

МЕДИЦИНА ЭКСТРЕМАЛЬНЫХ СИТУАЦИЙ

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ ЖУРНАЛ ФМБА РОССИИ

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

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

Дарья Крючко, д. м. н., доцент

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

Антон Кескинов, к. м. н.;

Валентина Гейдебрехт, к. б. н.

ТЕХНИЧЕСКИЙ РЕДАКТОР Евгений Лукьянов

ПЕРЕВОДЧИКИ Надежда Тихомирова, Вячеслав Витюк

ДИЗАЙН И ВЕРСТКА Марины Дорониной

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

ПОДАЧА РУКОПИСЕЙ editor@fmba.press

ПЕРЕПИСКА С РЕДАКЦИЕЙ editor@fmba.press

СОТРУДНИЧЕСТВО manager@fmba.press

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

Журнал включен в Scopus в 2022 г.

Журнал включен в РИНЦ, IF 2018: 0,570

Журнал включен в Перечень 31.01.2020 (№ 1292)

Здесь находится открытый архив журнала



ВЫСШАЯ
АТТЕСТАЦИОННАЯ
КОМИССИЯ (ВАК)



DOI выпуска: 10.47183/mes.2023-04

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

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

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



Подписано в печать 31.12.2023

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

EXTREME MEDICINE

SCIENTIFIC AND PRACTICAL REVIEWED JOURNAL OF FMBA OF RUSSIA

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

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

Daria Kryuchko, DSc

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

Anton Keskinov, PhD;

Valentina Geidebrekht, PhD

TECHNICAL EDITOR Evgeny Lukyanov

TRANSLATORS Nadezda Tikhomirova, Vyacheslav Vityuk

DESIGN AND LAYOUT Marina Doronina

EDITORIAL BOARD

Agapov VK, DSc, professor (Moscow, Russia)

Bogomolov AV, DSc, professor (Moscow, Russia)

Boyko AN, DSc, professor (Moscow, Russia)

Bolekhan WN, DSc, docent (Moscow, Russia)

Borisevich IV, DSc, professor (Moscow, Russia)

Bushmanov AY, DSc, professor (Moscow, Russia)

Valenta R, PhD, professor (Moscow, Russia)

Voskanyan S, member of RAS, DSc, professor (Moscow, Russia)

Daikhes NA, member of RAS, DSc, professor (Moscow, Russia)

Dudarenko SV, DSc (Saint-Petersburg, Russia)

Zykov KA, member of RAS, DSc, professor (Moscow, Russia)

Ilyin LA, member of RAS, DSc, professor (Moscow, Russia)

Karkischenko NN, member of RAS, DSc, professor (Moscow, Russia)

Kaspranskiy RR, PhD (Moscow, Russia)

Lagarkova MA, member of RAS, DSc, professor (Moscow, Russia)

Lobzin YV, member of RAS, DSc, professor (Saint-Petersburg, Russia)

Nikiforov VV, DSc, professor (Moscow, Russia)

Olesova VN, DSc, professor (Moscow, Russia)

Petrov RV, member of RAS, DSc, professor (Moscow, Russia)

Polyaev BA, DSc (Moscow, Russia)

Sadilov AS, DSc, professor (Saint-Petersburg, Russia)

Rejniuk VL, DSc, docent (Moscow, Russia)

Rembovsky VR, DSc, professor (Saint-Petersburg, Russia)

Samoilov AS, member of RAS, DSc, professor (Moscow, Russia)

Sergienko VI, member of RAS, DSc, professor (Moscow, Russia)

Sidorenko SV, member of RAS, DSc, professor (Saint-Petersburg, Russia)

Sidorkevich SV, DSc (Moscow, Russia)

Styazhkin KK, DSc, professor (Moscow, Russia)

Troitsky AV, DSc, professor (Moscow, Russia)

Uskov AN, DSc, docent (Saint-Petersburg, Russia)

Ushakov IB, member of RAS, DSc, professor (Moscow, Russia)

Khaitov MR, member of RAS, DSc, professor (Moscow, Russia)

Yudin SM, DSc, professor (Moscow, Russia)

ADVISORY BOARD

Akleev AV, DSc, professor (Chelyabinsk, Russia)

Arakelov SA, PhD, professor (Saint-Petersburg, Russia)

Baklaushev VP, DSc, professor (Moscow, Russia)

Degteva MO, PhD (Chelyabinsk, Russia)

Efimenko NV, DSc, professor (Pyatigorsk, Russia)

Kazakevich EV, DSc, professor (Arkhangelsk, Russia)

Katuntsev VP, DSc, professor (Moscow, Russia)

Klimanov VA, DSc, professor (Moscow, Russia)

Klinov DV, PhD (Moscow, Russia)

Koshurnikova NA, DSc, professor (Ozersk, Russia)

Minnullin IP, DSc, professor (Saint-Petersburg, Russia)

Mosyagin IG, DSc, professor (Saint-Petersburg, Russia)

Panasenko OM, DSc, member of RAS, professor (Moscow, Russia)

Rogozhnikov VA, DSc, (Moscow, Russia)

Romanov SA, PhD (Ozersk, Russia)

Sotnichenko SA, DSc (Vladivostok, Russia)

Suranova TG, PhD, docent (Moscow, Russia)

Takhauov RM, DSc, professor (Seversk, Russia)

Shandala NK, DSc, professor (Moscow, Russia)

Shinkarev SM, DSc (Moscow, Russia)

Shipulin GA, PhD (Moscow, Russia)

Yakovleva TV, DSc (Moscow, Russia)

SUBMISSION editor@fmba.press

CORRESPONDENCE editor@fmba.press

COLLABORATION manager@fmba.press

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

Indexed in Scopus in 2022

Indexed in RSCI. IF 2018: 0,570

Listed in HAC 31.01.2020 (№ 1292)

Open access to archive

Scopus®

НАУЧНАЯ ЭЛЕКТРОННАЯ
БИБЛИОТЕКА
LIBRARY.RU



ВЫСШАЯ
АТТЕСТАЦИОННАЯ
КОМИССИЯ (ВАК)

CYBERLENINKA

Issue DOI: 10.47183/mes.2023-04

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

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

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



Approved for print 31.12.2023

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

Содержание

Contents

ОБЗОР	5
<hr/>	
Особенности течения энцефалитов после перенесенной новой коронавирусной инфекции COVID-19 М. П. Бобров, В. Б. Войтенков, Е. В. Екушева, Е. С. Кипарисова	
The specifics of encephalitis after COVID-19 Bobrov MP, Voitenkov VB, Ekusheva EV, Kiparisova ES	
ОБЗОР	10
<hr/>	
Современные подходы к оценке минимальной остаточной болезни при множественной миеломе (плазмноклеточной миеломе) Т. В. Глазанова, Е. Р. Шилова, С. С. Бессмельцев	
Modern approaches to assessment of minimal residual disease in multiple myeloma (plasma cell myeloma) cases Glazanova TV, Shilova ER, Bessmeltsev SS	
ОБЗОР	20
<hr/>	
Уровни специфичных IgG к пищевым антигенам в норме и при патологии В. П. Патракеева, В. А. Штаборов, Р. С. Алесич	
Normal and disease-associated levels of specific IgG against food antigens Patrakeeva VP, Shtaborov VA, Alesich RS	
ОБЗОР	26
<hr/>	
Аллергия на латекс С. В. Гулько, Г. Ю. Бабаджанова	
Latex allergy Gulko SV, Babadjanova GYu	
ОБЗОР	39
<hr/>	
Комбинация бактериофагов и антибиотиков как наиболее эффективный подход борьбы со <i>Staphylococcus aureus</i> Н. К. Абдраймова, Е. А. Шитиков, Р. Б. Городничев, М. А. Корниенко	
Combination of bacteriophages and antibiotics as the most effective therapy against <i>Staphylococcus aureus</i> Abdraimova NK, Shitikov EA, Gorodnichev RB, Kornienko MA	
ОБЗОР	48
<hr/>	
Робототехнические средства реабилитации двигательной активности пациентов в постинсультном периоде И. Ю. Земляков, Д. С. Жданов, А. Ш. Буреев, Е. В. Голобокова, Я. В. Костелей	
Robotic means of rehabilitation of motor activity of patients in the post-stroke period Zemlyakov IY, Zhdanov DS, Bureev AS, Golobokova EV, Kosteleya YV	
ОБЗОР	56
<hr/>	
Оценка реабилитации детей-реконвалесцентов после инфекционных заболеваний Е. В. Мельникова, Н. М. Хасанова, Н. В. Скрипченко	
Assessing rehabilitation of convalescent children after infectious diseases Melnikova EV, Khasanova NM, Skripchenko NV	
ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ	63
<hr/>	
Метилирование промоторов генов клеточного цикла и апоптоза у облученных лиц, впоследствии заболевших злокачественными новообразованиями Е. А. Блинова, А. В. Кореченкова, В. С. Никифоров, А. В. Аклеев	
Methylation of cell cycle and apoptosis genes' promoters in exposed individuals with subsequent malignant neoplasms Blinova EA, Korechenkova AV, Nikiforov VS, Akleyev AV	
ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ	70
<hr/>	
Частота инверсий в хромосомах Т-лимфоцитов у облученных жителей Южного Урала Я. В. Кривошчапова, А. В. Возилова	
Frequency of inversions in the T-lymphocyte chromosomes of exposed residents of the Southern Urals Krivoshchapova YaV, Vozilova AV	
ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ	77
<hr/>	
Влияние цистамина на пропульсивную функцию желудка и газообмен у крыс при лучевой миелоабляции О. А. Вакуненкова, Ю. Ю. Ивницкий, О. А. Данилова, Т. В. Шефер, В. Л. Рейнюк	
Effect of cystamine on gastric propulsive function and gas exchange in the rat model of radiation-induced myeloablation Vakunenkov OA, Ivnitsky JuJu, Danilova OA, Schäfer TV, Rejniuk VL	
ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ	86
<hr/>	
Вычислительный фантом для дозиметрии красного костного мозга пятилетнего ребенка от инкорпорированных бета-излучателей П. А. Шаррагин, Е. И. Толстых, Е. А. Шишкина	
Computational phantom for a 5-year old child red bone marrow dosimetry due to incorporated beta emitters Sharagin PA, Tolstykh EI, Shishkina EA	

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ	98
<hr/>	
Роль быстрого бега в предотвращении негативных влияний пребывания человека в невесомости Е. В. Фомина, Н. А. Сенаторова, В. Д. Бахтерева, Е. Н. Ярманова, <u>И. Б. Козловская</u>	
The role of fast running in prevention of negative effects of prolonged exposure to weightlessness Fomina EV, Senatorova NA, Bakhtereva VD, Yarmanova EN, <u>Kozlovskaya IB</u>	
ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ	106
<hr/>	
Особенности реакции сердечно-сосудистой системы организма человека на погружение в холодную воду Т. И. Баранова, Т. В. Рыбьякова, М. О. Дмитриева, Д. А. Анисимов, М. С. Тарасова, М. Г. Оганнисян	
Specifics of reaction of human cardiovascular system to immersion in cold water Baranova TI, Rybyakova TV, Dmitrieva MO, Anisimov DA, Tarasova MS, Ogannisiyan MG	
ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ	116
<hr/>	
Оценка липидного спектра и С-реактивного белка крови у работающих в Арктической зоне России Д. А. Нарутдинов, Р. С. Рахманов, Е. С. Богомолова, С. А. Разгулин, Н. Н. Потехина	
Assessment of lipid spectrum and C-reactive protein in people working in the Arctic zone of Russia Narutdinov DA, Rakhmanov RS, Bogomolova ES, Razgulin SA, Potekhina NN	
ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ	123
<hr/>	
Исследование биораспределения биомедицинского клеточного продукта на основе хондроцитов человека при имплантации мышам линии Balb/c Nude А. С. Пикина, П. А. Голубинская, Е. С. Ручко, Е. В. Коженевская, А. Д. Поспелов, А. А. Бабаев, А. В. Еремеев	
Assessing biodistribution of biomedical cellular product based on human chondrocytes following implantation to Balb/c Nude mice Pikina AS, Golubinskaya PA, Ruchko ES, Kozhenevskaya EV, Pospelov AD, Babayev AA, Ereemeev AV	
ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ	131
<hr/>	
Сравнительный анализ эффективности новых образцов местных гемостатических средств В. А. Липатов, С. В. Лазаренко, Д. А. Северинов, А. А. Денисов, Е. Г. Чупахин, Е. Н. Анискина	
Comparative analysis of efficacy of the new local hemostatic agents Lipatov VA, Lazarenko SV, Severinov DA, Denisov AA, Chupakhin EG, Aniskina EN	
ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ	137
<hr/>	
Местное лечение контаминированной кожной раны оригинальной лекарственной комбинацией в сочетании с магнитотерапией в эксперименте А. Г. Терехов, Т. А. Панкрушева, М. С. Чекамарева, Е. Н. Туренко, Е. Б. Артюшкова, Е. С. Мишина, А. Ю. Григорьян, А. А. Мятчин	
Local treatment of a contaminated skin wound using an original drug combination and magnetic therapy in an experiment Terekhov AG, Pankrusheva TA, Chekmareva MS, Turenko EN, Artyushkova EB, Mishina ES, Grigoryan AYU, Myatechkin AA	
ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ	144
<hr/>	
Семейный случай наследуемой хромосомной интеграции ВГЧ-6А с проведением филогенетического анализа О. В. Голева, Л. Г. Данилов, А. В. Кусакин, Ю. А. Эйсмонт, И. В. Бабаченко, Н. С. Тянь, А. Б. Чухловин, А. В. Крылов, О. С. Глотов	
Familial case of inherited human herpesvirus 6A with phylogenetic assessment Goleva OV, Danilov LG, Kusakin AV, Eismont YuA, Babachenko IV, Tian NS, Chukhlovin AB, Krylov AV, Glotov OS	
ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ	152
<hr/>	
Клинико-лабораторные предикторы тяжелой внебольничной пневмонии у детей до четырех лет Е. А. Козырев, И. В. Бабаченко, А. В. Орлов, Э. А. Мартенс, Е. В. Никитина, Н. С. Тянь, Е. Д. Орлова	
Clinical and laboratory predictors of severe community-acquired pneumonia in children under four years of age Kozyrev EA, Babachenko IV, Orlov AV, Martens EA, Nikitina EV, Tian NS, Orlova ED	
ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ	159
<hr/>	
Выделение и характеристика вирулентных бактериофагов против <i>Klebsiella pneumoniae</i> значимых капсульных типов Р. Б. Городничев, М. А. Корниенко, Д. А. Беспятых, М. В. Малахова, А. О. Кривуля, В. А. Веселовский, Ю. А. Беспятых, О. В. Голощчапов, Т. В. Черненко, Е. А. Шитиков	
Isolation and characterization of virulent bacteriophages against <i>Klebsiella pneumoniae</i> of significant capsular types Gorodnichenov RB, Kornienko MA, Bespyatykh DA, Malakhova MV, Krivulya AO, Veselovsky VA, Bespyatykh YuA, Goloshchapov OV, Chernenkaya TV, Shitikov EA	
ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ	168
<hr/>	
Выявление и профилактика железодефицитного состояния у доноров крови (компонентов крови) Г. В. Гришина, И. И. Кробинец, А. Д. Касьянов, С. В. Сидоркевич	
Detection and prevention of iron deficiency in donors of blood (blood components) Grishina GV, Krobinec II, Kasyanov AD, Sidorkevich SV	
ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ	174
<hr/>	
Структура острых отравлений химической этиологии в мегаполисе на фоне пандемии COVID-19 в 2020–2021 гг. С. А. Солонин, М. В. Белова, Н. Е. Терешкина, Е. А. Кашолкина, И. А. Тюрин, М. А. Годков, М. М. Потцхверия	
Patterns of acute chemical poisonings in a metropolis against the background of the COVID-19 pandemic in 2020–2021 Solonin SA, Belova MV, Tereshkina NE, Kasholkina EA, Tyurin IA, Godkov MA, Potshveriya MM	
КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ	184
<hr/>	
Возможности применения подподбородочного лоскута для реконструкции нижней губы О. И. Данищук, Д. Н. Назарян, Е. И. Карпова, А. А. Хачатрян, С. С. Размадзе	
Possibility of using submental flap for lower lip reconstruction Danishchuk OI, Nazarian DN, Karpova EI, Khachatryan AA Razmadze SS	

ОСОБЕННОСТИ ТЕЧЕНИЯ ЭНЦЕФАЛИТОВ ПОСЛЕ ПЕРЕНЕСЕННОЙ НОВОЙ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ COVID-19

М. П. Бобров¹✉, В. Б. Войтенков^{1,2}, Е. В. Екушева^{1,3}, Е. С. Кипарисова¹

¹ Академия постдипломного образования Федерального научно-клинического центра специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий Федерального медико-биологического агентства, Москва, Россия

² Детский научно-клинический центр инфекционных болезней ФМБА России, Санкт-Петербург, Россия

³ Белгородский государственный национальный исследовательский университет, Белгород, Россия

Энцефалиты представляют собой группу острых инфекционных заболеваний, поражающих вещество головного мозга. Они часто приводят к инвалидности или летальному исходу и в связи с этим требуют неотложной медицинской помощи. В статье рассмотрены этиология, патогенез и клиническая картина энцефалитов. Особое внимание уделено течению энцефалитов после пандемии COVID-19. Отмечен рост числа энцефалитов, особенно среди аутоиммунных энцефалитов, энцефалитов, вызванных герпес-вирусами. Вероятно, эта тенденция связана с тем, что взаимодействие вируса COVID-19 с организмом приводит к нарушению работы иммунной системы, что проявляется развитием цитокинового шторма, нейровоспалением и развитием аутоиммунной реакции. Описаны случаи развития COVID-19-зависимого энцефалита. Механизмы проникновения вируса COVID-19 в клетки центральной нервной системы еще не до конца изучены, хотя и существуют гипотезы, что это происходит как трансинаптическим путем через механорецепторы и хеморецепторы респираторной системы в продолговатый мозг, так и через рецепторы ангиотензинпревращающего фермента 2.

Ключевые слова: энцефалит, COVID-19, нейроинфекция, аутоиммунный энцефалит

Вклад авторов: М. П. Бобров — анализ литературы, сбор данных, подготовка рукописи; В. Б. Войтенков — анализ литературы, планирование исследования, интерпретация данных, подготовка рукописи; Е. В. Екушева — планирование исследования, сбор и анализ литературы; Е. С. Кипарисова — сбор и анализ литературы.

Соблюдение этических стандартов: представленная статья ранее опубликована не была, все заимствования корректны.

✉ **Для корреспонденции:** Максим Павлович Бобров
Волоколамское ш., д. 91, г. Москва, 125371, Россия; maks_bobrov_2024@inbox.ru

Статья получена: 03.11.2023 **Статья принята к печати:** 20.12.2023 **Опубликована онлайн:** 29.12.2023

DOI: 10.47183/mes.2023.059

THE SPECIFICS OF ENCEPHALITIS AFTER COVID-19

Bobrov MP¹✉, Voitenkov VB^{1,2}, Ekusheva EV^{1,3}, Kiparisova ES¹

¹ Postgraduate Education Academy of the Federal Scientific and Clinical Center for Specialized Types of Medical Care and Medical Technologies, Federal Medical Biological Agency, Moscow, Russia.

² Pediatric Research and Clinical Center of Infectious Diseases, Federal Medical Biological Agency, St. Petersburg, Russia

³ Belgorod State National Research University, Belgorod, Russia

Encephalitis is a group of acute infectious diseases affecting the substance of the brain. They often lead to disability or death, and, therefore, require urgent medical attention. The article discusses the etiology, pathogenesis, and clinical picture of encephalitis, with special attention to the course of this disease after the COVID-19 pandemic. We note the growing number of encephalitis cases, especially of autoimmune variety and those caused by herpes. The possible reason behind this trend is the disruption of operation of the immune system brought by COVID-19, which manifests as a cytokine storm, neuroinflammation, and autoimmune reactions. There are cases of COVID-19-dependent encephalitis described. The pathways taken by SARS-CoV-2 to penetrate into the cells of the central nervous system have not yet been fully studied, although there are hypotheses that this happens both trans-synaptically through mechanoreceptors and chemoreceptors of the respiratory system into the medulla oblongata, and through receptors of the angiotensin converting enzyme 2.

Keywords: encephalitis, COVID-19, neuroinfection, autoimmune encephalitis

Author contribution: Bobrov MP — literature analysis, data collection, manuscript authoring; Voitenkov VB — literature analysis, study planning, data interpretation, manuscript authoring; Ekusheva EV — study planning, collection and analysis of literature; Kiparisova ES — collection and analysis of literature.

Compliance with ethical standards: the submitted article has not been previously published, all borrowings are correct.

✉ **Correspondence should be addressed:** Maxim Pavlovich Bobrov
Volokolamskoye sh., 91, Moscow, 125371, Russia; maks_bobrov_2024@inbox.ru

Received: 03.11.2023 **Accepted:** 20.12.2023 **Published online:** 29.12.2023

DOI: 10.47183/mes.2023.059

Энцефалит представляет собой острое инфекционное воспаление вещества головного мозга [1]. Обсуждение этой темы актуально, поскольку данная нозология протекает тяжело для пациента, требует неотложной, иногда экстренной медицинской помощи и в определенном количестве случаев приводит к инвалидизации или к летальному исходу [2]. Понимание этиологии, звеньев патогенеза, знание клинической картины помогают врачу-клиницисту верно диагностировать состояние и начать необходимую терапию.

Среди нейроинфекций частота встречаемости энцефалитов варьирует от 3,8 до 65%, что, видимо,

объясняется эпидемиологической обстановкой в регионе регистрации, а также оснащённостью лабораторно-диагностических подразделений [3–5]. Энцефалит — полиэтиологическое заболевание, при этом наиболее частым возбудителем становятся вирусы [5, 6], их доля среди верифицированных энцефалитов составляет до 90% [4]. Среди вирусов преобладают клещевой энцефалит, энтеровирусы (различные штаммы вирусов Коксаки и ЕСНО), вирус герпеса [7].

Отдельную группу составляют аутоиммунные энцефалиты (АЭ), которые характеризуются аутоиммунным воспалительным процессом в веществе головного мозга,

а также выработкой антител к вне- или внутриклеточным структурам центральной нервной системы [8]. Среди АЭ наиболее часто встречается анти-NMDAR-энцефалит [9]. Известно, что причинами для развития аутоиммунного процесса при этом типе АЭ становятся новообразования и герпетический энцефалит [10].

Клиническая картина энцефалита состоит из общеинфекционного синдрома (слабость, повышение температуры тела, миалгии, артралгии), общемозгового синдрома (тошноты, рвоты, головокружения) и очаговой симптоматики [11]. В зависимости от причины могут преобладать вялые параличи верхних конечностей и шеи (при клещевом энцефалите) [12], глазодвигательные нарушения (энцефалит Экономо) [13] или психические расстройства (аутоиммунный энцефалит) [14].

