяжелая внебольничная пневмония у взрослых. Клинические рекомендации Федерации анестезиологов и реаниматологов России // *Анестезиология и реаниматология*. 2022;1:6-35. DOI: 10.17116/anaesthesiology20220116.
15. Явелов И.С. Антикоагулянтная терапия в профилактике и лечении венозных тромбоэмболических осложнений // *Флебология*. 2010;4(4):4-14.
16. Рубрикатор клинических рекомендаций. Флебит и тромбофлебит поверхностных сосудов. 2021 год. URL: https://cr.minzdrav.gov.ru/recomend/668_1 (дата обращения: 07.07.2024).
17. Васюк Ю.А., Копеева М.В., Корнеева О.Н. и др. Рекомендации по количественной оценке структуры и функции камер сердца // *Российский кардиологический журнал*. 2012;3(95):1-28.
18. Селиверстов Е.И., Лобастов К.В., Илюхин Е.А. и др. Профилактика, диагностика и лечение тромбоза глубоких вен. Рекомендации российских экспертов // *Флебология*. 2023;17(3):152-296. DOI: 10.17116/flebo202317031152.
19. Явелов И.С., Драпкина О.М. COVID-19: состояние системы гемостаза и особенности антитромботической терапии // *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2020;19(3):310-318. DOI: 10.15829/1728-8800-2020-2571.
20. Mazzolai L., Agno W., Alatri A. et al. Second consensus document on diagnosis and management of acute deep vein thrombosis: updated document elaborated by the ESC Working Group on aorta and peripheral vascular diseases and the ESC Working Group on pulmonary circulation and right ventricular function // *Eur. J. Prev. Cardiol.* 2022;29(8):1248-1263. DOI: 10.1093/eurjpc/zwab088.
21. Галстян Г.М. Коагулопатия при COVID-19 // *Пульмонология*. 2020;30(5):645-657. DOI: 10.18093/0869-0189-2020-30-5-645-657.
22. Henrina J., Santosa Putra I.C., Cahyadi I. et al. Clinical characteristics and outcomes of venous thrombo-
- case-control study through a general practice database. *Int. J. Epidemiol.* 2011;40(3):819-827. DOI: 10.1093/ije/dyr012.
9. Venkata C., Aruchamy S., Kasal J. Acute right ventricular dysfunction in a critically ill patient with COVID-19. *CASE (Phila)*. 2020;4(6):474-476. DOI: 10.1016/j.case.2020.08.007.
10. Huang Y., Li L.C., Li Y.X. et al. Development and validation of a risk model for intracardiac thrombosis in patients with dilated cardiomyopathy: a retrospective study. *Sci. Rep.* 2024;14(1):1431. DOI: 10.1038/s41598-024-51745-w.
11. Gaspar V., Silva B., Ambrosio I. et al. Right ventricle thrombus in a massive pulmonary embolism COVID-19 patient. *Cureus*. 2023;15(8):e43937. DOI: 10.7759/cureus.43937.
12. Mitsis A., Alexi A., Constantinides T. et al. A case of right ventricular thrombus in a patient with recent COVID-19 infection. *Cureus*. 2022;14(5):e25150. DOI: 10.7759/cureus.25150.
13. Rudnov V.A., Kulabukhov V.V. Sepsis-3: Updated main definitions, potential problems and next practical steps. *Messenger of Anesthesiology and Resuscitation*. 2016;13(4):4-11. DOI: 10.21292/2078-5658-2016-13-4-4-11. (In Russ.)
14. Avdeev S.N., Beloborodov V.B., Belotserkovskiy B.Z. et al. Severe community-acquired pneumonia in adults. Clinical recommendations from Russian Federation of Anaesthesiologists and Reanimatologists. *Russian Journal of Anesthesiology and Reanimatology*. 2022;1:6-35. DOI: 10.17116/anaesthesiology20220116. (In Russ.)
15. Yavelov I.S. Anticoagulant therapy for the prevention and treatment of venous thromboembolism. *Journal of Venous Disorders*. 2010;4(4):4-14. (In Russ.)
16. Clinical Guidelines Rubricator. Phlebitis and thrombophlebitis of superficial vessels. 2021. URL: https://cr.minzdrav.gov.ru/recomend/668_1 (accessed: 07.07.2024).
17. Vasyuk Yu.A., Kopeeva M.V., Korneeva O.N. et al. Recommendations for quantitative assessment of cardiac chamber structure and function. *Russian Journal of Cardiology*. 2012;3(95):1-28. (In Russ.)
18. Seliverstov E.I., Lobastov K.V., Ilyukhin E.A. et al. Prevention, diagnostics and treatment of deep vein thrombosis. Russian experts consensus. *Journal of Venous Disorders*. 2023;17(3):152-296. DOI: 10.17116/flebo202317031152. (In Russ.)
19. Yavelov I.S., Drapkina O.M. COVID-19: hemostatic parameters and specifics of antithrombotic treatment. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2020;19(3):310-318. DOI: 10.15829/1728-8800-2020-2571. (In Russ.)
20. Mazzolai L., Agno W., Alatri A. et al. Second consensus document on diagnosis and management of acute deep vein thrombosis: updated document elaborated by the ESC Working Group on aorta and peripheral vascular diseases and the ESC Working Group on pulmonary circulation and right ventricular function. *Eur. J. Prev. Cardiol.* 2022;29(8):1248-1263. DOI: 10.1093/eurjpc/zwab088.
21. Galstyan G.M. Coagulopathy in COVID-19. *Pul'monologiya*. 2020;30(5):645-657. DOI: 10.18093/0869-0189-2020-30-5-645-657. (In Russ.)