Цель данного литературного обзора — проанализировать течение энцефалитов на фоне новой коронавирусной инфекции COVID-19, сравнить данные с периодом до пандемии.

Основная часть

В патогенезе различных форм энцефалита немаловажную роль играет состояние иммунитета человека. За последние три года в мире прошла пандемия новой коронавирусной инфекции COVID-19 (SARS-CoV-2).

В течении SARS-CoV-2 помимо поражения респираторной системы развивались и внелегочные осложнения, которые происходят под воздействием нескольких факторов: длительно продолжающегося воспалительного процесса; персистенции вируса или его частей в органах с возможной реактивацией воспаления; выработки антител, которые имеют перекрестный ответ с тканями организма; развития коагулопатий [15]. Закономерен рост неврологических осложнений, в том числе и энцефалитов. Одним из возможных механизмов поражения центральной нервной системы (ЦНС) может выступать связь SARS-CoV-2 с рецепторами ангиотензинпревращающего фермента 2 (АПФ 2), которые широко представлены в нейронах и глиальных клетках ЦНС [16]. Помимо связи вируса с АПФ 2, рассматривают возможность трассинаптического проникновения в продолговатый мозг через механорецепторы и хеморецепторы, расположенные в легких [17].

Анализ данных 23 источников, который охватывал около 130 000 пациентов с COVID-19, показал, что доля пациентов с энцефалитом составляет около 0,215%, при этом смертность — 13,4% [18]. Если рассматривать всех пациентов с неврологической симптоматикой, то доля энцефалита составляет от 13 до 40% [19]. При нейровизуализации 127 пациентов были получены следующие данные: у 86 пациентов — неспецифический COVID-19 связанный энцефалит; у 13 — острый демиелинизирующий энцефаломиелит; у 4 — острая некротическая энцефалопатия; у 9 — лимбический энцефалит; у 5 пациентов был обнаружен энцефалит Бикерстафа; у 13 — энцефалит с очаговыми или диффузными лептоменингеальными нарушениями; у 26 — смешанная энцефалопатия и энцефалит с другими клиническими и морфологическими находками [19].

Среди симптомов у пациентов с энцефалитом во время острого течения COVID-19 наблюдали: судороги (29,5%), спутанность сознания (23,2%), головную боль (20,5%), дезориентацию (15,2%) и изменение психического статуса

[20]. Изменения при проведении инструментальных и лабораторных исследований были выявлены на магнитной резонансной томографии (МРТ), электроэнцефалограмме (ЭЭГ), в цереброспинальной жидкости в более половины случаев [20, 21].

Энцефалит, ассоциированный с COVID-19, может возникнуть через несколько недель, после перенесенного острого заболевания. Был описан клинический случай острого геморрагического лейкоэнцефалита у пациента 46 лет, который после выявления маркеров COVID-19 и лечения был выписан на карантин на домашнее долечивание [22]. Через 5 недель пациент был экстренно доставлен в стационар с жалобами на головную боль и расстройство сознания. В неврологическом статусе наблюдали угнетение сознания до 11 баллов по Шкале Комы Глазго, плегию в левой верхней конечности и парез до 3 баллов в левой нижней конечности, сухожильные рефлексы были сохранены. При проведении компьютерной томографии были выявлены многоочаговые негеморрагические очаги в обоих полушариях головного мозга, МРТ — поражение белого вещества в двусторонних лобных, теменных долях, левом таламусе, левой ножке мозга и продолговатом мозге. В цереброспинальной жидкости наблюдали лимфоцитарный плеоцитоз с повышением белка. Пациенту было назначено лечение: внутривенное введение 1 г метилпреднизолона в сутки в течение 5 дней. Через 5 дней на фоне ухудшения была проведена повторная нейровизуализация с помощью МРТ, при которой было обнаружено увеличение числа очагов с их геморрагической трансформацией, отек с вклиниванием ствола. Была назначена усиленная противоотечная терапия с планом проведения трепанации, однако на фоне проводимого лечения пациент умер в тот же день. Метаанализ случаев развития острого геморрагического лейкоэнцефалита показал увеличение заболеваемости по сравнению с периодом до пандемии COVID-19. При этом число летальных исходов составляло до 32% [23].

Один из наиболее частых энцефалитов — герпетический (ГЭ) [24]. Заражение вирусами герпеса обычно происходит в раннем возрасте. Они проникают в клетку, высвобождают белки, вирусную ДНК и начинают производство новых вирусных единиц [25]. Под действием иммунной системы взаимодействия клеточного иммунитета в виде активации CD8⁺-Т-клеток и дифференцировки CD4⁺-клеток в Т-хелперы, продукция элементов гуморального иммунитета (IFN γ , IL2, TNF α) и активация В-лимфоцитов приводит к тому, что репликация замедляется и вирус переходит в латентное состояние, персистируя в чувствительных и симпатических ганглиях. Возможный путь развития ГЭ — ретроградный транспорт частиц вируса по волокнам обонятельного или тройничного нерва [26]. При SARS-CoV-2 происходит истощение CD8⁺- и CD4⁺-клеток, уменьшается продукция гамма-интерферона, что, вероятно, и ведет к усилению репликации вируса герпеса и развитию ГЭ [25, 26].

Другим последствием взаимодействия COVID-19 с иммунной системой является развитие цитокинового шторма. Некоторые исследователи считают, что цитокиновый шторм представляет собой фактор развития АЭ у пациентов, перенесших COVID-19 [27, 28]. На основании метаанализа было установлено, что самым частым был лимбический энцефалит (37%), за ним следовал анти-NMDAR-энцефалит (26%). Зафиксированы случаи развития энцефалита у пациентов, перенесших вакцинацию, причем развитие данного осложнения

отмечались у следующих вакцин: AstraZeneca — в наибольшей степени (38,5% случаев), затем — вакцина фирмы Pfizer (33,8%) и замыкает список вакцина Moderna (16,9%) [29, 30]. Все еще остается непонятным механизм развития этого состояния после вакцинации. Учитывая, что отечественные вакцины, произведенные с учетом имеющегося негативного опыта, по данным исследований, не ассоциируются с развитием энцефалита, они, на наш взгляд, в наилучшей степени могут быть рекомендованы для профилактики развития и распространения COVID-19 [31].

Одна из возможных форм течения инфекции вирусом гриппа — это гриппозный энцефалит [5]. Обоснованным ожиданием, что в эпидемическом сезоне 2022–2023 гг. в популяции, чей иммунитет был ослаблен и видоизменен неоднократно перенесенной инфекцией нового коронавируса, будут чаще регистрировать поражение нервной системы вирусом гриппа. Предпринятое обследование румынской популяции (дети 1–6 лет, $n = 301$) со сравнением частоты подобного развития событий с предшествующими эпидемическими сезонами показало, что сезон гриппа 2022–2023 гг. характеризовался большим количеством коинфекций (вирусных, бактериальных, грибковых и паразитарных), которые протекали более тяжело, с более длительной госпитализацией и большим количеством осложнений ($p < 0,05$), а время использования оксигенотерапии было статистически значимым ($p < 0,05$); количество прививок против гриппа в обследованной группе было нулевым [32]. Исследователи пришли к выводу, что перенесенный COVID-19 повышает тяжесть заболевания гриппом, по крайней мере, в педиатрической популяции, особенно среди детей раннего возраста, которые более предрасположены к развитию серьезных осложнений. Второй вывод данного исследования состоит в рекомендации к максимально более широкой вакцинации от гриппа.

Полученные данные представляют большой интерес с фундаментальной точки зрения: хорошо известно, что непосредственно во время пандемии COVID-19 заболеваемость гриппом достоверно снижалась во всех регионах мира [33]. Кроме того, отмечали снижение заболеваемости всеми остальными инфекциями,

передающимися по воздуху [34, 35]. Сходные данные имеются и по инфекциям, имеющим другой путь передачи (в частности, ВИЧ и гепатит В) [36]. Выдвигают предположения об активном подавлении циркуляции прочих инфекционных агентов вирусом SARS-COV-2 в период пандемии; тем не менее в настоящее время происходит «возвращение» прочих нозологических форм и, как мы попытались показать в нашей работе, видоизменение заболеваемости и характера течения поражения ЦНС.

Любой энцефалит, несомненно, требует незамедлительного начала лечения. Основной подход в терапии энцефалита состоит в определении этиологического фактора, и при выявлении причины необходимо начинать этиотропное лечение [11, 37–40], подключая патогенетическую и симптоматическую терапию, учитывая при этом возможность более тяжелого течения болезни у лиц, перенесших COVID-19.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Энцефалит — катастрофическое состояние, которое может привести к летальному исходу. Своевременная диагностика и адекватная терапия улучшают прогнозы пациентов. За последние годы отмечают увеличение числа энцефалитов, в том числе и аутоиммунных, а также — числа смертей от них. Не всегда удается выявить клинико-диагностические признаки энцефалита, а клиническая картина бывает смазана или расценивается как проявление другой нозологии. Вероятными факторами повышения случаев энцефалита становятся пандемия вируса COVID-19 и особенности его течения с воздействием на иммунную систему, развитием цитокинового шторма и последующим развитием синдрома Long COVID. Механизмы проникновения и взаимодействия COVID-19 с нервной системой остаются не до конца изученными, однако присоединение энцефалита к течению COVID-19 ухудшает прогноз пациента. Дальнейшее изучение данного вопроса, разработка протоколов лечения будут способствовать профилактике осложнений и летальных исходов.

Литература

1. Ellul M, Solomon T. Acute encephalitis — diagnosis and management. *Clin Med (Lond)*. 2018; 18 (2): 155–9. DOI: 10.7861/clinmedicine.18-2-155. PMID: 29626021. PMCID: PMC6303463.
2. Kumar R. Understanding and managing acute encephalitis. *F1000Res*. 2020; 9: F1000 Faculty Rev-60. DOI: 10.12688/f1000research.20634.1. PMID: 32047620. PMCID: PMC6993835.
3. Лобзин Ю. В., Пилипенко В. В., Громько Ю. Н. Менингиты и энцефалиты. СПб.: Фолиант, 2006; 128 с.
4. Кулаков Д. А., Предко В. А. Структура нейроинфекций среди пациентов реанимационного профиля. *Forcipe*. 2019; 2 (S1): 473–4. EDN BMWLZN.
5. Скрипченко Н. В., Иванова Г. П., Трофимова Т. Н., Мурина Е. А., Скрипченко Е. Ю., Суровцева А. В. Клинико-этиологическая и топическая характеристика энцефалитов у детей. *Российский вестник перинатологии и педиатрии*. 2014; 59 (3): 104–11.
6. Costa BKD, Sato DK. Viral encephalitis: a practical review on diagnostic approach and treatment. *J Pediatr (Rio J)*. 2020; 96 (1): 12–9. DOI: 10.1016/j.jpmed.2019.07.006. PMID: 31513761. PMCID: PMC9431993.
7. Никольская М. В., Ратенко Т. А., Головина Н. А. Энцефалиты в структуре заболеваний нервной системы у госпитальных пациентов. *Вестник Пензенского государственного университета*. 2021; 2: 64–8.
8. Фоминых В. В. Анализ воспалительных и нейродегенеративных процессов у пациентов с аутоиммунными заболеваниями центральной нервной системы [диссертация]. М., 2019.
9. Азизова У. М., Бембеева Р. Ц., Козырева А. А., Заваденко Н. Н. Анти-NMDA-рецепторный энцефалит. *Неврологический журнал имени Л. О. Бадаляна*. 2021; 2 (3): 137–45. DOI: 10.46563/2686-8997-2021-2-3-137-145. EDN JEZLFLK.
10. Titulaer MJ, McCracken L, Gabilondo I, Armangué T, Glaser C, Iizuka T, et al. Treatment and prognostic factors for long-term outcome in patients with anti-NMDA receptor encephalitis: an observational cohort study. *Lancet Neurol*. 2013; 12 (2): 157–65. DOI: 10.1016/s1474-4422(12)70310-1.
11. Шарипова В. Х., Бахадирханов М. М., Касимова Р. И. Лечебно-диагностические методы и осложнения при острых вирусных энцефалитах. *Вестник экстренной медицины*. 2020; 13 (4): 39–44. EDN ZPHHQM.
12. Попонин Н. М., Бондаренко А. Л. Клещевой энцефалит в Кировской области: эпидемиология, клиническая картина и

- исходы заболевания. *Практическая медицина*. 2019; 17 (7): 143–8. EDN IAFWNB.
13. Di Vito A, Donato A, Bria J, Donato F, Donato G. Encephalitis lethargica. What is still wrong? *Int J Immunopathol Pharmacol*. 2023; 37: 3946320231154997. DOI: 10.1177/03946320231154997. PMID: 36716496. PMCID: PMC9892526.
 14. Улуханова Л. У., Карнаева Н. С., Яралиев М. М. и др. Клинический случай энцефалита с антителами к NMDA-рецепторам. *Детские инфекции*. 2019; 18 (4): 67–9. DOI: 10.22627/2072-8107-2019-18-4-67-69. EDN VXZWI.
 15. Sherif ZA, Gomez CR, Connors TJ, Henrich TJ, Reeves WB. RECOVER Mechanistic Pathway Task Force. Pathogenic mechanisms of post-acute sequelae of SARS-CoV-2 infection (PASC). *Elife*. 2023; 12: e86002. DOI: 10.7554/eLife.86002.
 16. Jha NK, Ojha S, Jha SK, Dureja H, Singh SK, Shukla SD, et al. Evidence of Coronavirus (CoV) Pathogenesis and Emerging Pathogen SARS-CoV-2 in the Nervous System: A Review on Neurological Impairments and Manifestations. *J Mol Neurosci*. 2021; 71(11): 2192–209. DOI: 10.1007/s12031-020-01767-6. PMID: 33464535. PMCID: PMC7814864.
 17. Shimohata T. Neuro-COVID-19. *Clin Exp Neuroimmunol*. 2022; 13 (1): 17–23. DOI: 10.1111/cen3.12676. PMID: 34899999. PMCID: PMC8652810.
 18. Ahmad SJ, Feigen CM, Vazquez JP, Kobets AJ, Altschul DJ. Neurological Sequelae of COVID-19. *J Integr Neurosci*. 2022; 21 (3): 77. DOI: 10.31083/j.jin2103077.
 19. Maury A, Lyoubi A, Peiffer-Smadja N, de Broucker T, Meppiel E. Neurological manifestations associated with SARS-CoV-2 and other coronaviruses: A narrative review for clinicians. *Rev Neurol (Paris)*. 2021; 177 (1–2): 51–64. DOI: 10.1016/j.neurol.2020.10.001. PMID: 33446327. PMCID: PMC7832485.
 20. Asiful IM, Cavestro C, Alam SS, Kundu S, Kamal MA, Reza F. Encephalitis in Patients with COVID-19: A Systematic Evidence-Based Analysis. *Cells*. 2022; 11 (16): 2575. DOI: 10.3390/cells11162575.
 21. Kahwagi J, Diagne R, Fall M, Basse A, Ndiaye M, Diop AG. Post infectious encephalitis at Covid19: About one pediatric observation and review of the literature. *Rev Neurol (Paris)*. 2021; 177 (1–2): 132–4. DOI: 10.1016/j.neurol.2020.09.001. PMID: 32951859. PMCID: PMC7494321.
 22. Varadan B, Shankar A, Rajakumar A, et al. Acute hemorrhagic leukoencephalitis in a COVID-19 patient — a case report with literature review. *Neuroradiology*. 2021; 63: 653–61. DOI: 10.1007/s00234-021-02667-1.
 23. Manzano GS, McEntire CRS, Martinez-Lage M, Mateen FJ, Hutto SK. Acute Disseminated Encephalomyelitis and Acute Hemorrhagic Leukoencephalitis Following COVID-19: Systematic Review and Meta-synthesis. *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm*. 2021; 8 (6): e1080. DOI: 10.1212/NXI.0000000000001080. PMID: 34452974. PMCID: PMC8404207.
 24. Matthews E, Beckham JD, Piquet AL, et al. Herpesvirus-Associated Encephalitis: an Update. *Curr Trop Med Rep*. 2022; 9: 92–100. DOI: 10.1007/s40475-022-00255-8.
 25. Доценко, М. Л., Доценко Э. А. Активация герпес-вирусной инфекции как проявление постковидного синдрома. *Рецепт*. 2023; 26 (3): 350–65. DOI: 10.34883/PI.2023.26.3.005. EDN WASKZO.
 26. Gupta S, Dutta A, Chakraborty U, Kumar R, Das D, Ray BK. Post-COVID-19 HSV encephalitis: a review. *QJM*. 2022; 115 (4): 222–7. DOI: 10.1093/qjmed/hcac060. PMID: 35199176. PMCID: PMC9383498.
 27. Nabizadeh F, Balabandian M, Sodeifian F, Rezaei N, Rostami MR, Naser Moghadasi A. Autoimmune encephalitis associated with COVID-19: A systematic review. *Mult Scler Relat Disord*. 2022; 62: 103795. DOI: 10.1016/j.msard.2022.103795. PMID: 35472834. PMCID: PMC8983076.
 28. Ndong AP, Eley B, Wilmshurst JM, Kakooza-Mwesige A, Giannoccaro MP, Willison HJ, et al. Post-Infectious Autoimmunity in the Central (CNS) and Peripheral (PNS) Nervous Systems: An African Perspective. *Front Immunol*. 2022; 13: 833548. DOI: 10.3389/fimmu.2022.833548. PMID: 35356001. PMCID: PMC8959857.
 29. Abdelhady M, Husain MA, Hawas Y, Elazb MA, Mansour LS, Mohamed M. Encephalitis following COVID-19 Vaccination: A Systematic Review. *Vaccines (Basel)*. 2023; 11 (3): 576. DOI: 10.3390/vaccines11030576. PMID: 36992160. PMCID: PMC10054808.
 30. Mansour K, Chadli Z, Ghachem I, Fredj NB, Romdhane HB, Fadel NB, et al. Seronegative acute encephalitis following COVID-19 vaccines: a case series of an overlooked diagnosis with literature review. *Eur J Clin Pharmacol*. 2023; 79 (7): 975–87. DOI: 10.1007/s00228-023-03510-7. PMID: 37231308. PMCID: PMC10212735.
 31. Study of the Immunogenicity, Safety and Tolerability of the Convacell Vaccine. *ClinicalTrials.gov*. 2023; Available from: <https://clinicaltrials.gov/study/NCT05156723>.
 32. Merişescu MM, Luminos ML, Pavelescu C, Jugulete G. Clinical Features and Outcomes of the Association of Co-Infections in Children with Laboratory-Confirmed Influenza during the 2022–2023 Season: A Romanian Perspective. *Viruses*. 2023; 15 (10): 2035. DOI: 10.3390/v15102035.
 33. Olsen SJ. Decreased influenza activity during the COVID-19 pandemic—United States, Australia, Chile, and South Africa, 2020. *MMWR Morb. Mortal. Wkly. Rep*. 2020; 69: 1305–9. DOI: 10.15585/mmwr.mm6937a6.
 34. Merced-Morales A, Daly P, Abd Elal AI, Ajayi N, Annan E, Budd A, et al. Influenza Activity and Composition of the 2022–23 Influenza Vaccine — United States, 2021–22 Season. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2022; 71 (29): 913–9. DOI: 10.15585/mmwr.mm7129a1.
 35. Schüz ML, Dallmeyer L, Fragkou PC, Omony J, Krumbein H, Hünerbein BL, et al. Global prevalence of respiratory virus infections in adults and adolescents during the COVID-19 pandemic: A systematic review and meta-analysis. *Int J Infect Dis*. 2023; 137: 16–24. DOI: 10.1016/j.ijid.2023.10.001.
 36. Боева Е. В., Беляков Н. А., Симакина О. Е. и др. Эпидемиология и течение инфекционных заболеваний на фоне пандемии COVID-19. Сообщение 2. Реализация интерференции между SARS-COV-2 и возбудителями острых респираторных вирусных инфекций. *Инфекция и иммунитет*. 2022; 12 (6): 1029–39. DOI: 10.15789/2220-7619-EAC-1960.
 37. Временные методические рекомендации: профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID 19), версия 18. Москва. 26.10.2023.
 38. Nguyen L, Wang C. Anti-NMDA Receptor Autoimmune Encephalitis: Diagnosis and Management Strategies. *Int J Gen Med*. 2023; 16: 7–2. DOI: 10.2147/IJGM.S397429.
 39. Wei ZD, Liang K, Shetty AK. Complications of COVID-19 on the Central Nervous System: Mechanisms and Potential Treatment for Easing Long COVID. *Aging Dis*. 2023; 14 (5): 1492–510. DOI: 10.14336/AD.2023.0312. PMID: 37163427. PMCID: PMC10529748.
 40. Зверева Е. А., Иванова А. Г. Клещевой энцефалит. Причины, симптомы, Диагностика. Средства профилактики и лечение. *Научосфера*. 2021; (1): 28–32. EDN BPCFGB.

References

1. Ellul M, Solomon T. Acute encephalitis — diagnosis and management. *Clin Med (Lond)*. 2018; 18 (2): 155–9. DOI: 10.7861/clinmedicine.18-2-155. PMID: 29626021. PMCID: PMC6303463.
2. Kumar R. Understanding and managing acute encephalitis. *F1000Res*. 2020; 9: F1000 Faculty Rev-60. DOI: 10.12688/f1000research.20634.1. PMID: 32047620. PMCID: PMC6993835.
3. Lobzin YuV, Piliipenko VV, Gromyko YuN. Meningity i entsefaloty. SPb.: Foliant, 2006; 128 p. Russian.
4. Kulakov DA, Predko VA. Struktura neyroinfektsiy sredi patsientov reanimatsionnogo profilya. *Forcipe*. 2019; 2 (S1): 473–4. EDN BMWLZN. Russian.
5. Skripchenko NV, Ivanova GP, Trofimova TN, Murina EA, Skripchenko EYu, Surovtseva AV. Encephalitis in children: Clinical, etiological, and topical characteristics. *Russian Bulletin of*

- Perinatology and Pediatrics. 2014; 59 (3): 104–11. Russian.
6. Costa BKD, Sato DK. Viral encephalitis: a practical review on diagnostic approach and treatment. *J Pediatr (Rio J)*. 2020; 96 (1): 12–9. DOI: 10.1016/j.jpmed.2019.07.006. PMID: 31513761. PMCID: PMC9431993.
 7. Nikolskaya MV, Ratenko TA, Golovina NA. Entsefalit v strukture zabollevaniy nervnoy sistemy u hospital'nykh patsientov. *Vestnik Penzenskogo gosudarstvennogo universiteta*. 2021; 2: 64–8. Russian..
 8. Fominykh VV. Analiz vospalitel'nykh i neyrodegenerativnykh protsessov u patsientov s autoimmunnymi zabollevaniyami tsentral'noy nervnoy sistemy [dissertation]. M., 2019. Russian.
 9. Azizova UM, Bembeeva RTs, Kozyreva AA, Zavadenko NN. Anti-NMDA receptor encephalitis. *L.O. Badalyan Neurological Journal*. 2021; 2 (3): 137–45. DOI: 10.46563/2686-8997-2021-2-3-137-145. EDN JEZLFK. Russian.
 10. Titulaer MJ, McCracken L, Gabilondo I, Armangué T, Glaser C, Iizuka T, et al. Treatment and prognostic factors for long-term outcome in patients with anti-NMDA receptor encephalitis: an observational cohort study. *Lancet Neurol*. 2013; 12 (2): 157–65. DOI: 10.1016/s1474-4422(12)70310-1.
 11. Sharipova VH, Bakhadirkanov MM, Kasimova RI. Therapeutic and diagnostic methods and complications of acute viral encephalitis. *The Bulletin of Emergency Medicine*. 2020; 13 (4): 39–44. EDN ZPHHQM. Russian.
 12. Poponin NM, Bondarenko AL. Tick-borne encephalitis in the Kirov Region: epidemiology, clinical picture and outcomes. *Practical Medicine*. 2019; 17 (7): 143–8. EDN IAFWNB. Russian.
 13. Di Vito A, Donato A, Bria J, Donato F, Donato G. Encephalitis lethargica. What is still wrong? *Int J Immunopathol Pharmacol*. 2023; 37: 3946320231154997. DOI: 10.1177/03946320231154997. PMID: 36716496. PMCID: PMC9892526.
 14. Ulukhanova LU, Kamyayeva NS, Yarialiev MM, Gadzhimirzaeva AG, Agaeva SG. Clinical case of encephalitis with antibodies to NMDA receptors. *Children infections*. 2019; 18 (4): 67–9. DOI: 10.22627/2072-8107-2019-18-4-67-69. EDN VXZXWI. Russian.
 15. Sherif ZA, Gomez CR, Connors TJ, Henrich TJ, Reeves WB. RECOVER Mechanistic Pathway Task Force. Pathogenic mechanisms of post-acute sequelae of SARS-CoV-2 infection (PASC). *Elife*. 2023; 12: e86002. DOI: 10.7554/eLife.86002.
 16. Jha NK, Ojha S, Jha SK, Dureja H, Singh SK, Shukla SD, et al. Evidence of Coronavirus (CoV) Pathogenesis and Emerging Pathogen SARS-CoV-2 in the Nervous System: A Review on Neurological Impairments and Manifestations. *J Mol Neurosci*. 2021; 71(11): 2192–209. DOI: 10.1007/s12031-020-01767-6. PMID: 33464535. PMCID: PMC7814864.
 17. Shimohata T. Neuro-COVID-19. *Clin Exp Neuroimmunol*. 2022; 13 (1): 17–23. DOI: 10.1111/cen3.12676. PMID: 34899999. PMCID: PMC8652810.
 18. Ahmad SJ, Feigen CM, Vazquez JP, Kobets AJ, Altschul DJ. Neurological Sequelae of COVID-19. *J Integr Neurosci*. 2022; 21 (3): 77. DOI: 10.31083/j.jin2103077.
 19. Maury A, Lyoubi A, Peiffer-Smadja N, de Broucker T, Meppiel E. Neurological manifestations associated with SARS-CoV-2 and other coronaviruses: A narrative review for clinicians. *Rev Neurol (Paris)*. 2021; 177 (1–2): 51–64. DOI: 10.1016/j.neurol.2020.10.001. PMID: 33446327. PMCID: PMC7832485.
 20. Asiful IM, Cavestro C, Alam SS, Kundu S, Kamal MA, Reza F. Encephalitis in Patients with COVID-19: A Systematic Evidence-Based Analysis. *Cells*. 2022; 11 (16): 2575. DOI: 10.3390/cells11162575.
 21. Kahwagi J, Diagne R, Fall M, Basse A, Ndiaye M, Diop AG. Post infectious encephalitis at Covid19: About one pediatric observation and review of the literature. *Rev Neurol (Paris)*. 2021; 177 (1–2): 132–4. DOI: 10.1016/j.neurol.2020.09.001. PMID: 32951859. PMCID: PMC7494321.
 22. Varadan B, Shankar A, Rajakumar A, et al. Acute hemorrhagic leukoencephalitis in a COVID-19 patient — a case report with literature review. *Neuroradiology*. 2021; 63: 653–61. DOI: 10.1007/s00234-021-02667-1.
 23. Manzano GS, McEntire CRS, Martinez-Lage M, Mateen FJ, Hutto SK. Acute Disseminated Encephalomyelitis and Acute Hemorrhagic Leukoencephalitis Following COVID-19: Systematic Review and Meta-synthesis. *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm*. 2021; 8 (6): e1080. DOI: 10.1212/NXI.0000000000001080. PMID: 34452974. PMCID: PMC8404207.
 24. Matthews E, Beckham JD, Piquet AL, et al. Herpesvirus-Associated Encephalitis: an Update. *Curr Trop Med Rep*. 2022; 9: 92–100. DOI: 10.1007/s40475-022-00255-8.
 25. Dotsenko ML, Dotsenko EA. Aktivatsiya herpes-virusnoy infektsii kak proyavlenie postkovidnogo sindroma. *Retsept*. 2023; 26 (3): 350–65. DOI: 10.34883/Pl.2023.26.3.005. EDN WASKZO. Russian.
 26. Gupta S, Dutta A, Chakraborty U, Kumar R, Das D, Ray BK. Post-COVID-19 HSV encephalitis: a review. *QJM*. 2022; 115 (4): 222–7. DOI: 10.1093/qjmed/hcac060. PMID: 35199176. PMCID: PMC89383498.
 27. Nabizadeh F, Balabandian M, Sodeifian F, Rezaei N, Rostami MR, Naser Moghadasi A. Autoimmune encephalitis associated with COVID-19: A systematic review. *Mult Scler Relat Disord*. 2022; 62: 103795. DOI: 10.1016/j.msard.2022.103795. PMID: 35472834. PMCID: PMC8983076.
 28. Ndong AP, Eley B, Wilmschurst JM, Kakooza-Mwesige A, Giannoccaro MP, Willison HJ, et al. Post-Infectious Autoimmunity in the Central (CNS) and Peripheral (PNS) Nervous Systems: An African Perspective. *Front Immunol*. 2022; 13: 833548. DOI: 10.3389/fimmu.2022.833548. PMID: 35356001. PMCID: PMC8959857.
 29. Abdelhady M, Husain MA, Hawas Y, Elazb MA, Mansour LS, Mohamed M. Encephalitis following COVID-19 Vaccination: A Systematic Review. *Vaccines (Basel)*. 2023; 11 (3): 576. DOI: 10.3390/vaccines11030576. PMID: 36992160. PMCID: PMC10054808.
 30. Mansour K, Chadli Z, Ghachem I, Fredj NB, Romdhane HB, Fadhel NB, et al. Seronegative acute encephalitis following COVID-19 vaccines: a case series of an overlooked diagnosis with literature review. *Eur J Clin Pharmacol*. 2023; 79 (7): 975–87. DOI: 10.1007/s00228-023-03510-7. PMID: 37231308. PMCID: PMC10212735.
 31. Study of the Immunogenicity, Safety and Tolerability of the Convacell Vaccine. *ClinicalTrials.gov*. 2023; Available from: <https://clinicaltrials.gov/study/NCT05156723>.
 32. Merişescu MM, Luminos ML, Pavelescu C, Jugulete G. Clinical Features and Outcomes of the Association of Co-Infections in Children with Laboratory-Confirmed Influenza during the 2022–2023 Season: A Romanian Perspective. *Viruses*. 2023; 15 (10): 2035. DOI: 10.3390/v15102035.
 33. Olsen SJ. Decreased influenza activity during the COVID-19 pandemic—United States, Australia, Chile, and South Africa, 2020. *MMWR Morb. Mortal. Wkly. Rep*. 2020; 69: 1305–9. DOI: 10.15585/mmwr.mm6937a6.
 34. Merced-Morales A, Daly P, Abd Elal AI, Ajayi N, Annan E, Budd A, et al. Influenza Activity and Composition of the 2022–23 Influenza Vaccine — United States, 2021–22 Season. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2022; 71 (29): 913–9. DOI: 10.15585/mmwr.mm7129a1.
 35. Schüz ML, Dallmeyer L, Fragkou PC, Omony J, Krumbain H, Hünerbein BL, et al. Global prevalence of respiratory virus infections in adults and adolescents during the COVID-19 pandemic: A systematic review and meta-analysis. *Int J Infect Dis*. 2023; 137: 16–24. DOI: 10.1016/j.ijid.2023.10.001.
 36. Boeva EV, Belyakov NA, Simakina OE, et al. Epidemiology and course of infectious diseases during the COVID-19 pandemic. Report 2. Interference engaged between SARS-CoV-2 and acute respiratory viral infections. *Russian Journal of Infection and Immunity*. 2022; 12 (6): 1029–39. DOI: 10.15789/2220-7619-EAC-1960. Russian.
 37. Vremennye metodicheskie rekomendatsii: profilaktika, diagnostika i lechenie novoy koronavirusnoy infektsii (COVID 19), versiya 18. Moskva. 26.10.2023. Russian.
 38. Nguyen L, Wang C. Anti-NMDA Receptor Autoimmune Encephalitis: Diagnosis and Management Strategies. *Int J Gen Med*. 2023; 16: 7–2. DOI: 10.2147/IJGM.S397429.
 39. Wei ZD, Liang K, Shetty AK. Complications of COVID-19 on the Central Nervous System: Mechanisms and Potential Treatment for Easing Long COVID. *Aging Dis*. 2023; 14 (5): 1492–510. DOI: 10.14336/AD.2023.0312. PMID: 37163427. PMCID: PMC10529748.
 40. Tick-borne encephalitis. Causes, symptoms, diagnosis. Means of prevention and treatment. Средства профилактики и лечение. *Naukosfera*. 2021; 7 (1): 28–32. EDN BPCFGB. Russian.

СОВРЕМЕННЫЕ ПОДХОДЫ К ОЦЕНКЕ МИНИМАЛЬНОЙ ОСТАТОЧНОЙ БОЛЕЗНИ ПРИ МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМЕ (ПЛАЗМОКЛЕТОЧНОЙ МИЕЛОМЕ)

Т. В. Глазанова [✉], Е. Р. Шилова, С. С. Бессмельцев

Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства, Санкт-Петербург, Россия

Лечение множественной миеломы (ММ) неразрывно связано с необходимостью оценки и мониторинга минимальной остаточной болезни (МОБ). Определение МОБ является важной задачей, позволяющей более глубоко оценить эффективность терапии, получить значимую прогностическую информацию, и является определяющим критерием степени эрадикации опухолевого клона. Это обуславливает необходимость совершенствования методов выявления остаточных опухолевых клеток и приводит к обновлению критериев определения глубины ответа в соответствии с уровнем МОБ. В настоящее время не существует единого метода обнаружения МОБ, рекомендуется использовать как интрамедуллярную, так и экстрамедуллярную детекцию патологических клеток. В обзоре описаны современные методы определения МОБ, включая методы визуализации, выявления остаточных опухолевых клеток в образцах костного мозга и периферической крови с использованием многопараметрической проточной цитометрии (МПЦ), в том числе нового поколения (NGF), и методы, основанные на анализе ДНК — аллель-специфичная олигонуклеотидная полимеразная цепная реакция (АКО-ПЦР) и секвенирование нового поколения (NGS). Проведен сравнительный анализ их преимуществ, ограничений, недостатков и, соответственно, клинической значимости. Показаны необходимые пороги чувствительности описываемых методов и ситуации, в которых применение того или иного метода является оптимальным для диагностики МОБ.

Ключевые слова: множественная миелома, минимальная остаточная болезнь, методы оценки, проточная цитометрия, секвенирование нового поколения

Вклад авторов: Т. В. Глазанова — разработка концепции, сбор и анализ литературы; Е. Р. Шилова — редактирование текста, подготовка рукописи; С. С. Бессмельцев — редактирование текста, утверждение окончательного варианта статьи.

✉ **Для корреспонденции:** Татьяна Валентиновна Глазанова
2-я Советская ул., д. 16, г. Санкт-Петербург, 191023; tatyana-glazanova@yandex.ru

Статья получена: 16.11.2023 **Статья принята к печати:** 20.12.2023 **Опубликована онлайн:** 31.12.2023

DOI: 10.47183/mes.2023.062

MODERN APPROACHES TO ASSESSMENT OF MINIMAL RESIDUAL DISEASE IN MULTIPLE MYELOMA (PLASMA CELL MYELOMA) CASES

Glazanova TV [✉], Shilova ER, Bessmeltsev SS

Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology of the Federal Medical-Biological Agency, Saint Petersburg, Russia

The treatment of multiple myeloma is inextricably linked to the need for assessment and monitoring of the minimal residual disease (MRD). Assessment of the MRD allows evaluating the efficacy of therapy and obtaining significant prognostic information; it is an indicator of the degree of eradication of the tumor clone. The methods for detecting residual tumor cells evolve constantly, which translates into updates of the criteria reflecting the scale of response to therapy. There is no single MRD detection technique; common recommendations suggest seeking for pathological cells both intramedullary and extramedullary. This review describes current MDR determination methods, including imaging, next generation multiparametric flow cytometry, and methods based on DNA analysis — allele-specific oligonucleotide polymerase chain reaction and next generation sequencing. We compare their advantages, limitations, disadvantages, clinical significance, and show the necessary sensitivity thresholds of the described methods and the conditions that make this or that approach ideal in the context of detection of MRD.

Keywords: multiple myeloma, minimal residual disease, methods of assessment, flow cytometry, next generation sequencing

Author contributions: Glazanova TV — concept development, collection and analysis of literature; Shilova ER — article editing, authoring; Bessmeltsev SS — article editing, approval of its final version.

✉ **Correspondence should be addressed:** Tatyana V. Glazanova
Sovetskaya, 16, St. Petersburg, 191023, Russia; tatyana-glazanova@yandex.ru

Received: 16.11.2023 **Accepted:** 20.12.2023 **Published online:** 31.12.2023

DOI: 10.47183/mes.2023.062

Множественная миелома (ММ) — В-клеточная злокачественная опухоль, морфологическим субстратом которой служат плазматические клетки, продуцирующие моноклональный иммуноглобулин. Согласно версии классификации Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) 2017 г., термин «множественная миелома» заменен на термин «плазмноклеточная миелома». Между тем в 5-ом издании классификации гематолимфоидных опухолей ВОЗ от 2022 г. при обсуждении зрелых лимфоидных и гистиоцитарно-дендритно-клеточных новообразований был выработан Международный консенсус (International Consensus Classification of Mature Lymphoid Neoplasms), и эксперты решительно поддержали термин «множественная миелома», а не «плазмноклеточная миелома» [1]. Поэтому

в статье использован главным образом хорошо известный специалистам-гематологам термин «множественная миелома».

Общепризнано, что мониторинг минимальной остаточной болезни (МОБ) при множественной миеломе, т. е. детекция миеломных клеток на субклиническом уровне после успешной противоопухолевой терапии, представляет собой важную задачу, позволяющую более глубоко оценить эффективность терапии, получить значимую прогностическую информацию в отношении общей выживаемости (ОВ) и выживаемости без прогрессии (ВБП) больных ММ и служит определяющим критерием степени эрадикации опухолевого клона. В связи с этим постоянно совершенствуются методы выявления

остаточных опухолевых клеток, обновляются категории определения глубины ответа в соответствии с уровнем МОБ [2–4].

В последние годы методы обнаружения МОБ быстро развивались, их чувствительность и применимость значительно расширились. Для повышения чувствительности детекции миеломных клеток были разработаны новые высокопроизводительные методы оценки аспиратов костного мозга (КМ), включая многопараметрическую проточную цитометрию (МПЦ), аллель-специфичную олигонуклеотидную качественную полимеразную цепную реакцию и секвенирование нового поколения (NGS). Эти методы дают возможность проводить быстрое исследование от нескольких тысяч до миллиона клеток КМ или соответствующего количества ДНК за один тест и позволяют выполнять количественную оценку остаточных опухолевых клеток в КМ.

Известно, что и у пациентов, достигших МОБ-негативного статуса (МОБ(-)), неизбежно развитие рецидива, при этом у части пациентов невозможно выявить опухолевые клетки методом как МПЦ, так и ПЦР, что свидетельствует о необходимости дальнейших усилий по стандартизации и улучшению диагностики МОБ.

Более низкая величина предельного уровня (cutoff) выявления МОБ при чувствительных видах анализа, таких как NGS или высокочувствительная МПЦ, будет способствовать дальнейшему улучшению возможностей прогнозирования заболевания [5, 6]. Так, с использованием метода NGS и выделением трех групп пациентов с учетом времени до прогрессирования (ВдП) было показано, что пациенты с высоким ($< 10^{-3}$), промежуточным (10^{-3} – 10^{-5}) и низким ($> 10^{-5}$) уровнем МОБ характеризовались значительными различиями в величине ВдП (27, 48 и 80 месяцев соответственно) [5]. Таким образом, 10^{-5} на настоящий момент, как правило, расценивают как целевой предельный уровень для определения МОБ-негативного статуса.

В 2016 г. международной рабочей группой по изучению миеломы (International Myeloma Working Group, IMWG) опубликованы следующие критерии МОБ(-)-статуса [7]:

- устойчивый МОБ(-)-статус, т. е. МОБ-негативность клеток КМ с использованием NGF и/или NGS и визуализации с использованием позитронно-эмиссионной и компьютерной томографии (ПЭТ-КТ), сохраняющаяся в течение года;
- МОБ-негативность при использовании проточной цитометрии, т. е. отсутствие клональных плазматических клеток (ПК) с aberrантным фенотипом по результатам NGF в аспиратах КМ с использованием стандартной операционной процедуры EuroFlow для обнаружения МОБ (или эквивалентного валидированного метода) с минимальной чувствительностью 10^{-5} или выше;
- МОБ-негативность при использовании метода секвенирования — отсутствие клональных ПК при NGS аспиратов КМ, в которых присутствие клона определяется как менее двух одинаковых считываний, полученных после секвенирования ДНК аспиратов КМ с минимальной чувствительностью 10^{-5} или выше;
- МОБ-негативность по результатам NGF или NGS плюс исчезновение каждой области повышенного поглощения индикатора, обнаруженной на исходном уровне или предшествующей ПЭТ-КТ, или снижение до меньшего, чем SUV средостения, или снижение до меньшего, чем в норме.

Цель данного обзора — провести сравнительный анализ преимуществ, ограничений, недостатков и клинической значимости современных методов определения МОБ с

описанием оптимального выбора того или иного метода в различных клинических ситуациях.

Методы оценки МОБ при множественной (плазмноклеточной) миеломе

Серологические методы определения опухолевого клона

Для диагностики и мониторинга опухолевой нагрузки при ММ используют определение свободных легких цепей (СЛЦ) в сыворотке и в моче [8]. В настоящее время определение сывороточных κ и λ СЛЦ стало частью рутинных клинических анализов, в особенности для диагностики и наблюдения за пациентами с несекретирующей и олигосекретирующей миеломой и AL-амилоидозом [9].

Еще в 2006 г. международная группа IMWG включила нормализацию уровня СЛЦ и отсутствие в биоптатах КМ пациентов с ММ клональных миеломных клеток, определяемых с помощью иммуногистохимии и/или иммунофлюоресценции, в качестве дополнительных требований при определении более строгих критериев полного ответа (ПО) [10]. Соотношение СЛЦ при постановке диагноза служит независимым прогностическим фактором агрессивности заболевания [11], а также способствует улучшению стратификации на группы риска [12]. Однако взгляды относительно включения СЛЦ в качестве рутинного метода мониторинга МОБ у пациентов с ММ остаются противоречивыми, поскольку в некоторых исследованиях приводят противоположные результаты, даже в отношении ответа на терапию [13, 15]. Так, показано, что нормализация уровня СЛЦ не была ассоциирована с увеличением выживаемости у пациентов с ПО, установленным по традиционным критериям. Кроме того, высказано предположение, что определение СЛЦ следует заменить на определение тяжелых цепей и считать их в большей степени суррогатным маркером восстановления иммунной системы, нежели средством мониторинга МОБ, и СЛЦ нельзя расценивать как достоверный метод оценки МОБ при миеломе, хотя соотношение СЛЦ включено в критерии оценки ответа.

Морфологическое исследование

Морфологическое исследование КМ — наиболее часто используемый метод определения опухолевой нагрузки при ММ. Самостоятельное прогностическое значение микроскопического исследования КМ показано в ряде крупных исследований [16, 17], однако его чувствительность ограничена количеством клеток, подлежащих оценке, а также вариабельностью условий забора образца.

Методы визуализации

В отличие от многих других гематологических заболеваний, характер инфильтрации КМ клетками ММ может быть различным в зависимости от варианта заболевания и места взятия пробы, а разведение аспиратов КМ периферической кровью может приводить к ложноотрицательным результатам. Эти проблемы, наряду с возможностью экстрамедуллярных (ЭМ) поражений, приводят к сложностям и неоднозначностям в интерпретации результатов всех методов, где для оценки МОБ используют КМ. Поэтому МОБ(-)-результаты могут быть ложноотрицательными. Применение альтернативных методов, таких как методы визуализации [18, 19],

мониторирование клоногенных клеток-предшественников ММ [19, 20] или циркулирующих опухолевых миеломных клеток может дать дополнительную информацию о наличии МОБ [2]. Чувствительные методы визуализации — надежное средство оценки ЭМ поражений малой величины ввиду высокой частоты ЭМ рецидивов при ММ. Магнитно-резонансная томография (МРТ) — наиболее чувствительный неинвазивный метод для выявления очагов в костях скелета и оценки распространенности и природы поражения мягких тканей и типа инфильтрации КМ. Этот метод показан в том числе при моноклональных гаммапатиях неопределенного значения (MGUS) и тлеющей миеломе, так как выявляет очаги размером 5 мм и, таким образом, уточняет прогрессирование опухолевого процесса. Однако при наличии некроза и воспаления очаговые поражения могут оставаться сверхинтенсивными как у ответивших, так и у не ответивших на терапию пациентов, поэтому заключение о достижении ПО на основании результатов МРТ бывает невозможно сделать однозначно.