- embolism in patients hospitalized for COVID-19: Systematic review and meta-analysis // *Throm. Update*. 2021;2:100037. DOI: 10.1016/j.tru.2021.100037.
23. Wang J., Doran J. The many faces of cytokine release syndrome-related coagulopathy // *Clin. Hematol. Int*. 2021;3(1):3-12. DOI: 10.2991/chi.k.210117.001.
 24. Kambas K., Mitroulis I., Apostolidou E. et al. Autophagy mediates the delivery of thrombogenic tissue factor to neutrophil extracellular traps in human sepsis // *PLoS One*. 2012;7(9):e45427. DOI: 10.1371/journal.pone.0045427.
 25. Yipp B.G., Kubes P. NETosis: how vital is it // *Blood*. 2013;122(16):2784-2794. DOI: 10.1182/blood-2013-04-457671.
22. Henrina J., Santosa Putra I.C., Cahyadi I. et al. Clinical characteristics and outcomes of venous thromboembolism in patients hospitalized for COVID-19: Systematic review and meta-analysis. *Throm. Update*. 2021;2:100037. DOI: 10.1016/j.tru.2021.100037.
 23. Wang J., Doran J. The many faces of cytokine release syndrome-related coagulopathy. *Clin. Hematol. Int*. 2021;3(1):3-12. DOI: 10.2991/chi.k.210117.001.
 24. Kambas K., Mitroulis I., Apostolidou E. et al. Autophagy mediates the delivery of thrombogenic tissue factor to neutrophil extracellular traps in human sepsis. *PLoS One*. 2012;7(9):e45427. DOI: 10.1371/journal.pone.0045427.
 25. Yipp B.G., Kubes P. NETosis: how vital is it? *Blood*. 2013;122(16):2784-2794. DOI: 10.1182/blood-2013-04-457671.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Мальченко Татьяна Дмитриевна – канд. мед. наук, доцент кафедры пульмонологии и фтизиатрии с курсом дополнительного профессионального образования ФГБОУ ВО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава России, Барнаул, Россия. ORCID: 0000-0002-1706-302X.

Цеймах Ирина Яковлевна – д-р мед. наук, доцент, заведующий кафедрой пульмонологии и фтизиатрии с курсом дополнительного профессионального образования ФГБОУ ВО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава России, Барнаул, Россия. ORCID: 0000-0002-9978-5156.

Богачев Дмитрий Евгеньевич – ассистент кафедры пульмонологии и фтизиатрии с курсом дополнительного профессионального образования ФГБОУ ВО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава России, Барнаул, Россия. ORCID: 0000-0001-6906-0069.

Корнилова Татьяна Александровна – заведующий пульмонологическим отделением № 2 КГБУЗ «Городская больница № 5, г. Барнаул», Барнаул, Россия.

Цеймах Михаил Евгеньевич – клинический ординатор кафедры пульмонологии и фтизиатрии с курсом дополнительного профессионального образования ФГБОУ ВО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава России, Барнаул, Россия. ORCID: 0000-0002-7442-9729.

ABOUT THE AUTHORS

Tatyana D. Malchenko – Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Department of Pulmonology and Phthisiology with a Course of Advanced Professional Education, Altai State Medical University, Barnaul, Russia. ORCID: 0000-0002-1706-302X.