Тогда как МРТ не позволяет правильно оценить активные очаги при миеломе после терапии, визуализация с помощью позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ) доказала свою прогностическую значимость [18, 21] и может быть наиболее эффективным средством мониторинга МОБ при ММ. Специфическое достоинство ПЭТ — это способность выявлять как костномозговые, так и ЭМ очаги поражения, дифференцировать активные опухолевые и некротические ткани. Несмотря на широкое использование метода ПЭТ/КТ, сочетающего томографию и изотопный метод, существует ряд проблем: не у всех пациентов с ММ наблюдают выявляемые очаги (ПЭТ-авидные), и интерпретация данных осложняется гетерогенностью критериев визуализации и недостаточной воспроизводимостью у разных исследователей. Кроме того, ПЭТ/КТ не всегда достаточно информативна ввиду таких недостатков, как предел пространственного разрешения в 0,5 см и вероятность ложноотрицательных результатов при очень низком поглощении фтордезоксиглюкозы. При повторных исследованиях необходимо учитывать уровень радиационного облучения — более высокий по сравнению с рентгенографией и КТ [22, 23].

При оценке результативности терапии более специфичную ПЭТ/КТ с фтордезоксиглюкозой (¹⁸F-ФДГ) считают эталонным методом визуализации. Сохранение значительного аномального захвата ¹⁸F-ФДГ после лечения служит независимым негативным прогностическим фактором, и данный метод представляет собой важный инструмент для выявления МОБ перед началом поддерживающей терапии. Определение полного метаболического ответа при ПЭТ недавно было стандартизировано, а критерии интерпретации гармонизированы. Отмечены многообещающие результаты использования инновационных радиофармацевтических препаратов, таких как малые молекулы, нацеленные на хемокиновые рецепторы CXCR4, и меченные радиоактивным изотопом антитела к CD38, в качестве потенциальных тераностиков, являющихся одновременно диагностическими и противоопухолевыми средствами [24].

Аллель-специфичная олигонуклеотидная ПЦР (АСО-ПЦР)

Развитие рецидива у пациентов с ММ означает, что не все клоногенные злокачественные клетки были уничтожены и персистируют на выявленные вышеописанными методами остаточные опухолевые клетки. В связи с этим важно более точное мониторирование в ремиссии и рецидиве

с помощью молекулярно-биологических методов, в том числе АСО-ПЦР и количественной ПЦР (полимеразной цепной реакции) в реальном времени (ПЦР-РВ). Гипервариабельный регион реаранжировки генов тяжелых цепей иммуноглобулинов (IgH) используют как опухолевый маркер для детекции МОБ при ММ. Его определение и анализ последовательности требуют разработки аллель-специфичных олигонуклеотидных праймеров и определенного дизайна зондов [25].

Метод АСО-ПЦР для идентификации клональных реаранжировок IgH позволяет определять очень малые количества опухолевых ПК с чувствительностью 1×10^{-5} . В отличие от предшествующих качественных или полуколичественных методов ПЦР, метод АСО-ПЦР позволяет проводить точную количественную оценку МОБ. Он включает изготовление праймеров, комплементарных связывающему (junctional) региону реаранжированных генов IgH и используемых для исследования образцов КМ в различные сроки для определения глубины ответа, что требует наличия первоначального (полученного до начала лечения) диагностического образца.

Среди преимуществ ПЦР-методов детекции МОБ — их чувствительность, точность, воспроизводимость, потребность в небольших количествах ДНК, незаменимость при выполнении ретроспективных исследований. В то же время они более сложные, дорогостоящие, занимают больше времени и позволяют выявлять только исходный опухолевый клон. Тем не менее детекцию опухолевых маркеров при помощи ПЦР широко применяют для клинического исследования пациентов при установлении раннего рецидива или определении опухолевой контаминации гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) при аутологичной трансплантации (аутоТГСК). Таким образом, при использовании полностью специфичных для пациента праймеров/зондов метод АСО-ПЦР эффективен у > 90% пациентов с ММ, позволяя выявлять динамические изменения МОБ при аутоТГСК, несмотря на ПО, установленный общепринятыми методами [26].

NGS

Для оценки МОБ при злокачественных лимфоидных неоплазиях также используют метод NGS — количественный метод, основанный на применении консенсусных праймеров для универсальной амплификации с секвенированием всех реаранжированных сегментов генов Ig, присутствующих в клональных миеломных клетках [5, 27]. Метод NGS показал применимость более чем в 90% случаев и чувствительность $\leq 10^{-6}$. Он может использоваться во многих лабораториях, так как основан на автоматизированном анализе данных и не требует экспертной интерпретации (знания характеристик опухолевого клона), и на результаты молекулярных методов исследования не оказывают влияния генетическая гетерогенность и изменение клоальности злокачественных клеток в процессе лечения. Результаты NGS могут быть также интерпретированы для идентификации субклонов и клоальной эволюции на стадии МОБ [4]. Однако требуется дополнительная валидация для доказательства и подтверждения применимости данного метода при стратификации пациентов на группы риска.

МПЦ

На настоящий момент МПЦ служит одним из основных способов диагностики злокачественных новообразований

Таблица. Сравнение методов оценки МОБ в костном мозге [7]

	АСО-ПЦР	МПЦ	NGS
Применимость	60–70%	Около 100%	≥90%
Потребность в исходном образце	Да, необходимо создание пациент-специфичных зондов	Нет, опухолевые ПК можно определять в любых образцах по их фенотипическим различиям с нормальными ПК	Требуются исходные образцы для идентификации доминирующего клона; альтернатива — хранившиеся образцы с наличием опухолевых клеток для установления исходного статуса
Требования к образцу	< 10 ⁶ клеток	> 5 × 10 ⁶ клеток	< 10 ⁶ клеток, большее количество повышает чувствительность
Обработка образца	Может быть отсрочена; используют свежие и хранящиеся образцы	Исследование в течение 24–48 ч после забора образца	Может быть отсрочена; используют свежие и хранящиеся образцы
Контроль качества образца	Невозможен. Требуются дополнительные исследования	Немедленный с глобальным анализом клеток КМ	Невозможен. Требуются дополнительные исследования
Чувствительность	≥1 в 10 ⁵ клеток	≥1 в 10 ⁵ клеток	≥1 в 10 ⁵ клеток
Дополнительная информация о содержимом образца	Отсутствует	Подробная информация о содержании популяций лейкоцитов	Информация о репертуаре генов Ig В-клеток в исследуемых образцах
Длительность и сложность выполнения	Необходим синтез пациент-специфичных праймеров/зондов; может занять несколько дней	Выполняется за несколько часов; существует автоматизированная система обработки данных	Может занять несколько дней; требуется значительная биоинформационная поддержка
Стандартизация	Выполнена для других заболеваний (EuroMRD), может быть осуществлена и для ММ	Стандартизован EuroFlow	В процессе
Доступность	Широкая; около 60 лабораторий, членов EuroMRD, дважды в год участвуют в проверке контроля качества	Большинство учреждений с проточными цитометрами (4 и более цветов). Многие лаборатории используют протоколы и наборы EuroFlow	Ограничена одной компанией-производителем/платформой

и позволяет выявлять злокачественные ПК в КМ по aberrантной экспрессии поверхностных маркеров приблизительно у 90% пациентов. Шестицветная МПЦ обладает чувствительностью 1×10^{-4} миеломных клеток, использование восьми и более цветов или маркеров повышает чувствительность (до 1×10^{-6} опухолевых клеток) и специфичность метода. Метод также позволяет дифференцировать экспрессию легких κ или λ цепей Ig (IgL) [28, 29]. За последние годы чувствительность МПЦ возросла до $\geq 10^{-5}$ благодаря одновременной оценке 8 и более маркеров в одной пробирке, позволяя определять aberrантные фенотипы ПК для оценки МОБ при подсчете достаточного числа клеток ($\geq 5 \times 10^6$) [30–32]. Создание проточных цитофлуориметров, позволяющих детектировать до 30 маркеров одновременно, привело к увеличению числа флуорохромов, которые могут использовать в одной пробирке, а также количества исследуемых клеток.

МПЦ также позволяет оценить роль опухолевого микроокружения при плазмноклеточных заболеваниях [33] и идентифицировать возможные терапевтические мишени на злокачественных ПК [34].

Описано много поверхностных маркеров, позволяющих отличать опухолевые ПК от нормальных. Наиболее часто используют CD138, CD38, CD45, CD56, CD19 и цитоплазматические κ и λ легкие цепи Ig. Дополнительными диагностическими маркерами, многие из которых характеризуются aberrантной экспрессией на ПК, служат CD20, CD27, CD28, CD81, CD117 и CD200 [35]. При терапии моноклональными антителами против CD38 или CD138 полезными могут оказаться CD54, CD229, CD319. Однако гетерогенность экспрессии этих маркеров и различия в количестве исследуемых событий и стратегии анализа создают сложности и противоречия при интерпретации результатов, полученных в ходе различных исследований [36].

Значение МПЦ подтверждено при прогнозировании результатов аутоТГСК. По данным многих исследователей, МПЦ МОБ(–)-статус на 100-й день у пациентов, получивших аутоТГСК, представляет собой один из наиболее важных предикторов исхода заболевания и ассоциирован со статистически значимым улучшением показателя ВБП вне зависимости от цитогенетических характеристик [6, 37, 38].

По данным исследования, из пациентов после аутоТГСК с поддерживающей терапией леналидомидом в течение года у 58% обследованных удалось достичь ПО, из них 68% были МОБ(–) по результатам МПЦ. Трехлетняя ВБП составляла 77%, а ОВ — 100%. Ни у одного из пациентов, достигших МОБ(–)-статуса, не было рецидива после достижения медианы 39 месяцев [35].

Однако метод МПЦ имеет ряд ограничений: требования, предъявляемые к качеству исследуемых образцов КМ, отсутствие стандартизации протоколов МПЦ и вариабельность чувствительности метода, состав панелей моноклональных антител и качество выполнения в различных лабораториях [39]. Кроме того, методы МПЦ первого поколения не обладают такой чувствительностью, как АСО-ПЦР и NGS.

МПЦ нового поколения (next-generation flow)

Учитывая вариабельность методики выполнения МПЦ, для единообразия критериев установления МОБ требуется выработка консенсуса [40]. Консорциумом EuroFlow и IMWG разработаны более чувствительные методы с новым дизайном и подсчетом большего числа клеток — МПЦ нового поколения (next-generation flow, NGF). Разработана валидированная восьмицветная панель антител для диагностики ММ: 1-я пробирка — CD45/CD138/CD38/CD56/ β_2 микроглобулин/CD19/cyIgkappa/cyIglambda, 2-я пробирка — CD45/CD138/CD38/CD28/CD27/CD19/CD117

[41], где используют четыре базовых маркера (CD38, CD138, CD45, CD19) и восемь дополнительных для последующих идентификации, подсчета и характеристики опухолевых ПК. Данный способ позволяет одновременно анализировать до 10^6 клеток. Разработаны также программные алгоритмы для автоматической идентификации клональных ПК (т. е. МОБ) в образцах КМ.

Метод NGF получил одобрение IMWG в качестве эталонного для установления иммунофенотипических ПО при ММ и достигает чувствительности 2×10^{-6} , превосходя предыдущие протоколы МПЦ (10^{-4} – 10^{-5}), но сильно зависит от точной идентификации патологического иммунофенотипа, что требует высокого уровня квалификации специалиста [42].

Показано также, хотя и на основании небольшого количества данных, что метод NGF превосходит NGS [40]. Оценка МОБ через три месяца после аутоТГСК у пациентов с ММ методом NGS (LymphoTrack®) в сравнении с результатами NGF (EuroFlow) показала, что использование различных образцов КМ повлияло на применимость оценки МОБ с предпочтением NGF, однако корреляция между NGS и NGF была высокой ($r = 0,905$). Трехлетняя ВБП при использовании методов NGS и NGF была выше у МОБ-негативных пациентов по сравнению с МОБ-положительными (NGS: 88,7 против 56,6%; NGF: 91,4 против 50%; $p < 0,001$ для обоих сравнений), что привело к преимуществу трехлетней ОБ (NGS: 96,2 против 77,3%; NGF: 96,6 против 74,9%, $p < 0,01$ для обоих сравнений). В модели регрессии Кокса МОБ-негативность в NGS и NGF имела схожие результаты, но предпочтение отдавали последнему в отношении ВБП (ОР: 0,20, 95% ДИ: 0,09–0,45, $p < 0,001$) и ОБ (ОР: 0,21, 95% ДИ: 0,06–0,75), $p = 0,02$). Полученные результаты показывают, что по чувствительности МПЦ может приближаться к молекулярным методам [43].

С использованием NGF мы можем сегодня войти в новую фазу количественной оценки остаточной болезни, перейдя от определения «минимальной» к «измеримой» остаточной болезни [44].

Применение лечебных препаратов на основе антител к CD38, таких как даратумумаб [45], которые снижают экспрессию антигена CD38 на ПК, также привело к необходимости поиска альтернативных маркеров идентификации нормальных или неопластических ПК. Для этой цели оказались информативными маркеры CD269, CD319, CD229 и CD54, позволяющие идентифицировать ПК в более «сложных» образцах, включая долго хранившиеся [29]. Следует отметить, что на результаты NGS терапия моноклональными антителами не оказывает такого влияния.

Сравнение методов

Каждый из описанных методов оценки МОБ (основанный на фенотипе ПК и/или генотипе) обладает как преимуществами, так и недостатками, которые следует учитывать (см. табл.).

Проведен сравнительный анализ применимости, чувствительности и прогностической значимости метода АСО-ПЦР и МПЦ для оценки МОБ у 170 пациентов с ММ, достигших хотя бы частичного ответа на терапию [46]. Отсутствие выявления клональности (18%), неудачи при секвенировании (10%) и субоптимальные характеристики результатов АСО-ПЦР (30%) ограничили применимость ПЦР до 42% случаев. При сравнении оценки МОБ с помощью ПЦР и МПЦ наблюдали значимую корреляцию результатов обоих методов ($r = 0,881$). Среди пациентов с

полным ответом по результатам ПЦР выделили две группы риска с различной длительностью ВБП (49 vs. 26 месяцев, $p = 0,001$) и ОБ (не достигнуто vs. 60 месяцев, $p = 0,008$). Обладая менее широкой применимостью по сравнению с МПЦ, метод АСО-ПЦР тем не менее позволяет оценивать эффективность терапии и проводить стратификацию больных ММ на группы риска [46].

В свете появления новых подходов к терапии ММ и новых препаратов проведено сравнение способности этих методов прогнозировать результат лечения [47]. Оба они дали практически идентичные кривые выживаемости с очень высокими прогностическими значениями при оценке МОБ как у интенсивно, так и не интенсивно леченных пациентов, что подтверждает значимость обоих методов для прогноза результатов терапии. Однако ЭМ рецидивы далеко не всегда выявляют обоими методами.

Таким образом, АСО-ПЦР и МПЦ представляют собой надежные методы для мониторинга эффективности лечения, позволяющие с высокой вероятностью прогнозировать исход как у пациентов после аутоТГСК, так и у не получавших трансплантацию лиц. Метод АСО-ПЦР обладает большей чувствительностью, однако МПЦ используют чаще. МПЦ следует рассматривать как метод выбора при оценке МОБ при ММ, а молекулярные методы можно считать дополнительным инструментом до тех пор, пока не будет продемонстрировано их сравнительное преимущество [48].

Метод ПЦР-РВ обладает большей чувствительностью по сравнению с МПЦ, тогда как МПЦ более простой и быстрый, они могут взаимно дополнять друг друга при оценке МОБ у больных ММ. Показана достоверная корреляция между выявлением МОБ у пациентов с ММ методом ПЦР-РВ и экспрессией CD138 [49].

По результатам исследования RV-ММ-EMN-441 у пациентов, получивших консолидацию в виде аутоТГСК, величина МОБ ниже, чем у получавших курс циклофосфамид + леналидомид + дексаметазон. Прогрессия МОБ предшествовала клиническим проявлениям рецидива с медианой девять месяцев, а биохимическим признакам рецидива — с медианой четыре месяца. Выявление МОБ как методом МПЦ, так и ПЦР-РВ позволило идентифицировать группу низкого риска и лучше охарактеризовать эффект терапии [50].

Идеальный метод выявления МОБ должен обладать рядом необходимых характеристик, в числе которых: высокая применимость (возможность использования у большинства пациентов), высокая чувствительность и специфичность, хорошая возможность выполнения (результаты могут быть получены у большинства пациентов), доступность, небольшая продолжительность, потребность в небольшом объеме исследуемого образца, который хорошо поддается транспортировке, воспроизводимость, доказанная клиническая значимость и экономическая эффективность. Существенный недостаток молекулярного метода, основанного на секвенировании, состоит в потребности в наличии исходного образца для установления опухоль-специфичных последовательностей. В настоящее время не существует методов, которые бы полностью удовлетворяли этим идеальным критериям, однако методы NGS и NGF соответствуют большинству из них [5, 27, 51].

Выявление МОБ в периферической крови

Клональные ПК при ММ обычно локализируются в КМ, однако небольшие их количества можно определять

чувствительными методами в периферической крови у большинства пациентов с ММ. Наличие циркулирующих опухолевых клеток ассоциировано с меньшей ВБП и худшей ОВ. Так, при исследовании ПК в периферической крови методом МПЦ у ранее получавших лечение пациентов с ММ ни у одного из достигших ПО не было выявлено циркулирующих ПК при первичном исследовании, тогда как у пациентов с развившимся рецидивом эти клетки присутствовали [52].

Молекулярно-генетические методы также используют для выявления малых количеств циркулирующих опухолевых клеток в периферической крови. Показано, что, хотя по результатам АСО-ПЦР уровень МОБ в периферической крови был значительно ниже по сравнению с КМ, пациенты после аутоТГСК с негативными результатами АСО-ПЦР через три месяца характеризовались большей бессобытийной выживаемостью (медиана 15 месяцев vs четыре месяца) и ОВ (медиана 52 месяца vs 17 месяцев) [53]. Мониторинг клонотипических клеток в периферической крови методом секвенирования способствовало раннему выявлению рецидива ММ. Результаты другого исследования с применением АСО-ПЦР показали возможность выявления клонов миеломных клеток с частотой менее одной клетки на 10^6 лейкоцитов. При этом удалось выявить миеломные клетки в периферической крови у 96% пациентов [54]. Несмотря на наличие корреляции между величиной ММ-клона при параллельном исследовании образцов КМ и периферической крови, ни у одного из пациентов в описываемых исследованиях не удалось достичь полной ремиссии. В ряде работ оценивали ДНК циркулирующих клеток для выявления небольших количеств остаточных опухолевых клеток, что позволяет также отслеживать отдельные опухолевые клоны [55, 56].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Учитывая значимость определения МОБ-статуса у больных ММ в условиях появления новых препаратов, совершенствования программ трансплантации ГСК и улучшения результатов терапии в целом, особенно важным становится использование в клинической практике наиболее чувствительных и информативных методов выявления остаточных опухолевых клеток.

Идеальный метод мониторинга МОБ должен идентифицировать патологические плазматические клетки с помощью чувствительного, прогностического,

неинвазивного, стандартизированного, экономически эффективного и доступного подхода. Наряду с эволюцией иммунологических подходов существует множество новых постоянно разрабатываемых дополнительных путей выявления остаточных опухолевых клеток в костном мозге и за его пределами.

Методы визуализации, такие как ПЭТ-КТ или МРТ, позволяют выявить остаточное заболевание, включая костномозговые и экстрамедуллярные очаги. При этом недавние исследования показывают, что диффузионно-взвешенная МРТ всего тела (WB-DWI-MRI) может обеспечить лучшую оценку МОБ, чем ПЭТ-КТ с ФДГ [57]. NGS с секвенированием локусов IgH/IgK/IgL для выявления реаранжировок гена Ig в клетках ММ становится важным методом выявления МОБ. Данные NGS могут быть дополнительно интерпретированы для идентификации субклонов, клональной эволюции и роста отдельных клонов на стадии МОБ. Параллельно с другими клиническими оценками следует проводить исследования МОБ в образцах костного мозга с использованием проверенных и стандартизированных процедур, обладающих высоким порогом чувствительности, в идеале 10^{-6} , которые в настоящее время включают NGF и NGS.

Основываясь на анализе плюсов и минусов каждого метода обнаружения МОБ, можно заключить, что в целом, по чувствительности NGS или NGF > МПЦ > АСО-ПЦР, а по применимости — МПЦ или NGF > NGS > АСО-ПЦР, так как метод АСО-ПЦР требует наличия диагностических образцов для идентификации последовательностей клонотипов, специфичных для пациента [4].

Объединение методов NGF, NGS и ПЭТ-КТ для комплексного выявления МОБ ММ — перспективная тенденция, поскольку сочетание интрамедуллярного отрицательного результата МОБ, определяемого с помощью МПЦ или NGS, и экстрамедуллярного отрицательного результата по WB-DWI-MRI или ПЭТ-КТ может обеспечить более точную оценку глубокой ремиссии [58]. В настоящее время на стадии лабораторных и доклинических исследований находятся такие новые методы, как матричная лазерная десорбция/ионизация-масс-спектрометрия, высокоэффективная жидкостная хроматография-масс-спектрометрия, определение циркулирующей внеклеточной ДНК и секвенирование РНК на уровне одной клетки [59, 60]. Включение в программы обследования больных ММ новых альтернативных методов может кардинально изменить оценку МОБ ММ в будущем.

Литература

1. Campo E, Jaffe ES, Cook JR, Quintanilla-Martinez L, Swerdlow SH, Anderson KC. The International Consensus Classification of Mature Lymphoid Neoplasms: a report from the Clinical Advisory Committee. *Blood*. 2022; 140 (11): 1229–53. DOI: 10.1182/blood.2022015851.
2. Paiva B, Chandia M, Puig N, Vidriales MB, Perez JJ, Lopez-Corral L, et al. The prognostic value of multiparameter flow cytometry minimal residual disease assessment in relapsed multiple myeloma. *Haematologica*. 2015; 100 (2): e53–e55. DOI: 10.3324/haematol.2014.115162.
3. Bertamini L, D'Agostino M, Gay F. MRD Assessment in Multiple Myeloma: Progress and Challenges. *Curr Hematol Malig Rep*. 2021; 16 (2): 162–71. DOI: 10.1007/s11899-021-00633-5.
4. Ding H, Xu J, Lin Z, Huang J, F Wang F, Yang Y, et al. Minimal residual disease in multiple myeloma: current status. *Biomark Res*. 2021; 9 (75): 1–10. DOI: 10.1186/s40364-021-00328-2.
5. Martinez-Lopez J, Lahuerta JJ, Pepin F, González M, Barrio S, Ayala R, et al. Prognostic value of deep sequencing method for minimal residual disease detection in multiple myeloma. *Blood*. 2014; 123 (20): 3073–9. DOI: 10.1182/blood-2014-01-550020.
6. Rawstron AC, Gregory WM, De Tute RM, Davies FE, Bell SE, Drayson MT, et al. Minimal Residual Disease in Myeloma by Flow Cytometry: Independent Prediction of Survival Benefit per Log Reduction. *Blood*. 2015; 125: 1932–5. DOI: 10.1182/blood-2014-07-590166.
7. Kumar S, Paiva B, Anderson K, Durie B, Landgren O, Moreau P, et al. International Myeloma Working Group consensus criteria for response and minimal residual disease assessment in multiple

- myeloma. *The Lancet Oncology*. 2016; 17 (8): e328–e346. DOI: 10.1016/S1470-2045(16)30206-6.
8. Голенков А. К., Митина Т. А., Клинушкина Е. Ф., Катаева Е. В., Чуксина Ю. Ю., Черных Ю. Б. и др. Корреляции свободных легких цепей иммуноглобулинов с биохимическими и иммунологическими показателями крови у больных с множественной миеломой. *Вестник гематологии*. 2023; 1 (19): 23–8.
 9. Singhal S, Vickrey E, Krishnamurthy J, Singh V, Allen S, Mehta J. The relationship between the serum free light chain assay and serum immunofixation electrophoresis, and the definition of concordant and discordant free light chain ratios. *Blood*. 2009; 1 (114): 38–9.
 10. Durie BG, Harousseau JL, Miguel Durie JS, Harousseau BG, Miguel JL, Bladé JS, et al. International uniform response criteria for multiple myeloma. *Leukemia*. 2006; 9 (20): 1467–73. DOI: 10.1038/sj.leu.2404284.
 11. Kyrtsolis MC, Vassilakopoulos TP, Kafasi N, Sachanas S, Tzenou T, Papadogiannis A, et al. Prognostic value of serum free light chain ratio at diagnosis in multiple myeloma. *Br J Haematol*. 2007; 3 (137): 240–3. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2007.06561.x.
 12. Van Rhee F, Bolejack V, Hollmig K, Pineda-Roman M, Anaissie E, Epstein J, et al. High serum-free light chain levels and their rapid reduction in response to therapy define an aggressive multiple myeloma subtype with poor prognosis. *Blood*. 2007; 110 (3): 827–32. DOI: 10.1182/blood-2007-01-067728.
 13. Mead GP, Drayson MT. Sensitivity of serum free light chain measurement of residual disease in multiple myeloma patients. 2009; 8 (114): 1717.
 14. Giarin MM, Giaccone L, Sorasio R, Stilgoi C, Amoroso B, Cavallo F, et al. Serum free light chain ratio, total kappa/lambda ratio, and immunofixation results are not prognostic factors after stem cell transplantation for newly diagnosed multiple myeloma. *Clin Chem*. 2009; 55 (8): 1510–6. DOI:10.1373/clinchem.2009.124370.
 15. Kapoor P, Kumar SK, Dispenzieri A, Lacy MQ, Buad F, Dingli D, et al. Importance of achieving stringent complete response after autologous stemcell transplantation in multiple myeloma. *J Clin Oncol*. 2013; 31 (36): 4529–35. DOI:10.1200/JCO.2013.49.0086.
 16. Chee CE, Kumar S, Larson DR, Kyle RA, Dispenzieri A, Gertz MA, et al. The importance of bone marrow examination in determining complete response to therapy in patients with multiple myeloma. *Blood*. 2009; 13 (114): 2617–8. DOI:10.1182/blood-2009-01-198788.
 17. De Larrea F, Tovar N, Rozman M, Laura Rosiñol L, Arostegui JI, Cibeiraet MT, et al. Multiple myeloma in serologic complete remission after autologous stem cell transplantation: impact of bone marrow plasma cell assessment by conventional morphology on disease progression. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2011; 17: 1084–7.
 18. Zamagni E, Patriarca F, Nanni C, Zannetti B, Englaro E, Pezzi A, et al. Prognostic relevance of 18-F FDG PET/CT in newly diagnosed multiple myeloma patients treated with up-front autologous transplantation. *Blood*. 2011; 118 (23): 5989–95. DOI: 10.1182/blood-2011-06-361386.
 19. Reghunathan R, Bi C, Liu SC, Loong KT, Chung TH, Huang G, Chng WJ, et al. Clonogenic multiple myeloma cells have shared stemness signature associated with patient survival. *Oncotarget*. 2013; 4 (8): 1230–40. DOI: 10.18632/oncotarget.1145.
 20. Zent CS, Wilson CS, Tricot G, Jagannath S, Siegel D, Desikanet KR, et al. Oligoclonal protein bands and Ig isotype switching in multiple myeloma treated with high-dose therapy and hematopoietic cell transplantation. *Blood*. 1998; 9 (91): 3518–23.
 21. Sachpekidis C, Goldschmidt H, Dimitrakopoulou-Strauss A. Positron Emission Tomography (PET) Radiopharmaceuticals in Multiple Myeloma. *Molecules*. 2019; 25 (1): 134. DOI: 10.3390/molecules25010134.
 22. Панкратов А. Е., Зейналова П. А. Роль ПЭТ/КТ в диагностике и оценке эффекта у больных множественной миеломой. *Онкогематология*. 2021; 16 (3): 33–9. DOI: 10.17650/1818-8346-2021-16-3-33-39.
 23. Ghimire K, Rajkumar SV, Dispenzieri A, Lacy MQ, Gertz MA, Buadi FK, et al. Incidence and survival outcomes of extramedullary myeloma. *Blood*. 2013; 122 (21): 3141. DOI: 10.1182/blood.V122.21.1696.1696.
 24. Kraeber-Bodere F, Jamet B, Bezzi D, Zamagni E, Moreau P, Nanni C. New Developments in Myeloma Treatment and Response Assessment. *J Nucl Med*. 2023; 64 (9): 1331–43. DOI:10.2967/jnumed.122.264972.
 25. Van der Velden VH, Cazzaniga G, Schrauder A, Hancock J, Bader P, Panzer-Grumayer ER, et al. Analysis of minimal residual disease by Ig/TCR gene rearrangements: guidelines for interpretation of real-time quantitative PCR data. *Leukemia*. 2007; 21: 604–11.
 26. Bai Y, Wong K, Fung T, Chim C. High applicability of ASO-RQPCR for detection of minimal residual disease in multiple myeloma by entirely patient-specific primers/probes. *J Hematol Oncol*. 2016; 9 (1): 107. DOI: 10.1016/s1083-8791(00)70006-1.
 27. Ladetto M, Donovan JW, Harig S, Trojan A, Poor C, Schlossnaget R, et al. Real-time polymerase chain reaction of immunoglobulin rearrangements for quantitative evaluation of minimal residual disease in multiple myeloma. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2000; 6: 241–53.
 28. Paiva BN, Gutierrez CL, Rosinol MB, Vidriales MB, Montalban MA, Martinez-Lopez J, et al. High-risk cytogenetics and persistent minimal residual disease by multiparameter flow cytometry predict unsustainable complete response after autologous stem cell transplantation in multiple myeloma. *Blood*. 2012; 119 (3): 687–91. DOI: 10.1182/blood-2011-07-370460.
 29. Rawstron AC, Child JA, de Tute RM, Davies FE, Gregory WM, Bell SE, et al. Minimal residual disease assessed by multiparameter flow cytometry in multiple myeloma: impact on outcome in the Medical Research Council Myeloma IX Study. *J Clin Oncol*. 2013; 31 (20): 2540–7. DOI: 10.1200/JCO.2012.46.2119.
 30. Kalina T, Flores-Montero J, Lecomte Q, Pedreira CE, van der Velden VH, Novakova M, et al. Quality assessment program for EuroFlow protocols: summary results of four-year (2010–2013) quality assurance rounds. *Cytometry A*. 2015; 87 (2): 145–56. DOI: 10.1002/cyto.a.22581.
 31. Гривцова Л. Ю., Лунин В. В., Семенова А. А., Ларионова В. Б., Тумян Г. С. Минимальная остаточная болезнь при плазмоклеточной (множественной) миеломе: проточнo-цитометрические подходы. *Онкогематология*. 2020; 15 (1): 40–50. DOI: 10.17650/1818-8346-2020-15-1-40-50.
 32. Толстых Е. Э., Тупицын Н. Н. Ключевые маркеры диагностики минимальной остаточной болезни при множественной миеломе. *Российский биотерапевтический журнал*. 2022; 21 (1): 42–9. DOI: 10.17650/1726-9784-2022-21-1-42-4.
 33. Paiva B, Azpilikueta A, Puig N, Ocio EM, Sharma R, Oyajobi BO, et al. PD-L1/PD-1 presence in the tumor microenvironment and activity of PD-1 blockade in multiple myeloma. *Leukemia*. 2015; 29 (10): 2110–3. DOI:10.1038/leu.2015.79.
 34. Raja KR, Kovarova L, Hajek R. Review of phenotypic markers used in flow cytometric analysis of MGUS and MM, and applicability of flow cytometry in other plasma cell disorders. *Br J Haematol*. 2010; 149: 334–51.
 35. Stetler-Stevenson M, Paiva B, Stoolman L, Lin P, Jorgensen JL, Orfao A, et al. Consensus guidelines for myeloma minimal residual disease sample staining and data acquisition. *Cytometry B Clin Cytom*. 2015; 90: 26–30. DOI: 10.1002/cyto.b.21249.
 36. Flanders A, Stetler-Stevenson M, Landgren O. Minimal residual disease testing in multiple myeloma by flow cytometry: major heterogeneity. *Blood*. 2013; 122: 1088–89.
 37. Paiva B, Gutierrez NC, Rosinol L, Vidriales MB, Montalban MA, Martinez-Lopez J, et al. High-risk cytogenetics and persistent minimal residual disease by multiparameter flow cytometry predict unsustainable complete response after autologous stem cell transplantation in multiple myeloma. *Blood*. 2012; 119 (3): 687–91. DOI: 10.1182/blood-2011-07-370460.
 38. Соловьев М. В., Менделеева Л. П., Гальцева И. В., Покровская О. С., Фирсова М. В., Нарейко М. В. и др. Значение минимальной остаточной болезни после трансплантации аутологичных стволовых клеток при множественной миеломе. *Гематол. и трансфузиол.* 2014; 59 (1): 69.
 39. Nishihori T, Song J, Shain K. Minimal Residual Disease Assessment in the Context of Multiple Myeloma Treatment. *Curr Hematol Malig Rep*. 2016; 11: 118–26. DOI: 10.1007/s11899-016-0308-3.
 40. Roschewski M, Stetler-Stevenson M, Yuan C, Mailankody S,

- Korde N, Landgren O. Minimal residual disease: what are the minimum requirements? *J Clin Oncol*. 2014; 32 (5): 475–6.
41. Flores-Montero J, Sanoja-Flores L, Paiva B, Garcia-Sanchez O, Böttcher S, et al. Next generation flow for highly sensitive and standardized detection of minimal residual disease in multiple myeloma. *Leukemia*. 2017; 31 (10): 2094–103. DOI:10.1038/leu.2017.29.
 42. Bai Y, Orfao A, Chim CS. Molecular detection of minimal residual disease in multiple myeloma. *Br J Haematol*. 2018; 181: 11–26. DOI: 10.1111/bjh.15075.
 43. Medina-Herrera A, Sarasquete ME, Jiménez C, Puig N, García-Sanz R. Minimal Residual Disease in Multiple Myeloma: Past, Present, and Future. *Cancers (Basel)*. 2023; 15 (14): 3687. DOI: 10.3390/cancers15143687.
 44. Pacelli P, Raspadori D, Bestoso E, Gozzetti A, Bocchia M. «Friends and foes» of multiple myeloma measurable/minimal residual disease evaluation by next generation flow. *Front Oncol*. 2022; 12: 1057713. DOI: 10.3389/fonc.2022.1057713.
 45. Khagi Y, Mark TM. Potential role of daratumumab in the treatment of multiple myeloma. *Onco Targets Ther*. 2014; 7: 1095–100.
 46. San Miguel J, Harousseau JL, Joshua D, Anderson KC. Individualizing treatment of patients with myeloma in the era of novel agents. *J Clin Oncol*. 2008; 26: 2761–66.
 47. Wirk B, Wingard JR, Moreb JS. Extramedullary disease in plasma cell myeloma: the iceberg phenomenon. *Bone Marrow Transplant*. 2013; 48 (1): 10–8. DOI: 10.1038/bmt.2012.26.
 48. Puig N, Sarasquete M, Balanzategui A, Martínez J, Paiva B, García H, et al. Critical evaluation of ASO RQ-PCR for minimal residual disease evaluation in multiple myeloma. A comparative analysis with flow cytometry. *Leukemia*. 2014; 28 (2): 391–7. DOI: 10.1038/leu.2013.217.
 49. Kara IO, Duman BB, Afsar CU. The evaluation of minimal residual disease in multiple myeloma by fluorescent molecular beacons in real time PCR of IgH gene rearrangements and correlation with flow cytometry. *J BUON*. 2013; 18 (2): 442–7.
 50. Oliva S, Gambella M, Gilestro M, Muccio V, Gay F, Drandi D, et al. Minimal residual disease after transplantation or lenalidomide-based consolidation in myeloma patients: a prospective analysis. *Oncotarget*. 2017; 8 (4): 5924–35. DOI: 10.18632/oncotarget.12641.
 51. Korde N, Roschewski M, Zingone A, Kwok M, Manasanch EE, Bhutani M, et al. Treatment with carfilzomib-lenalidomide-dexamethasone with lenalidomide extension in patients with smoldering or newly diagnosed multiple myeloma. *JAMA Oncol*. 2015; 1 (6): 746–54. DOI: 10.1001/jamaoncol.2015.2010.
 52. Gonsalves WL, Morice WG, Rajkumar V, Gupta V, Timm MM, Dispenzieri A, et al. Quantification of clonal circulating plasma cells in relapsed multiple myeloma. *Br J Haematol*. 2014; 167 (4): 500–5. DOI: 10.1111/bjh.13067.
 53. Korthals M, Sehnke N, Kronenwett R, Schroeder T, Strapatsas T, Kobbe G, et al. Molecular monitoring of minimal residual disease in the peripheral blood of patients with multiple myeloma. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2013; 19 (7): 1109–15. DOI: 10.1016/j.bbmt.2013.04.025.
 54. Vij R, Mazumder A, Klinger M, O'Dea D, Paasch J, Martin T, et al. Deep sequencing reveals myeloma cells in peripheral blood in majority of multiple myeloma patients. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*. 2014; 14 (2): 131–19. DOI: 10.1016/j.clml.2013.09.013.
 55. Rustad EH, Coward E, Skytøen ER, Misund K, Holien T, Standal T, et al. Monitoring multiple myeloma by quantification of recurrent mutations in serum. *Haematologica*. 2017; 102 (7): 1266–72. DOI: 10.3324/haematol.2016.160564.
 56. Kis O, Kaedbey R, Chow S, Danesh A, Dowar M, Li T, et al. Circulating tumour DNA sequence analysis as an alternative to multiple myeloma bone marrow aspirates. *Nat Commun*. 2017; 8: 15086. DOI: 10.1038/ncomms15086.
 57. Pawlyn C, Fowkes L, Otero S, Jones JR, Boyd KD, Davies FE, et al. Whole body diffusion-weighted MRI: a new gold standard for assessing disease burden in patients with multiple myeloma? *Leukemia*. 2016; 30 (6): 1446–8. DOI: 10.1038/leu.2015.338.
 58. Munshi NC, Avet-Loiseau H, Anderson KC, Neri P, Paiva B, Samur M, et al. A large meta-analysis establishes the role of MRD negativity in long-term survival outcomes in patients with multiple myeloma. *Blood Adv*. 2020; 4 (23): 5988–99. DOI: 0.1182/bloodadvances.2020002827.
 59. Guo G, Raje NS, Seifer C, Kloeber J, Isenhardt R, Ha G, et al. Genomic discovery and clonal tracking in multiple myeloma by cell-free DNA sequencing. *Leukemia*. 2018; 32 (8): 1838–41. DOI: 10.1038/s41375-018-0115-z.
 60. Ryu D, Kim SJ, Hong Y, Jo A, Kim N, Kim HJ, et al. Alterations in the transcriptional programs of myeloma cells and the microenvironment during extramedullary progression affect proliferation and immune evasion. *Clin Cancer Res*. 2020; 26 (4): 935–44. DOI: 10.1158/1078-0432.Ccr-19-0694.

References

1. Campo E, Jaffe ES, Cook JR, Quintanilla-Martinez L, Swerdlow SH, Anderson KC. The International Consensus Classification of Mature Lymphoid Neoplasms: a report from the Clinical Advisory Committee. *Blood*. 2022; 140 (11): 1229–53. DOI: 10.1182/blood.2022015851.
2. Paiva B, Chandia M, Puig N, Vidriales MB, Perez JJ, Lopez-Corral L, et al. The prognostic value of multiparameter flow cytometry minimal residual disease assessment in relapsed multiple myeloma. *Haematologica*. 2015; 100 (2): e53–e55. DOI: 10.3324/haematol.2014.115162.
3. Bertamini L, D'Agostino M, Gay F. MRD Assessment in Multiple Myeloma: Progress and Challenges. *Curr Hematol Malig Rep*. 2021; 16 (2): 162–71. DOI: 10.1007/s11899-021-00633-5.
4. Ding H, Xu J, Lin Z, Huang J, F Wang F, Yang Y, et al. Minimal residual disease in multiple myeloma: current status. *Biomark Res*. 2021; 9 (75): 1–10. DOI: 10.1186/s40364-021-00328-2.
5. Martínez-López J, Lahuerta JJ, Pepin F, González M, Barrio S, Ayala R, et al. Prognostic value of deep sequencing method for minimal residual disease detection in multiple myeloma. *Blood*. 2014; 123 (20): 3073–9. DOI: 10.1182/blood-2014-01-550020.
6. Rawstron AC, Gregory WM, De Tute RM, Davies FE, Bell SE, Drayson MT, et al. Minimal Residual Disease in Myeloma by Flow Cytometry: Independent Prediction of Survival Benefit per Log Reduction. *Blood*. 2015; 125: 1932–5. DOI: 10.1182/blood-2014-07-590166.
7. Kumar S, Paiva B, Anderson K, Durie B, Landgren O, Moreau P, et al. International Myeloma Working Group consensus criteria for response and minimal residual disease assessment in multiple myeloma. *The Lancet Oncology*. 2016; 17 (8): e328–e346. DOI: 10.1016/S1470-2045(16)30206-6.
8. Golenkov AK, Mitina TA, Klinushkina EF, Kataeva EV, Chuksina YuYu, Chernykh YuB, et al. Correlation of immunoglobulin free light chains with biochemical and immunochemical parameters of blood in patients with multiple myeloma. *Bulletin of hematology*. 2023; 1 (19): 23–8. Russian.
9. Singhal S, Vickrey E, Krishnamurthy J, Singh V, Allen S, Mehta J. The relationship between the serum free light chain assay and serum immunofixation electrophoresis, and the definition of concordant and discordant free light chain ratios. *Blood*. 2009; 1 (114): 38–9.
10. Durie BG, Harousseau JL, Miguel Durie JS, Harousseau BG, Miguel JL, Bladé JS, et al. International uniform response criteria for multiple myeloma. *Leukemia*. 2006; 9 (20): 1467–73. DOI: 10.1038/sj.leu.2404284.
11. Kyrtsolis MC, Vassilakopoulos TP, Kafasi N, Sachanas S, Tzenou T, Papadogiannis A, et al. Prognostic value of serum free light chain ratio at diagnosis in multiple myeloma. *Br J Haematol*. 2007; 3 (137): 240–3. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2007.06561.x.
12. Van Rhee F, Bolejack V, Hollmig K, Pineda-Roman M, Anaissie E, Epstein J, et al. High serum-free light chain levels and their rapid reduction in response to therapy define an aggressive multiple myeloma subtype with poor prognosis. *Blood*. 2007; 110 (3):