Irina Ya. Tseimakh – Dr. Sci. (Med.), Associate Professor, Head, Department of Pulmonology and Phthisiology with a Course of Advanced Professional Education, Altai State Medical University, Barnaul, Russia. ORCID: 0000-0002-9978-5156.

Dmitriy E. Bogachev – Assistant Professor, Department of Pulmonology and Phthisiology with a Course of Advanced Professional Education, Altai State Medical University, Barnaul, Russia. ORCID: 0000-0001-6906-0069.

Tatyana A. Kornilova – Head, Pulmonology Department No. 2, City Hospital No. 5, Barnaul, Russia.

Mikhail E. Tseimakh – Clinical Resident, Department of Pulmonology and Phthisiology with a Course of Advanced Professional Education, Altai State Medical University, Barnaul, Russia. ORCID: 0000-0002-7442-9729.

ТРЕБОВАНИЯ К ПРЕДОСТАВЛЕНИЮ МАТЕРИАЛОВ ДЛЯ ПУБЛИКАЦИИ В JOURNAL OF SIBERIAN MEDICAL SCIENCES

В Journal of Siberian Medical Sciences (далее — JSMS) публикуются научные обзоры и статьи по медицинским наукам, подготовленные по материалам оригинальных научных исследований. JSMS выходит 4 раза в год.

Требования, предъявляемые к публикациям в JSMS, сформулированы с учетом требований, предъявляемых к рецензируемым научным изданиям, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата и доктора наук.

Статьи, отправленные авторами в другие издания и/или напечатанные ранее в них, к опубликованию не принимаются.

При описании научно-исследовательских клинических работ с привлечением человека в качестве объекта исследования авторы должны указать, соответствовали ли они международным и российским законодательным актам о юридических и этических принципах медико-биологических исследований такого рода. Не допускается использование фамилий, инициалов больных и номеров историй болезни. При описании экспериментов на животных необходимо указать, соответствовало ли содержание и использование лабораторных животных правилам, принятым в учреждении, рекомендациям национального совета по исследованиям, национальным законам.

Авторские права соблюдаются в соответствии с Гражданским кодексом Российской Федерации (ч. 4) и другими действующими нормативными документами. Авторы несут полную ответственность за содержание статей.

В редакцию JSMS авторы должны предоставить:

1) *электронную версию статьи*, подготовленную в соответствии с требованиями к оформлению статей, изложенными ниже;

2) *оригинал статьи* в печатном виде с указанием города, даты, фамилии с подписью каждого автора (на последней странице), визой «В печать» и подписью (на первой странице) заведующего кафедрой или иного должностного лица организации, на базе которой выполнено исследование. Авторы предоставляют статьи в редакцию лично или по почте;

3) *согласие* на публикацию статьи в JSMS и обработку персональных данных авторов (заполняется каждым автором) (см. на сайте НГМУ: https://jsms.ngmu.ru/zayavlenie_jsms.doc);

4) для сотрудников ФГБОУ ВО НГМУ Минздрава России (далее — НГМУ) — *экспертное заключение* отдела координации федеральных программ, конкурсных проектов и инновационного развития управления по науке, инновациям и информатизации НГМУ (см. www.ngmu.ru); для сторонних авторов — *направление на опубликование* на фирменном бланке организации, на базе которой выполнено оригинальное научное исследование, за подписью ответственного должностного лица.

ПРАВИЛА ОФОРМЛЕНИЯ РУКОПИСЕЙ

1. Текст статьи набирается в текстовом редакторе Microsoft Word, Open Office и др., все поля 2 см, шрифт Times New Roman, кегль 12, межстрочный интервал 1,5. Текст статьи необходимо направить в редакцию JSMS в виде отдельного файла с указанием ФИО первого автора — Иванов И.И. текст.doc. Допускается отправка файлов в форматах doc, docx.

2. ФИО авторов набирается строчными буквами курсивом на русском языке. Инициалы помещаются перед фамилией автора. Порядок, в котором будут указаны авторы, определяется их совместным решением.

3. Город и название мест работы авторов оформляются строчными буквами курсивом на русском языке.

4. Статья должна содержать аннотацию на русском языке. В аннотации должны быть изложены цели исследования, основные процедуры, результаты оригинальных исследований и выводы. Под аннотацией помещается подзаголовок «Ключевые слова», после него до 10 ключевых слов или коротких фраз, которые будут способствовать правильному индексированию статьи в поисковых системах и системах цитирования. Аннотацию необходимо направить в редакцию JSMS вместе с текстом статьи в виде отдельного файла с указанием ФИО первого автора — Иванов И.И. аннотация.doc. Также 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 предоставляется 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.