- 827–32. DOI: 10.1182/blood-2007-01-067728.
13. Mead GP, Drayson MT. Sensitivity of serum free light chain measurement of residual disease in multiple myeloma patients. *Blood*. 2009; 8 (114): 1717.
 14. Giarin MM, Giaccone L, Sorasio R, Sfiligoi C, Amoroso B, Cavallo F, et al. Serum free light chain ratio, total kappa/lambda ratio, and immunofixation results are not prognostic factors after stem cell transplantation for newly diagnosed multiple myeloma. *Clin Chem*. 2009; 55 (8): 1510–6. DOI:10.1373/clinchem.2009.124370.
 15. Kapoor P, Kumar SK, Dispenzieri A, Lacy MQ, Buad F, Dingli D, et al. Importance of achieving stringent complete response after autologous stemcell transplantation in multiple myeloma. *J Clin Oncol*. 2013; 31 (36): 4529–35. DOI:10.1200/JCO.2013.49.0086.
 16. Chee CE, Kumar S, Larson DR, Kyle RA, Dispenzieri A, Gertz MA, et al. The importance of bone marrow examination in determining complete response to therapy in patients with multiple myeloma. *Blood*. 2009; 13 (114): 2617–8. DOI:10.1182/blood-2009-01-198788.
 17. De Larrea F, Tovar N, Rozman M, Laura Rosiñol L, Arostegui JI, Cibeiraet MT, et al. Multiple myeloma in serologic complete remission after autologous stem cell transplantation: impact of bone marrow plasma cell assessment by conventional morphology on disease progression. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2011; 17: 1084–7.
 18. Zamagni E, Patriarca F, Nanni C, Zannetti B, Englaro E, Pezzi A, et al. Prognostic relevance of 18-F FDG PET/CT in newly diagnosed multiple myeloma patients treated with up-front autologous transplantation. *Blood*. 2011; 118 (23): 5989–95. DOI: 10.1182/blood-2011-06-361386.
 19. Reghunathan R, Bi C, Liu SC, Loong KT, Chung TH, Huang G, Chng WJ, et al. Clonogenic multiple myeloma cells have shared stemness signature associated with patient survival. *Oncotarget*. 2013; 4 (8): 1230–40. DOI: 10.18632/oncotarget.1145.
 20. Zent CS, Wilson CS, Tricot G, Jagannath S, Siegel D, Desikanet KR, et al. Oligoclonal protein bands and Ig isotype switching in multiple myeloma treated with high-dose therapy and hematopoietic cell transplantation. *Blood*. 1998; 9 (91): 3518–23.
 21. Sachpekidis C, Goldschmidt H, Dimitrakopoulou-Strauss A. Positron Emission Tomography (PET) Radiopharmaceuticals in Multiple Myeloma. *Molecules*. 2019; 25 (1): 134. DOI: 10.3390/molecules25010134.
 22. Pankratov AE, Zeynalova PA. The role of PET/CT in the diagnosis and response assessment in patients with multiple myeloma. *Oncohematology*. 2021; 16 (3): 33–9. DOI: 10.17650/1818-8346-2021-16-3-33-39. Russian.
 23. Ghimire K, Rajkumar SV, Dispenzieri A, Lacy MQ, Gertz MA, Buadi FK, et al. Incidence and survival outcomes of extramedullary myeloma. *Blood*. 2013; 122 (21): 3141. DOI: 10.1182/blood.V122.21.1696.1696.
 24. Kraeber-Bodere F, Jamet B, Bezzi D, Zamagni E, Moreau P, Nanni C. New Developments in Myeloma Treatment and Response Assessment. *J Nucl Med*. 2023; 64 (9): 1331–43. DOI:10.2967/jnumed.122.264972.
 25. Van der Velden VH, Cazzaniga G, Schrauder A, Hancock J, Bader P, Panzer-Grumayer ER, et al. Analysis of minimal residual disease by Ig/TCR gene rearrangements: guidelines for interpretation of real-time quantitative PCR data. *Leukemia*. 2007; 21: 604–11.
 26. Bai Y, Wong K, Fung T, Chim C. High applicability of ASO-RQPCR for detection of minimal residual disease in multiple myeloma by entirely patient-specific primers/probes. *J Hematol Oncol*. 2016; 9 (1): 107. DOI: 10.1016/s1083-8791(00)70006-1.
 27. Ladetto M, Donovan JW, Harig S, Trojan A, Poor C, Schlosn Janet R, et al. Real-time polymerase chain reaction of immunoglobulin rearrangements for quantitative evaluation of minimal residual disease in multiple myeloma. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2000; 6: 241–53.
 28. Paiva BN, Gutierrez CL, Rosinol MB, Vidriales MB, Montalban MA, Martinez-Lopez J, et al. High-risk cytogenetics and persistent minimal residual disease by multiparameter flow cytometry predict unsustained complete response after autologous stem cell transplantation in multiple myeloma. *Blood*. 2012; 119 (3): 687–91. DOI: 10.1182/blood-2011-07-370460.
 29. Rawstron AC, Child JA, de Tute RM, Davies FE, Gregory WM, Bell SE, et al. Minimal residual disease assessed by multiparameter flow cytometry in multiple myeloma: impact on outcome in the Medical Research Council Myeloma IX Study. *J Clin Oncol*. 2013; 31 (20): 2540–7. DOI: 10.1200/JCO.2012.46.2119.
 30. Kalina T, Flores-Montero J, Lecomte Q, Pedreira CE, van der Velden VH, Novakova M, et al. Quality assessment program for EuroFlow protocols: summary results of four-year (2010–2013) quality assurance rounds. *Cytometry A*. 2015; 87 (2): 145–56. DOI: 10.1002/cyto.a.22581.
 31. Grivtsova LYu, Lunin VV, Semenova AA, et al. Minimal residual disease in plasma cell (multiple) myeloma: flow cytometric approaches. *Oncohematology*. 2020; 15 (1): 40–50. DOI: 10.17650/1818-8346-2020-15-1-40-50. Russian.
 32. Tolstykh EE, Tupitsyn NN. Key markers for diagnosis of minimal residual disease in multiple myeloma. *Russian Journal of Biotherapy*. 2022; 21 (1): 42–9. DOI: 10.17650/1726-9784-2022-21-1-42-4. Russian.
 33. Paiva B, Azpilikueta A, Puig N, Ocio EM, Sharma R, Oyajobi BO, et al. PD-L1/PD-1 presence in the tumor microenvironment and activity of PD-1 blockade in multiple myeloma. *Leukemia*. 2015; 29 (10): 2110–3. DOI:10.1038/leu.2015.79.
 34. Raja KR, Kovarova L, Hajek R. Review of phenotypic markers used in flow cytometric analysis of MGUS and MM, and applicability of flow cytometry in other plasma cell disorders. *Br J Haematol*. 2010; 149: 334–51.
 35. Stetler-Stevenson M, Paiva B, Stoolman L, Lin P, Jorgensen JL, Orfao A, et al. Consensus guidelines for myeloma minimal residual disease sample staining and data acquisition. *Cytometry B Clin Cytom*. 2015; 90: 26–30. DOI: 10.1002/cyto.b.21249.
 36. Flanders A, Stetler-Stevenson M, Landgren O. Minimal residual disease testing in multiple myeloma by flow cytometry: major heterogeneity. *Blood*. 2013; 122: 1088–89.
 37. Paiva B, Gutierrez NC, Rosinol L, Vidriales MB, Montalban MA, Martinez-Lopez J, et al. High-risk cytogenetics and persistent minimal residual disease by multiparameter flow cytometry predict unsustained complete response after autologous stem cell transplantation in multiple myeloma. *Blood*. 2012; 119 (3): 687–91. DOI: 10.1182/blood-2011-07-370460.
 38. Solovov MV, Mendeleva LP, Galtseva IV, Pokrovskaya OS, Firsova MV, Nareyko MV, et al. Znachenie minimal'noy ostatochnoy bolezni posle transplantatsii autologichnykh stvolovykh kletok pri mnozhestvennoy mielome. *Russian journal of hematology and transfusiology*. 2014; 59 (1): 69. Russian.
 39. Nishihori T, Song J, Shain K. Minimal Residual Disease Assessment in the Context of Multiple Myeloma Treatment. *Curr Hematol Malig Rep*. 2016; 11: 118–26. DOI: 10.1007/s11899-016-0308-3.
 40. Roschewski M, Stetler-Stevenson M, Yuan C, Mailankody S, Korde N, Landgren O. Minimal residual disease: what are the minimum requirements? *J Clin Oncol*. 2014; 32 (5): 475–6.
 41. Flores-Montero J, Sanoja-Flores L, Paiva B, Puig N, Garcia-Sanchez O, Böttcher S, et al. Next generation flow for highly sensitive and standardized detection of minimal residual disease in multiple myeloma. *Leukemia*. 2017; 31 (10): 2094–103. DOI:10.1038/leu.2017.29.
 42. Bai Y, Orfao A, Chim CS. Molecular detection of minimal residual disease in multiple myeloma. *Br J Haematol*. 2018; 181: 11–26. DOI: 10.1111/bjh.15075.
 43. Medina-Herrera A, Sarasquete ME, Jiménez C, Puig N, García-Sanz R. Minimal Residual Disease in Multiple Myeloma: Past, Present, and Future. *Cancers (Basel)*. 2023; 15 (14): 3687. DOI: 10.3390/cancers15143687.
 44. Pacelli P, Raspadori D, Bestoso E, Gozzetti A, Bocchia M. «Friends and foes» of multiple myeloma measurable/minimal residual disease evaluation by next generation flow. *Front Oncol*. 2022; 12: 1057713. DOI: 10.3389/fonc.2022.1057713.
 45. Khagi Y, Mark TM. Potential role of daratumumab in the treatment of multiple myeloma. *Onco Targets Ther*. 2014; 7: 1095–100.
 46. San Miguel J, Harousseau JL, Joshua D, Anderson KC. Individualizing treatment of patients with myeloma in the era of novel agents. *J Clin Oncol*. 2008; 26: 2761–66.
 47. Wirk B, Wingard JR, Moreb JS. Extramedullary disease in plasma cell myeloma: the iceberg phenomenon. *Bone Marrow Transplant*. 2013; 48 (1): 10–8. DOI: 10.1038/bmt.2012.26.

48. Puig N, Sarasquete M, Balanzategui A, Martínez J, Paiva B, García H, et al. Critical evaluation of ASO RQ-PCR for minimal residual disease evaluation in multiple myeloma. A comparative analysis with flow cytometry. *Leukemia*. 2014; 28 (2): 391–7. DOI: 10.1038/leu.2013.217.
49. Kara IO, Duman BB, Afsar CU. The evaluation of minimal residual disease in multiple myeloma by fluorescent molecular beacons in real time PCR of IgH gene rearrangements and correlation with flow cytometry. *J BUON*. 2013; 18 (2): 442–7.
50. Oliva S, Gambella M, Gilestro M, Muccio V, Gay F, Drandi D, et al. Minimal residual disease after transplantation or lenalidomide-based consolidation in myeloma patients: a prospective analysis. *Oncotarget*. 2017; 8 (4): 5924–35. DOI: 10.18632/oncotarget.12641.
51. Korde N, Roschewski M, Zingone A, Kwok M, Manasanch EE, Bhutani M, et al. Treatment with carfilzomib-lenalidomide-dexamethasone with lenalidomide extension in patients with smoldering or newly diagnosed multiple myeloma. *JAMA Oncol*. 2015; 1 (6): 746–54. DOI: 10.1001/jamaoncol.2015.2010.
52. Gonsalves WI, Morice WG, Rajkumar V, Gupta V, Timm MM, Dispenzieri A, et al. Quantification of clonal circulating plasma cells in relapsed multiple myeloma. *Br J Haematol*. 2014; 167 (4): 500–5. DOI: 10.1111/bjh.13067.
53. Korthals M, Sehnke N, Kronenwett R, Schroeder T, Strapatsas T, Kobbe G, et al. Molecular monitoring of minimal residual disease in the peripheral blood of patients with multiple myeloma. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2013; 19 (7): 1109–15. DOI: 10.1016/j.bbmt.2013.04.025.
54. Vij R, Mazumder A, Klinger M, O'Dea D, Paasch J, Martin T, et al. Deep sequencing reveals myeloma cells in peripheral blood in majority of multiple myeloma patients. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*. 2014; 14 (2): 131–19. DOI: 10.1016/j.clml.2013.09.013.
55. Rustad EH, Coward E, Skytøen ER, Misund K, Holien T, Standal T, et al. Monitoring multiple myeloma by quantification of recurrent mutations in serum. *Haematologica*. 2017; 102 (7): 1266–72. DOI: 10.3324/haematol.2016.160564.
56. Kis O, Kaedbey R, Chow S, Danesh A, Dowar M, Li T, et al. Circulating tumour DNA sequence analysis as an alternative to multiple myeloma bone marrow aspirates. *Nat Commun*. 2017; 8: 15086. DOI: 10.1038/ncomms15086.
57. Pawlyn C, Fowkes L, Otero S, Jones JR, Boyd KD, Davies FE, et al. Whole body diffusion-weighted MRI: a new gold standard for assessing disease burden in patients with multiple myeloma? *Leukemia*. 2016; 30 (6): 1446–8. DOI: 10.1038/leu.2015.338.
58. Munshi NC, Avet-Loiseau H, Anderson KC, Neri P, Paiva B, Samur M, et al. A large meta-analysis establishes the role of MRD negativity in long-term survival outcomes in patients with multiple myeloma. *Blood Adv*. 2020; 4 (23): 5988–99. DOI: 10.1182/bloodadvances.2020002827.
59. Guo G, Raje NS, Seifer C, Kloeber J, Isenhardt R, Ha G, et al. Genomic discovery and clonal tracking in multiple myeloma by cell-free DNA sequencing. *Leukemia*. 2018; 32 (8): 1838–41. DOI: 10.1038/s41375-018-0115-z.
60. Ryu D, Kim SJ, Hong Y, Jo A, Kim N, Kim HJ, et al. Alterations in the transcriptional programs of myeloma cells and the microenvironment during extramedullary progression affect proliferation and immune evasion. *Clin Cancer Res*. 2020; 26 (4): 935–44. DOI: 10.1158/1078-0432.Ccr-19-0694.

УРОВНИ СПЕЦИФИЧНЫХ IGG К ПИЩЕВЫМ АНТИГЕНАМ В НОРМЕ И ПРИ ПАТОЛОГИИ

В. П. Патракеева [✉], В. А. Штаборов, Р. С. Алесич

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

Толерантность к пищевым антигенам — необходимое условие для формирования устойчивого развития организма при постоянной антигенной нагрузке. В последние годы достаточно широко изучены специфические IgG к пищевым антигенам. Их наличие при различных патологиях, а также введение элиминационных диет к определенным продуктам питания дают хорошие результаты в лечении заболеваний, и не только касающихся желудочно-кишечного тракта. Изучение влияния длительной IgG-опосредованной гиперчувствительности к пищевым антигенам, связанной с повышением проницаемости гематоэнцефалического барьера, актуально и при исследовании патогенеза заболеваний центральной нервной системы. Но выявление специфических IgG у практически здоровых людей, не имеющих в анамнезе аллергии, воспалительных реакций, на данный момент не дает четкого понимания их природы и функциональной значимости. Специфические IgG представляют большой интерес с позиции прогнозирования формирования нарушений функционирования организма, ремиссии и лечения заболеваний, изменения восприимчивости к пищевым антигенам в определенном возрасте. Результаты исследований специфических IgG неоднозначны, что подтверждает необходимость изучения их структуры, эпитопов, способных активировать аутоиммунные процессы, учитывая сочетанное влияние лекарственных препаратов, экологической обстановки и социальных условий жизни. В статье проведен анализ современных исследований по изучению специфических IgG к пищевым антигенам. Представлены данные о выявлении специфических IgG при различных патологиях, гендерные и возрастные различия при выявлении данных антител, зависимости их концентрации от частоты употребления пищевых продуктов.

Ключевые слова: пищевые антигены, специфические IgG, анергия, толерантность, атопия

Финансирование: работа выполнена за счет средств гранта РФ № 22-25-20145 «Выяснение механизмов влияния снижения толерантности к пищевым антигенам на утилизацию глюкозы».

Вклад авторов: В. П. Патракеева — планирование исследования, сбор и анализ литературы, подготовка рукописи; В. А. Штаборов — сбор и анализ литературы; Р. С. Алесич — сбор и анализ литературы.

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

Статья получена: 12.09.2023 **Статья принята к печати:** 08.11.2023 **Опубликована онлайн:** 27.11.2023

DOI: 10.47183/mes.2023.049

NORMAL AND DISEASE-ASSOCIATED LEVELS OF SPECIFIC IGG AGAINST FOOD ANTIGENS

Patrakeeva VP [✉], Shtaborov VA, Alesich RS

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

Tolerance to food antigens is essential for body's sustainable development under constant antigenic load. Specific IgG against food antigens have been extensively studied in the literature over the recent years. The presence of those associated with various disorders and introduction of elimination diets for certain food products result in good treatment outcomes related not only to the gastrointestinal tract. Investigation of the impact of the long-term IgG-mediated hypersensitivity to food antigens associated with the increased blood-brain barrier permeability is also relevant when studying pathogenesis of the central nervous system disorders. However, identification of specific IgG in the generally healthy people having no history of allergy or inflammation currently provides no clear understanding of their nature and functional significance. Specific IgG are of great interest in terms of predicting the development of functional disorders, remission and treatment of disorders, changes in susceptibility to food antigens at certain age. The results of specific IgG studies are equivocal, which confirms the need to study their structure, epitopes capable of activating autoimmune processes considering the combined effects of medication, environmental conditions and social living conditions. The paper provides the analysis of the currently available research focused on studying specific IgG against food antigens. The data on identification of specific IgG in individuals with various disorders are provided, as well as the gender-related and age-related differences in antibody detection, the relationship between the antibody levels and the rate of food product consumption.

Keywords: food antigens, specific IgG, anergy, tolerance, atopy

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

Author contribution: Patrakeeva VP — study planning, collection and review of papers, manuscript writing; Shtaborov VA — collection and review of papers; Alesich RS — collection and review of papers.

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

Received: 12.09.2023 **Accepted:** 08.11.2023 **Published online:** 27.11.2023

DOI: 10.47183/mes.2023.049

Поступление пищевых антигенов в организм связано с формированием защитных механизмов, направленных на обеспечение толерантности к ним, и устанавливается в течение нескольких месяцев после рождения. Взаимодействие пищевых антигенов с иммунной системой в кишечнике приводит к образованию Tregs CD4⁺CD25⁺, специфичных к пищевым антигенам, что имеет решающее значение для индукции толерантности к ним. Кроме того,

Tregs-клетки оказывают противовоспалительное действие за счет экспрессии IL10, TGFβ, а также ингибирования активности базофилов, эозинофилов и тучных клеток. Анергия, необходимый механизм толерантности к постоянному поступлению пищевых антигенов, способствует поддержанию гомеостаза в кишечнике при массивной постоянной антигенной нагрузке. Необходимо учитывать, что современное производство продуктов

питания зачастую связано с воздействием химических веществ, которые негативно влияют на работу иммунной системы, вызывая сбой в механизме толерантности, открывая барьеры и повышая проницаемость кишечника для пищевых антигенов. Нарушить барьерную функцию кишечного эпителия и повысить его проницаемость может употребление лекарственных препаратов, например, аспирина и нестероидных противовоспалительных препаратов, причем их влияние усиливается при одновременном попадании пищевых антигенов [1–4]. Нарушение целостности кишечного барьера — причина формирования воспаления кишечника и аутоиммунных заболеваний [5–11].

Основные продукты, становящиеся причиной 90% случаев пищевой аллергии, по данным Управления по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США, — это молоко, яйца, арахис, лесные орехи, моллюски, пшеница, соя, рыба и другие пищевые продукты, содержащие эти аллергены в качестве прямого или скрытого ингредиента [12]. Высоким аллергенным потенциалом обладают также кукуруза, кунжут, мясо, сельдерей, люпин, мед, фрукты и овощи [13]. При этом аллергическую реакцию вызывает не сам продукт, а отдельные аллергены в его составе, так, например, для молока — это казеин и белки сыворотки [14], для яиц — овомукоид, овотрансферрин, кональбумин, лизоцимы, овальбумин и др. [15], для моллюсков — тропомиозин, аргининкиназа, легкая цепь миозина [16], для рыбы — парвальбумины, желатин, эндолаза, альдолаза, тропомиозин и т. д. [17]. Переработанные продукты могут содержать отдельные скрытые аллергены, что также приводит к формированию ответной иммунной реакции организма.

Известно несколько механизмов, по которым пищевые антигены преодолевают барьер слизистой кишечника. Они могут проникать через кишечный эпителий тонкой кишки за счет образуемых секреторными эпителиальными клетками пассажей — SAPs, что позволяет антигенам пищевых продуктов попадать в нижележащие слизистые оболочки тонкой кишки. Образование SAPs индуцируется цитокином IL13 через STAT6-независимый и CD38-cADPR (циклическая аденозиндифосфатрибоза)-чувствительный путь и требует экспрессии IL-4R α эпителием кишечника тонкой кишки [18]. Следующий вариант — это захват и транспорт пищевых антигенов бокаловидными клетками (GAP), связанный с формированием толерантности к данным антигенам за счет поддержания уровня CD4⁺Foxp3⁺ T-регуляторных клеток и стимуляции секреции макрофагами в lamina propria противовоспалительного цитокина IL10 [19]. Таким образом, происходит формирование толерантности к попадающим в организм чужеродным антигенам. Проникновение пищевых антигенов возможно также при нарушении плотных контактов кишечного эпителия, которые наблюдаются при воспалительных патологических состояниях желудочно-кишечного тракта, кроме того, пищевые аллергены и некоторые пищевые эмульгаторы могут оказывать аналогичное влияние, повышая проницаемость эпителия, транспорт и аллергическую сенсibilизацию, вызывая активацию цитокинов pro-Th2 и облегчая проницаемость для других пищевых антигенов [20, 21]. Наиболее изученный механизм проникновения пищевых антигенов — трансцитоз, опосредованный микроскладчатыми клетками (M-клетками). Функция M-клеток заключается в транспорте люминальных веществ для индукции ответов IgA и T-клеток в Пейеровых бляшках и лимфоидных

фолликулах. Инфекции, старение, воспаление могут снижать плотность M-клеток, повышая подверженность организма инфекциям [22]. Кроме того, возможен прямой захват пищевых антигенов антигенпрезентирующими клетками lamina propria (LP-APC) посредством удлинения трансэпителиальных дендритов (TED) в просвет кишечника. TED способны проникать между эпителиальными клетками для захвата бактерий, не нарушая эпителиальный барьер [23, 24].

Данные по гендерным различиям спектра выявляемых специфических IgG к пищевым антигенам неоднозначны, но большинство исследователей отмечают увеличение их уровней у женщин. Согласно полученным данным, у женщин уровни специфических IgG ко всем пищевым продуктам выше, чем у мужчин, за исключением IgG к курице и кукурузе [25]. Женщины имели значительно больше специфических IgG к пшенице (74% против 25,5% у мужчин), кукурузе (77,3% против 22,7%) и ореху колы (71,9% против 28,1%) [26]. Было также установлено значительное увеличение у женщин уровней IgG к яйцам и креветкам [27]. Распространенность пищевой непереносимости у женщин значительно выше, чем у мужчин [28, 29], и это, вероятно, связано с тем, что женские половые гормоны (эстрогены) оказывают провоспалительный эффект и повышают восприимчивость к атопии, в то время как тестостерон — мощный ингибитор гистамина, который, как известно, подавляет дегрануляцию тучных клеток [30, 31]. Результаты исследований возрастных особенностей выявления специфических IgG к пищевым антигенам также неоднозначны. Имеются данные о том, что лица в возрасте до 40 лет имеют более высокие уровни пищевых специфических IgG против глиадина, яичного белка и ячменя по сравнению с пожилыми пациентами [26]. Согласно полученным данным, с возрастом увеличивается уровень IgG к креветкам и крабам; содержание IgG к томатам, курице, свинине и треске снижается, начиная с детского возраста, а затем несколько увеличивается после 45 лет; концентрации IgG к яйцам, молоку, сое, пшенице, кукурузе и рису снижаются с возрастом [27].

Достаточно широко изучают содержание специфических IgG в сыворотке крови при различных патологических состояниях, что может быть полезным для диагностики неблагоприятных пищевых реакций. Однако роль данных антител в патогенезе заболеваний до конца не установлена и клиническая польза тестирования на их наличие пока весьма спорна. Показано, что депрессивные состояния у подростков связаны с большей частотой выявления антител IgG к пищевым антигенам на фоне повышенного уровня гистамина, белка S100b и гомоцистеина. При этом авторы считают, что в патогенезе подростковой депрессии лежит хроническая пищевая антиген-специфичная IgG-опосредованная гиперчувствительность или хроническая пищевая непереносимость, а не хроническое вялотекущее воспаление [32]. При болезни Крона наиболее часто выявляют антитела IgG против риса, томатов, яичного белка/желтка, пшеницы и кукурузы. Введение элиминационной диеты в данном случае способствует формированию длительной ремиссии заболевания [33]. Особенность реакции на пищевые антигены состоит в том, что некоторые из них по своей структуре гомологичны тканям организма, и при нарушении кишечного барьера поступление таких антигенов формирует ответную иммунную реакцию, запуская аутоиммунные процессы [34, 35]. Наибольшую гомологичность к белкам тканей человека имеют следующие пищевые продукты: молоко,

пшеница, богатые глицином пищевые белки, глюканы, пектины, тропомиозин креветок и свинина [36–40]. У детей с аутизмом обнаружено сходство пептидной последовательности между антителом к глиадину белка пшеницы (EQVPLVQQ) и антителом к нервной ткани мозжечка (EDVPLLED), таким образом, у данных пациентов могут вырабатываться антитела как против клеток Пуркинье, так и против глиадиновых пептидов, что может быть причиной некоторых неврологических симптомов аутизма [41]. Сахарный диабет I типа — органоспецифическое аутоиммунное заболевание, которое некоторые исследователи связывают с влиянием белков коровьего молока [42]. Предполагается также, что антитела, вырабатываемые к альбумину коровьего молока, могут перекрестно реагировать с поверхностным белком, специфичным для β -клеток ($\beta 69$), и, как результат, приводить к их дисфункции. Кроме того, схожесть белков коровьего молока с белками тканей человека рассматривают как причину формирования таких заболеваний, как увеит, рассеянный склероз, системная красная волчанка, болезнь Крона [43, 44]. Установлена высокая схожесть аквапоринов человека с аквапоринами, обнаруженными в растительной пище (соя, кукуруза, шпинат, томат), и с ингибиторами сериновых протеиназ (серпинами) бобовых (фасоль, чечевица, горох, арахис, люпин, люцерна и клевер). Аквапорины — мембранными белки, расположенные в том числе на астроцитах гематоэнцефалического барьера и участвующие в поддержании гомеостаза и водного обмена, электрической активности и модуляции нейронной передачи и возбудимости. Аквапорины растительных продуктов очень стабильны, а, следовательно, попадают в организм в неизменном виде и могут провоцировать формирование аутоиммунных реакций против аквапоринов тканей человека, что приводит к сенсорным нарушениям и нейроаутоиммунным воспалительным заболеваниям [45]. Глицины пищевых белков мяса, курицы, яиц, фруктов, овощей, семян, злаков, риса, сои и др. имеют молекулярное сходство с коллагеном, кератином, актином и рибонуклеарным белком человека, таким образом, проникновение их через барьер слизистой кишечника может способствовать запуску аутоиммунных реакций. Гиперчувствительность к пищевым антигенам злаковых и молочных продуктов выявлена у детей с расстройством аутистического спектра [46]. При

метаболических нарушениях и инсулинорезистентности регистрируют гиперчувствительность к казеину [47]. Кроме того, исследователи предполагают, что IgG-опосредованная гиперчувствительность к антигенам казеина и сои повышает риск развития анемии и гипотиреоза [48]. Возможна роль пищевых антигенов в этиологии и симптоматике тиреоидита Хашимото, при котором антитела IgG, специфичные для сливы, были значительно выше, также была установлена отрицательная корреляция между комбинированными уровнями IgG к кофе, чаю и количеством симптомов [49]. Пищевая аллергия связана со снижением уровня IgA в кишечнике, повышением абсорбции аллергена и изменением микрофлоры [50]. У пациентов с аллергическими симптомами без лабораторных доказательств аллергии наиболее часто встречаются пищевые специфичные IgG к ореху кола, дрожжам, пшенице, красной фасоли, гороху, кукурузе и яичному белку [14]. Данные о влиянии частоты употребления пищевых продуктов на уровень специфичных IgG неоднозначны. Есть работы, свидетельствующие о том, что потребление пищи не коррелирует с уровнем IgG [49]. В других работах авторы указывают на прямую взаимосвязь частоты употребления продуктов и уровня специфичных IgG [25, 51].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Специфичные IgG к пищевым антигенам выявляют при патологиях желудочно-кишечного тракта, метаболических нарушениях, нейро-дегенеративных расстройствах, аутоиммунной патологии и пр. Однако механизмы, лежащие в основе изменения проницаемости кишечника и нарушения толерантности к пищевым продуктам, до конца не изучены. Несмотря на наличие исследований по введению элиминационных диет и их положительного эффекта, роль специфичных IgG в патогенезе заболеваний до конца не установлена и клиническая польза тестирования на их наличие спорна. Выявление IgG к пищевым антигенам также имеет гендерные и возрастные особенности. Таким образом, изучение механизмов взаимосвязи нарушения толерантности к пищевым антигенам может послужить основой для разработки терапевтических методов при лечении, а также для прогноза риска формирования патологических состояний.

Литература

- Ma Y, Yin Z, Li L, Chen B, Dai H, Wu D, et al. Food antigens exacerbate intestinal damage and inflammation following the disruption of the mucosal barrier. *International Immunopharmacology*. 2021; 96: 107670. DOI: 10.1016/j.intimp.2021.107670.
- Bjarnason I, Takeuchi K. Intestinal permeability in the pathogenesis of NSAID-induced enteropathy. *J. Gastroenterol.* 2009; 44 (19): 23–9. DOI: 10.1007/s00535-008-2266-6.
- Bjarnason I, Scarpignato C, Holmgren E, Olszewski M, Rainsford KD, Lanas A. Mechanisms of damage to the gastrointestinal tract from nonsteroidal anti-inflammatory. *Drugs. Gastroenterology*. 2018; 154 (3): 500–14. DOI: 10.1053/j.gastro.2017.10.049.
- Colucci R, Pellegrini C, Fornai M, Tirota E, Antonioli L, Renzulli C, et al. Pathophysiology of NSAID-Associated Intestinal Lesions in the Rat: Luminal Bacteria and Mucosal Inflammation as Targets for Prevention. *Front Pharmacol*. 2018; 9: 1340. DOI: 10.3389/fphar.2018.01340.
- D'Inca MR. Intestinal permeability in inflammatory bowel disease: pathogenesis, clinical evaluation, and therapy of leaky gut. *Mediators Inflamm*. 2015; 628157. DOI: 10.1155/2015/628157.
- Fukui H. Increased intestinal permeability and decreased barrier function: does it really influence the risk of inflammation? *Inflamm Intest. Dis*. 2016; 1 (3): 135–45. DOI: 10.1159/000447252.
- Graziani C, Talocco C, Sire R De, Petito V, Lopetuso LR, Gervasoni J, et al. Intestinal permeability in physiological and pathological conditions: major determinants and assessment modalities. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2019; 23 (2): 795–810. DOI: 10.26355/eurrev_201901_16894.
- Niewiem M, Grzybowska-Chlebowczyk U. Intestinal barrier permeability in allergic diseases. *Nutrients*. 2022; 14 (9): 1893. DOI: 10.3390/nu14091893.
- Gertie JA, Zhang B, Liu EG, Hoyt LR, Yin X, Xu L, et al. Oral anaphylaxis to peanut in a mouse model is associated with gut permeability but not with Tlr4 or Dock8 mutations. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2022; 149: 262–74. DOI:

- 10.1016/j.jaci.2021.05.015.
10. Vancamelbeke M, Vermeire S. The intestinal barrier: a fundamental role in health and disease. *Expert Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 2017; 11 (9): 821–34. DOI: 10.1080/17474124.2017.1343143.
 11. Vojdani A, Gushgari LR, Vojdani E. Interaction between food antigens and the immune system: Association with autoimmune disorders. *Autoimmunity Reviews.* 2020; 19 (3): 1–15. DOI: 10.1016/j.autrev.2020.102459.
 12. Boye JI. Food allergies in developing and emerging economies: need for comprehensive data on prevalence rates. *Clinical and Translational Allergy.* 2012; 2: 1–9. DOI: 10.1186/2045-7022-2-25.
 13. Fu L, Cherayil BJ, Shi H, Wang Y, Zhu Y. Risk assessment and control management of food allergens. *Food Allergy.* 2019; 195–216. DOI: 10.1007/978-981-13-6928-5_9.
 14. Ramachandran B, Yang CT, Downs ML. Parallel reaction monitoring mass spectrometry method for detection of both casein and whey milk allergens from a baked food matrix. *Journal of Proteome Research.* 2020; 19 (8): 2964–76. DOI: 10.1021/acs.jproteome.9b00844.
 15. Onoda Y, Aoki Y, Nagai A, Nakamura M, Suzuki K, Futamura K, et al. A case of hen's egg-dependent exercise-induced immediate-type allergy. *Allergology International.* 2020; 69 (3): 476–7. DOI: 10.1016/j.alit.2020.01.006.
 16. Gupta RS, Warren CM, Smith BM, Jiang J, Blumenstock JA, Davis MM, et al. Prevalence and severity of food allergies among US adults. *The Journal of American Medical Association Network Open.* 2019; 2 (1): e185630. DOI: 10.1001/jamanetworkopen.2018.5630.
 17. Davis CM, Gupta RS, Aktas ON, Diaz V, Kamath SD, Lopata AL. Clinical management of seafood allergy. *Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice.* 2020; 8 (1): 37–44. DOI: 10.1016/j.jaip.2019.10.019.
 18. Noah TK, Knoop KA, McDonald KG, Gustafsson JK, Waggoner L, Vanoni S, et al. 9 IL-13-induced intestinal secretory epithelial cell antigen passages are required for IgE-mediated food-induced anaphylaxis. *Journal of Allergy and Clinical Immunology.* 2019; 144 (4): 1058–1073.e3. DOI: 10.1016/j.jaci.2019.04.030.
 19. Kulkarni DH, Gustafsson JK, Knoop KA, McDonald KG, Bidani SS, Davis JE, et al. Goblet cell associated antigen passages support the induction and maintenance of oral tolerance. *Mucosal Immunology.* 2020; 13: 271–82. DOI: 10.1038/s41385-019-0240-7.
 20. Khuda SE, Nguyen AV, Sharma GM, Alam MS, Balan KV, Williams KM. Effects of emulsifiers on an in vitro model of intestinal epithelial tight junctions and the transport of food allergens. *Molecular Nutrition & Food Research.* 2022; 66: e2100576. DOI: 10.1002/mnfr.202100576.
 21. Nešić A, Čavić M, Popović M, Zlatanova M, Pieters R, Smit J, et al. The Kiwifruit Allergen Act d 1 activates NF- κ B signaling and affects mRNA expression of TJ proteins and innate pro-allergenic cytokines. *Biomolecules.* 2019; 9 (12): 816. DOI: 10.3390/biom9120816.
 22. Бьков А. С., Караулов А. В., Цомартова Д. А., Карташкина Н. Л., Горячкина В. Л., Кузнецов С. Л. и др. М-клетки — один из важных компонентов в инициации иммунного ответа в кишечнике. *Инфекция и иммунитет.* 2018; № 8 (3): 263–72.
 23. Rescigno M, Urbano M, Valzasina B, Rotta G, Bonasio R, Granucci F, et al. Dendritic cells express tight junction proteins and penetrate gut epithelial monolayers to sample bacteria. *Nat Immunol.* 2001; 2: 361–7. DOI: 10.1038/86373.
 24. Rescigno M, Rotta G, Valzasina B, Ricciardi-Castagnoli P. Dendritic cells shuttle microbes across gut epithelial monolayers. *Immunobiology.* 2001; 204: 572–81. DOI: 10.1078/0171-2985-00094.
 25. Zeng Q, Dong S-Y, Wu L-X, Li H, Sun Z-J, Li J-B, et al. Variable food-specific IgG antibody levels in healthy and symptomatic Chinese adults. *PLoS One.* 2013; 8 (1): e53612. DOI: 10.1371/journal.pone.0053612.
 26. Shakoor Z, AlFaifi A, AlAmro B, AlTawil LN, AlOhalry RY. Prevalence of IgG-mediated food intolerance among patients with allergic symptoms. *Ann Saudi Med.* 2016; 36 (6): 386–90. DOI: 10.5144/0256-4947.2016.386.
 27. Lu S, Wan JS, Su Y, Wu J. Detection and analysis of serum food-specific IgG antibody in Beijing area. *Zhonghua Yu Fang Yi Xue Za Zhi.* 2021; 55 (2): 253–7. DOI: 10.3760/cma.j.cn112150-20201027-01309.
 28. Young E, Stoneham MD, Petrukevitch A, Barton J, Rona R. A population study of food intolerance. *Lancet.* 1994; 343: 1127–30. DOI: 10.1016/s0140-6736(94)90234-8.
 29. Schäfer T, Böhler E, Ruhdorfer S, Weigl L, Wessner D, Heinrich J, et al. Epidemiology of food allergy/food intolerance in adults: associations with other manifestations of atopy. *Allergy.* 2001; 56: 1172–9. DOI: 10.1034/j.1398-9995.2001.00196.x.
 30. Zaitu M, Narita S-I, Lambert KC, Grady JJ, Estes DM, Curran EM, et al. Estradiol activates mast cells via a non-genomic estrogen receptor-alpha and calcium influx. *Molecular Immunology.* 2007; 44: 1977–85. DOI: 10.1016/j.molimm.2006.09.030.
 31. Watanabe Y, Tajiki-Nishino R, Tajima H, Fukuyama T. Role of estrogen receptors α and β in the development of allergic airway inflammation in mice: A possible involvement of interleukin 33 and eosinophils. *Toxicology.* 2019; 411 (1): 93–100. DOI: 10.1016/j.tox.2018.11.002.
 32. Tao R, Fu Z, Xiao L. Chronic food antigen-specific IgG-mediated hypersensitivity reaction as a risk factor for adolescent depressive disorder. *Genomics, Proteomics & Bioinformatics.* 2019; 17 (2): 183–9. DOI: 10.1016/j.gpb.2019.05.002.
 33. Wang G, Ren J, Li G, Hu Q, Gu G, Ren H, et al. The utility of food antigen test in the diagnosis of Crohn's disease and remission maintenance after exclusive enteral nutrition. *Clinics and Research in Hepatology and Gastroenterology.* 2018; 42 (2): 145–52. DOI: 10.1016/j.clinre.2017.09.002.
 34. Mu Q, Kirby J, Reilly CM, Luo XM. Leaky gut as a danger signal for autoimmune diseases. *Front Immunol.* 2017; 8: 598. DOI: 10.3389/fimmu.2017.00598.
 35. Vojdani A. Molecular mimicry as a mechanism for food immune reactivities and autoimmunity. *Altern Ther Health Med.* 2015; 21 (1): 34–45.
 36. Riemekasten G, Marell J, Hentschel C, Klein R, Burmester G-R, Schoessler W, et al. Casein is an essential cofactor in autoantibody reactivity directed against the C-terminal SmD1 peptide AA 83-119 in systemic lupus erythematosus. *Immunobiology.* 2002; 206: 537–54. DOI: 10.1078/0171-2985-00202.
 37. Gershteyn IM, Ferreira LMR. Immunodietica: A data-driven approach to investigate interactions between diet and autoimmune disorders. *J Transl Autoimmun.* 2019; 28 (1): 100003. DOI: 10.1016/j.jtauto.2019.100003.
 38. Watanabe R, Murakami Y, Marmor MD, Inoue N, Maeda Y, Hino J, et al. Initial enzyme for glycosylphosphatidylinositol biosynthesis requires PIG-P and is regulated by DPM2. *EMBO J.* 2000; 19 (16): 4402–11. DOI: 10.1093/emboj/19.16.4402.
 39. Swoboda I, Bugajska-Schretter A, Verdino P, Keller W, Sperr WR, Valent P. Recombinant carp parvalbumin, the major cross-reactive fish allergen: a tool for diagnosis and therapy of fish allergy. *J Immunol.* 2002; 168: 4576–84. DOI: 10.4049/jimmunol.168.9.4576.
 40. Liu R, Holck AL, Yang E, Liu C, Xue W. Tropomyosin from tilapia (*Oreochromis mossambicus*) as an allergen. *Clin Exp Allergy.* 2013; 43 (3): 365–77. DOI: 10.1111/cea.12056.
 41. Vojdani A, O'Bryan T, Green JA, Mccandless J, Woeller KN, Vojdani E, et al. Immune response to dietary proteins, gliadin and cerebellar peptides in children with autism. *Nutr Neurosci.* 2004; 7: 151–61. DOI: 10.1080/10284150400004155.
 42. Kohno T, Kobashiri Y, Sugie Y, Takai S, Watabe K, Kaino Y. Antibodies to food antigens in Japanese patients with type 1 diabetes mellitus. *Diabetes Research and Clinical Practice.* 2002; 55 (1): 1–9. DOI: 10.1016/s0168-8227(01)00250-9.
 43. Natter S, Granditsch G, Reichel GL, Baghestanian M, Valent P, Elfman L. IgA cross-reactivity between a nuclear autoantigen and wheat proteins suggests molecular mimicry as a possible pathomechanism in celiac disease. *Eur J Immunol.* 2001; 31: 918–28. DOI: 10.1002/1521-4141(200103)31:3<918::aid-immu918>#62;3.0.co;2-u.
 44. Vojdani A, Kharrazian D, Mukherjee PS. The prevalence of antibodies against wheat and milk proteins in blood donors and their contribution to neuroimmune reactivities. *Nutrients.* 2013; 6 (1): 15–36. DOI: 10.3390/nu6010015.

45. Kinoshita M, Nakatsuji Y, Kimura T, Moriya M, Takata K, Okuno T, et al. Anti-aquaporin-4 antibody induces astrocytic cytotoxicity in the absence of CNS antigen-specific T cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 2010; 394 (1): 205–10. DOI: 10.1016/j.bbrc.2010.02.157.
46. Черевко Н. А., Скирневская А. В., Розенштейн М. Ю., Новиков П. С., Муравейник О. А. Особенности специфической гиперчувствительности к пищевым антигенам молочного и злакового кластеров у детей с расстройством аутистического спектра. *Бюллетень сибирской медицины.* 2018; 17 (1): 159–66.
47. Новиков П. С., Черевко Н. А., Кондаков С. Э., Резапов Б. Р. Гиперчувствительность к пищевым антигенам как предиктор развития метаболического синдрома. Цитокины и воспаление. 2016; 15 (3–4): 280–4.
48. Новиков П. С., Черевко Н. А., Кондаков С. Э. Специфическая

- гиперчувствительность к пищевым антигенам — триггер развития анемии и гипотиреоза. *Российский иммунологический журнал.* 2017; 11 (4): 740–2.
49. Kaličanin D, Brčić L, Barić A, Zlodre S, Baralić M, Lovrić TV. Evaluation of Correlations Between Food-Specific Antibodies and Clinical Aspects of Hashimoto's Thyroiditis. *J Am Coll Nutr.* 2019; 38 (3): 259–66. DOI: 10.1080/07315724.2018.1503103.
 50. Smeekens J, Johnson B, Hinton A, Azcárate-Peril MA. Food antigen sensitization in genetically-susceptible mice is influenced by fecal IgA, antigen absorption, and gut microbiome composition. *Journal of Allergy and Clinical Immunology.* 2021; 147 (2): AB142. DOI: 10.1016/j.jaci.2020.12.516.
 51. Добродеева Л. К., Штаборов В. А., Меньшикова Е. А. Толерантность к пищевым антигенам. *Вестник Уральской медицинской академической науки.* 2017; 14 (4): 341–54.

References

1. Ma Y, Yin Z, Li L, Chen B, Dai H, Wu D, et al. Food antigens exacerbate intestinal damage and inflammation following the disruption of the mucosal barrier. *International Immunopharmacology.* 2021; 96: 107670. DOI: 10.1016/j.intimp.2021.107670.
2. Bjarnason I, Takeuchi K. Intestinal permeability in the pathogenesis of NSAID-induced enteropathy. *J. Gastroenterol.* 2009; 44 (19): 23–9. DOI: 10.1007/s00535-008-2266-6.
3. Bjarnason I, Scarpignato C, Holmgren E, Olszewski M, Rainsford KD, Lanas A. Mechanisms of damage to the gastrointestinal tract from nonsteroidal anti-inflammatory. *Drugs. Gastroenterology.* 2018; 154 (3): 500–14. DOI: 10.1053/j.gastro.2017.10.049.
4. Colucci R, Pellegrini C, Fornai M, Tirotta E, Antonioli L, Renzulli C, et al. Pathophysiology of NSAID-Associated Intestinal Lesions in the Rat: Luminal Bacteria and Mucosal Inflammation as Targets for Prevention. *Front Pharmacol.* 2018; 9: 1340. DOI: 10.3389/fphar.2018.01340.
5. D'Inca MR. Intestinal permeability in inflammatory bowel disease: pathogenesis, clinical evaluation, and therapy of leaky gut. *Mediators Inflamm.* 2015; 628157. DOI: 10.1155/2015/628157.
6. Fukui H. Increased intestinal permeability and decreased barrier function: does it really influence the risk of inflammation? *Inflamm Intest Dis.* 2016; 1 (3): 135–45. DOI: 10.1159/000447252.
7. Graziani C, Talocco C, Sire R De, Petito V, Lopetuso LR, Gervasoni J, et al. Intestinal permeability in physiological and pathological conditions: major determinants and assessment modalities. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2019; 23 (2): 795–810. DOI: 10.26355/eurrev_201901_16894.
8. Niewiem M, Grzybowska-Chlebowczyk U. Intestinal barrier permeability in allergic diseases. *Nutrients.* 2022; 14 (9): 1893. DOI: 10.3390/nu14091893.
9. Gertie JA, Zhang B, Liu EG, Hoyt LR, Yin X, Xu L, et al. Oral anaphylaxis to peanut in a mouse model is associated with gut permeability but not with Tlr4 or Dock8 mutations. *Journal of Allergy and Clinical Immunology.* 2022; 149: 262–74. DOI: 10.1016/j.jaci.2021.05.015.
10. Vancamelbeke M, Vermeire S. The intestinal barrier: a fundamental role in health and disease. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol.* 2017; 11 (9): 821–34. DOI: 10.1080/17474124.2017.1343143.
11. Vojdani A, Gushgari LR, Vojdani E. Interaction between food antigens and the immune system: Association with autoimmune disorders. *Autoimmunity Reviews.* 2020; 19 (3): 1–15. DOI: 10.1016/j.autrev.2020.102459.
12. Boye JL. Food allergies in developing and emerging economies: need for comprehensive data on prevalence rates. *Clinical and Translational Allergy.* 2012; 2: 1–9. DOI: 10.1186/2045-7022-2-25.
13. Fu L, Cherayil BJ, Shi H, Wang Y, Zhu Y. Risk assessment and control management of food allergens. *Food Allergy.* 2019; 195–216. DOI: 10.1007/978-981-13-6928-5_9.
14. Ramachandran B, Yang CT, Downs ML. Parallel reaction monitoring mass spectrometry method for detection of both casein and whey milk allergens from a baked food matrix. *Journal of Proteome Research.* 2020; 19 (8): 2964–76. DOI: 10.1021/acs.jproteome.9b00844.
15. Onoda Y, Aoki Y, Nagai A, Nakamura M, Suzuki K, Futamura K, et al. A case of hen's egg-dependent exercise-induced immediate-type allergy. *Allergology International.* 2020; 69 (3): 476–7. DOI: 10.1016/j.alit.2020.01.006.
16. Gupta RS, Warren CM, Smith BM, Jiang J, Blumenstock JA, Davis MM, et al. Prevalence and severity of food allergies among US adults. *The Journal of American Medical Association Network Open.* 2019; 2 (1): e185630. DOI: 10.1001/jamanetworkopen.2018.5630.
17. Davis CM, Gupta RS, Aktas ON, Diaz V, Kamath SD, Lopata AL. Clinical management of seafood allergy. *Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice.* 2020; 8 (1): 37–44. DOI: 10.1016/j.jaip.2019.10.019.
18. Noah TK, Knoop KA, McDonald KG, Gustafsson JK, Waggoner L, Vanoni S, et al. 9 IL-13-induced intestinal secretory epithelial cell antigen passages are required for IgE-mediated food-induced anaphylaxis. *Journal of Allergy and Clinical Immunology.* 2019; 144 (4): 1058–1073.e3. DOI: 10.1016/j.jaci.2019.04.030.
19. Kulkarni DH, Gustafsson JK, Knoop KA, McDonald KG, Bidani SS, Davis JE, et al. Goblet cell associated antigen passages support the induction and maintenance of oral tolerance. *Mucosal Immunology.* 2020; 13: 271–82. DOI: 10.1038/s41385-019-0240-7.
20. Khuda SE, Nguyen AV, Sharma GM, Alam MS, Balan KV, Williams KM. Effects of emulsifiers on an in vitro model of intestinal epithelial tight junctions and the transport of food allergens. *Molecular Nutrition & Food Research.* 2022; 66: e2100576. DOI: 10.1002/mnfr.202100576.
21. Nešić A, Čavić M, Popović M, Zlatanova M, Pieters R, Smit J, et al. The Kiwifruit Allergen Act d 1 activates NF- κ B signaling and affects mRNA expression of TJ proteins and innate pro-allergenic cytokines. *Biomolecules.* 2019; 9 (12): 816. DOI: 10.3390/biom9120816.
22. Bykov AS, Karaulov AV, Tsomartova DA, Kartashkina NL, Goriachkina VL, Kuznetsov SL, et al. M-cells are one of the important components in initiating the immune response in the gut. *Russian Journal of Infection and Immunity.* 2018; № 8 (3): 263–72. (Russian).
23. Rescigno M, Urbano M, Valzasina B, Rotta G, Bonasio R, Granucci F, et al. Dendritic cells express tight junction proteins and penetrate gut epithelial monolayers to sample bacteria. *Nat Immunol.* 2001; 2: 361–7. DOI: 10.1038/86373.
24. Rescigno M, Rotta G, Valzasina B, Ricciardi-Castagnoli P. Dendritic cells shuttle microbes across gut epithelial monolayers. *Immunobiology.* 2001; 204: 572–81. DOI: 10.1078/0171-2985-00094.
25. Zeng Q, Dong S-Y, Wu L-X, Li H, Sun Z-J, Li J-B, et al. Variable food-specific IgG antibody levels in healthy and symptomatic Chinese adults. *PLoS One.* 2013; 8 (1): e53612. DOI: 10.1371/journal.pone.0053612.
26. Shakoor Z, AlFaifi A, AlAmro B, AlTawil LN, AlOhalay RY. Prevalence of IgG-mediated food intolerance among patients with allergic symptoms. *Ann Saudi Med.* 2016; 36 (6): 386–90. DOI: 10.5144/0256-4947.2016.386.

27. Lu S, Wan JS, Su Y, Wu J. Detection and analysis of serum food-specific IgG antibody in Beijing area. *Zhonghua Yu Fang Yi Xue Za Zhi*. 2021; 55 (2): 253–7. DOI: 10.3760/cma.j.cn112150-20201027-01309.
28. Young E, Stoneham MD, Petruckevitch A, Barton J, Rona R. A population study of food intolerance. *Lancet*. 1994; 343: 1127–30. DOI: 10.1016/s0140-6736(94)90234-8.
29. Schäfer T, Böhler E, Ruhdorfer S, Weigl L, Wessner D, Heinrich J, et al. Epidemiology of food allergy/food intolerance in adults: associations with other manifestations of atopy. *Allergy*. 2001; 56: 1172–9. DOI: 10.1034/j.1398-9995.2001.00196.x.
30. Zaitu M, Narita S-I, Lambert KC, Grady JJ, Estes DM, Curran EM, et al. Estradiol activates mast cells via a non-genomic estrogen receptor-alpha and calcium influx. *Molecular immunology*. 2007; 44: 1977–85. DOI: 10.1016/j.molimm.2006.09.030.
31. Watanabe Y, Tajiki-Nishino R, Tajima H, Fukuyama T. Role of estrogen receptors α and β in the development of allergic airway inflammation in mice: A possible involvement of interleukin 33 and eosinophils. *Toxicology*. 2019; 411 (1): 93–100. DOI: 10.1016/j.tox.2018.11.002.
32. Tao R, Fu Z, Xiao L. Chronic food antigen-specific IgG-mediated hypersensitivity reaction as a risk factor for adolescent depressive disorder. *Genomics, Proteomics & Bioinformatics*. 2019; 17 (2): 183–9. DOI: 10.1016/j.gpb.2019.05.002.
33. Wang G, Ren J, Li G, Hu Q, Gu G, Ren H, et al. The utility of food antigen test in the diagnosis of Crohn's disease and remission maintenance after exclusive enteral nutrition. *Clinics and Research in Hepatology and Gastroenterology*. 2018; 42 (2): 145–52. DOI: 10.1016/j.clinre.2017.09.002.
34. Mu Q, Kirby J, Reilly CM, Luo XM. Leaky gut as a danger signal for autoimmune diseases. *Front Immunol*. 2017; 8: 598. DOI: 10.3389/fimmu.2017.00598.
35. Vojdani A. Molecular mimicry as a mechanism for food immune reactivities and autoimmunity. *Altern Ther Health Med*. 2015; 21 (1): 34–45.
36. Riemekasten G, Marell J, Hentschel C, Klein R, Burmester G-R, Schoessler W, et al. Casein is an essential cofactor in autoantibody reactivity directed against the C-terminal SmD1 peptide AA 83-119 in systemic lupus erythematosus. *Immunobiology*. 2002; 206: 537–54. DOI: 10.1078/0171-2985-00202.
37. Gershteyn IM, Ferreira LMR. Immunodietica: A data-driven approach to investigate interactions between diet and autoimmune disorders. *J Transl Autoimmun*. 2019; 28 (1): 100003. DOI: 10.1016/j.jtauto.2019.100003.
38. Watanabe R, Murakami Y, Marmor MD, Inoue N, Maeda Y, Hino J, et al. Initial enzyme for glycosylphosphatidylinositol biosynthesis requires PIG-P and is regulated by DPM2. *EMBO J*. 2000; 19 (16): 4402–11. DOI: 10.1093/emboj/19.16.4402.
39. Swoboda I, Bugajska-Schretter A, Verdino P, Keller W, Sperr WR, Valent P. Recombinant carp parvalbumin, the major cross-reactive fish allergen: a tool for diagnosis and therapy of fish allergy. *J Immunol*. 2002; 168: 4576–84. DOI: 10.4049/jimmunol.168.9.4576.
40. Liu R, Holck AL, Yang E, Liu C, Xue W. Tropomyosin from tilapia (*Oreochromis mossambicus*) as an allergen. *Clin Exp Allergy*. 2013; 43 (3): 365–77. DOI: 10.1111/cea.12056.
41. Vojdani A, O'Bryan T, Green JA, Mccandless J, Woeller KN, Vojdani E, et al. Immune response to dietary proteins, gliadin and cerebellar peptides in children with autism. *Nutr Neurosci*. 2004; 7: 151–61. DOI: 10.1080/10284150400004155.
42. Kohno T, Kobashiri Y, Sugie Y, Takai S, Watabe K, Kaino Y. Antibodies to food antigens in Japanese patients with type 1 diabetes mellitus. *Diabetes Research and Clinical Practice*. 2002; 55 (1): 1–9. DOI: 10.1016/s0168-8227(01)00250-9.
43. Natter S, Granditsch G, Reichel GL, Baghestanian M, Valent P, Elfman L. IgA cross-reactivity between a nuclear autoantigen and wheat proteins suggests molecular mimicry as a possible pathomechanism in celiac disease. *Eur J Immunol*. 2001; 31: 918–28. DOI: 10.1002/1521-4141(200103)31:3<918::aid-immu918>#62;3.0.co;2-u.
44. Vojdani A, Kharrazian D, Mukherjee PS. The prevalence of antibodies against wheat and milk proteins in blood donors and their contribution to neuroimmune reactivities. *Nutrients*. 2013; 6 (1): 15–36. DOI: 10.3390/nu6010015.
45. Kinoshita M, Nakatsuji Y, Kimura T, Moriya M, Takata K, Okuno T, et al. Anti-aquaporin-4 antibody induces astrocytic cytotoxicity in the absence of CNS antigen-specific T cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2010; 394 (1): 205–10. DOI: 10.1016/j.bbrc.2010.02.157.
46. Cherevko NA, Skirnevskaya AV, Rozenshtein MY, Novikov PS, Muraveinik OA. Features of specific hypersensitivity to food antigens of milk and cereal clusters in children with autism spectrum disorder. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2018; 17 (1): 159–66. (Russian).
47. Novikov PS, Cherevko NA, Kondakov SE, Rezapov BR. Hypersensitivity to food antigens as a predictor of metabolic syndrome. *Cytokines and inflammation*. 2016; 15 (3–4): 280–4. (Russian).
48. Novikov PS, Cherevko NA, Kondakov SE. Specific hypersensitivity to food antigens is a trigger for the development of anemia and hypothyroidism. *Russian Journal of Immunology*. 2017; 11 (4): 740–2. (Russian).
49. Kaličanin D, Brčić L, Barić A, Zlodre S, Barbalić M, Lovrić TV. Evaluation of Correlations Between Food-Specific Antibodies and Clinical Aspects of Hashimoto's Thyroiditis. *J Am Coll Nutr*. 2019; 38 (3): 259–66. DOI: 10.1080/07315724.2018.1503103.
50. Smeekens J, Johnson B, Hinton A, Azcárate-Peril MA. Food antigen sensitization in genetically-susceptible mice is influenced by fecal IgA, antigen absorption, and gut microbiome composition. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2021; 147 (2): AB142. DOI: 10.1016/j.jaci.2020.12.516.
51. Dobrodeeva LK, Shtaborov VA, Menshikova EA. Tolerance to food antigens. *Journal of Ural Medical Academic Science*. 2017; 14 (4): 341–54. (Russian).

АЛЛЕРГИЯ НА ЛАТЕКС

С. В. Гулько¹, Г. Ю. Бабаджанова^{1,2}✉¹ Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова Министерства образования России, Москва, Россия² Научно-исследовательский институт пульмонологии Федерального медико-биологического агентства, Москва, Россия

Латекс, получаемый из сока каучукового дерева *Hevea brasiliensis*, используют для изготовления многих медицинских изделий, включая катетеры, баллоны и перчатки. Были идентифицированы сотни аллергенов из натурального каучукового латекса, 15 из которых присвоены официальные номера (от Hev b1 до Hev b15). Природные белки в каучуке связаны как с бессимптомной сенсибилизацией, так и с IgE-опосредованной гиперчувствительностью I типа. При обработке латекса добавляют химические антиоксиданты, которые также могут вызывать реакции гиперчувствительности IV типа. Аллергия на латекс — одна из наиболее частых причин анафилаксии в операционной, и ее распространенность возросла с увеличением использования латексных перчаток начиная с 1980-х гг. Она стала широко известной проблемой среди медицинских работников при ношении перчаток и вдыхании аэрозольных частиц. Цель настоящего обзора — изучение актуальных научных исследований и полученных данных в этой пока еще не до конца изученной области. Кроме этого, повышение информированности врачей и пациентов минимизирует имеющиеся риски появления аллергии на латекс.

Ключевые слова: аллергия на латекс, латекс, латексная анафилаксия, резина, гиперчувствительность I типа**Вклад авторов:** С. В. Гулько — поиск литературы и оформление работы; Г. Ю. Бабаджанова — руководство, редакция, внесение правок.✉ **Для корреспонденции:** Гульнара Юсуповна Бабаджанова
Ореховый бульвар, д. 28, г. Москва, 115682, Россия; babadjanova@rambler.ru**Статья получена:** 08.11.2023 **Статья принята к печати:** 15.12.2023 **Опубликована онлайн:** 31.12.2023**DOI:** 10.47183/mes.2021.064

LATEX ALLERGY

Gulko SV¹, Babadjanova GYu^{1,2}✉¹ Lomonosov Moscow State University, Ministry of Education and Science of the Russian Federation, Moscow, Russia² Pulmonology Research Institute, Federal Medical Biological Agency, Moscow, Russia

Latex, made from *Hevea brasiliensis* sap, is the material used to make many medical products, including catheters, balloons and gloves. Hundreds of allergens from natural rubber latex have been identified, and 15 of them were numbered, from Hev b1 to Hev b15. Natural proteins in rubber cause both asymptomatic sensitization and type I IgE-mediated hypersensitivity. Treatment of latex makes use of chemical antioxidants that can also bring about type IV hypersensitivity reactions. Latex allergy is one of the most common causes of anaphylaxis in the operating room, and its prevalence has been growing since 1980s, together with the popularity of latex gloves. It is a well-known problem among medical professionals, with gloves and inhaled aerosol particles being the sources thereof. This study aimed to review the current scientific research and practical data in this only partially investigated area. In addition, increasing the awareness of doctors and patients minimizes the existing risks of latex allergy.

Keywords: latex allergy, latex, latex anaphylaxis, rubber, type I hypersensitivity**Author contribution:** Gulko SV — literature search and article formalization; Babadjanova GYu — management, editing, commenting.✉ **Correspondence should be addressed:** Goul'nara Y. Babadjanova
Orekhovy bul'var, 28, 115682, Moscow, Russia; babadjanova@rambler.ru**Received:** 08.11.2023 **Accepted:** 15.12.2023 **Published online:** 31.12.2023**DOI:** 10.47183/mes.2021.064

Полиизопрен, широко известный как натуральный каучуковый латекс (natural rubber latex — NRL), используют в производстве широкого спектра коммерческих товаров, включая медицинские перчатки и шины для самолетов. Основным источником натурального каучука — это латекс, подобная соку жидкость, получаемая из дерева гевея бразильская — *Hevea brasiliensis* (Hev b). Это дерево выращивают преимущественно в Африке и Юго-Восточной Азии, особенно в Таиланде, Индокитае, Малайзии и Индии [1].

Натуральный каучук находится в сети трубчатых клеток млечника под корой дерева *Hevea brasiliensis*. Он состоит из полимерного углеводорода 1,4-цис-полиизопрена, воды и цитоплазматических органелл и содержит несколько ферментов и структурных белков, участвующих в биосинтезе полиизопрена, коагуляции латекса и защите растений от микробов. Некоторые из этих белков — сильные аллергены, способные привести к сенсибилизации и аллергическим реакциям у людей, подвергнувшись их воздействию. Они могут вызывать выработку иммуноглобулинов E (IgE)

человека, провоцируя ряд аллергических реакций при последующем воздействии [2, 3].

Цель настоящего обзора — изучение актуальных научных исследований и анализ полученных данных об аллергии на латекс.

Терминология

Слово «латекс» может иметь несколько определений. В данном контексте оно относится к натуральному полиизопреновому веществу, представляющему собой жидкость молочного или белого цвета. Она вырабатывается клетками различных семенных растений, таких как молочай и мак. Эта жидкость — источник натурального каучука, гуттаперчи, чикле и гутта-балата, широко используемых в медицине. Кроме того, термин «латекс» может относиться к водной эмульсии синтетического полиизопрена, нитрила, неопрена или пластика, полученных в результате полимеризации. Этот тип

Таблица 1. Аллергены на латекс гевеи бразильской

Название	Описание	Масса (кДа)	Семейство	Кросс-реакция
Hev b 1*	Фактор элонгации резины	58/14.6	–	Папайн, инжир
Hev b 2	Бета 1/3 глюкоканаса	34–36	PR-2	–
Hev b 3*	Пренилтрансфераза	24–27	–	–
Hev b 4	Микрохеликс	110/115	–	–
Hev b 5*	Кислотный белок	16	–	Киви
Hev b 6.01	Препропротеин гевеина (прохевиин)	20	PR-3	Авокадо, банан, каштан
Hev b 6.02*	Белок гевеи (зрелый гевеин)	4,7	PR-3	Авокадо, банан, каштан
Hev b 6.03	С-концевой фрагмент гевеина	15,3	PR-3	Авокадо, банан, каштан
Hev b 7	Гомолог пататина (Hev b 7.01/7.02)	43–46	–	Картофель (пататин Sol t 1)
Hev b 8	Профилин гевеи	14–14,2	Профилин	Пыльца, сельдерей
Hev b 9	Энолаза гевеи	51	–	Плесень
Hev b 10	Mn супероксид дисмутаза	22–26	–	Плесень
Hev b 11	Хитиназа I класса	33	PR-3	Банан, авокадо
Hev b 12	Липид-трансферный белок	9,4	PR-14	Персик и др. косточковые фрукты
Hev b 13	Эстераза	42	–	–
Hev b 14	Хитиназа, семейство гликозидазных гидролаз 18	30,2	–	–
Hev b 15	Ингибитор сериновой протеазы	8	PR-6	Пшеница
Hev b CitBP	Цитратсвязывающий белок	27	–	–
Hev b CyP	Циклофилин-ротамаза	18	–	–
Hev b GADPH	Глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа	37	–	–
Hev b HSP80	Белок теплового шока	80	–	–
Hev b IFR	Изофлавоноредуктаза	35	–	–
Hev b PRS	Субъединица протеасомы	2	–	–
Hev b TRX	Тиоредоксиноксидредуктаза	12	–	–
Hev b UDPGP	Уридин дифосфат-глюкоза-пирофосфорилаза	52	–	–

Примечания: патогенез-ассоциированный белок; Sol t: *solanum tuberosum*. * — «Индикаторные» белки, полезные для оценки содержания аллергенов в резиновых изделиях или в качестве маркеров загрязнения окружающей среды.

латекса используют в производстве покрытий, клеев, медицинских перчаток и др.

Аллергены латекса гевеи

Известно около 250 различных типов полипептидов NRL, из которых 60 могут связываться с антителами IgE человека. Из них только 15 ключевым аллергенам были присвоены официальные номера (от Hev b 1 до Hev b 15) Комитетом по международной номенклатуре аллергенов Международного союза иммунологических обществ (UIS) [4, 5]. 15 аллергенных белков гевеи выполняют широкий спектр функций: биосинтез каучука, устойчивость к болезням, структура и домашнее хозяйство. Кроме того, были идентифицированы девять других белков гевеи, которые могут вызывать выработку антител IgE (табл.).

Среди аллергенов гевеи наиболее сенсibilизирующие — Hev b 1, 2, 3, 4, 5, 6.02, 7.01 и 13 [4, 5]. Клиническое значение некоторых аллергенов гевеи (Hev b 2 и Hev b 13) пока представляет собой предмет споров. Тем не менее, эта дискуссия носит в основном академический характер, поскольку лечение человека с аллергией на латекс предполагает отказ от всех аллергенов Hev b.

Индикаторные аллергены гевеи

В табл. описаны четыре белка гевеи, которые можно использовать в качестве «индикаторных» аллергенов для оценки содержания аллергенов в резиновых изделиях или

для указания на присутствие латекса в окружающей среде [6]. Два из этих аллергенов, Hev b 1 (фактор удлинения каучука) и Hev b 3 (пренилтрансфераза), связаны с поверхностью частиц полиизопренового каучука и требуют прямого контакта слизистой оболочки с изделиями из каучука *Hevea*, например, во время операции, для сенсibilизации человека к этим аллергенам. Аллергены Hev b 5 (кислый белок) и Hev b 6.01/6.02 (зрелый гевеин) растворимы и присутствуют в латексном цитозоле или сыворотке С. Они в основном высвобождаются из пропитанных резиновых изделий, особенно из латексных перчаток, и переносятся через аэрозольный порошок, используемый для надевания перчаток, или в окружающую среду. Эти белки — основные аллергены, участвующие в сенсibilизации медицинских работников.

Перекрестная сенсibilизация между латексом, фруктами и пылью

Перекрестно-пищевая аллергия на латекс — состояние, при котором от 30 до 50% людей с аллергией на латекс также испытывают повышенную чувствительность к определенным свежим фруктам и продуктам растительного происхождения [7]. Реакции могут быть серьезными, и до 50% зарегистрированных пищевых реакций — анафилактические. Продукты, содержащие перекрестно-реактивные аллергены, включают бананы, киви, авокадо, каштаны, папайю, белый картофель и помидоры. Аллергены в них имеют структурную гомологию с аллергенами Hev b в

латексе (табл.). Основным паналлергеном, ответственным за большую часть перекрестной реактивности фруктов и латекса, служит белок, связанный с защитой, хитиназа класса 1, имеющая структурную гомологию с Hev b 6.01. Hev b 5 имеет гомологию с кислым белком киви, персика и абрикоса, а Hev b 6.02 — с агглютинином и эндохитиназой зародышей пшеницы в авокадо и банане. Hev b 7.01 и Hev b 7.02 — эстеразы, имеющие структурную гомологию с пататином (Sol t 1) — основным запасным белком в клубнях картофеля. Hev b 8 — профилин, способствующий перекрестной реактивности с другими высокосенсибилизирующими профилинами деревьев, травы, пыльцы сорняков и продуктов питания [8–10].

Обработка латекса гевеи

NRL можно разделить центрифугированием на три отдельных слоя [1]. Самый верхний содержит частицы натурального каучука, которые нерастворимы в воде и имеют высокие уровни Hev b 1 и 3. Средний слой, или сыворотка С, содержит растворимые белки и растительные ферменты, включая Hev b 5, 7, 8 и 9. Нижний слой — осадок или В-сыворотка, состоящая из гевеаминов, гевеина и других белков с хитиназой и лизоцимной активностью. Эта фракция богата Hev b 2, 4, 6.01/6.02, 7, 10, 11 и 13. Сывороточные белки В и С водорастворимы и используются для создания диагностических экстрактов кожных тестов.

NRL можно обрабатывать двумя способами [11]. Примерно 90% NRL подвергают кислотной коагуляции и используют для производства формованных резиновых изделий: шин, плунжеров для шприцев и подошвы для обуви. Этот процесс снижает аллергенность продукта. Оставшиеся 10% аммонизируют и используют для создания резиновых изделий: перчаток, катетеров и воздушных шаров. Эти продукты содержат более высокие уровни латексных аллергенов, включая Hev b 5, Hev b 6 и Hev b 13, и становятся основной причиной аллергических реакций на белки NRL. Производимые сегодня латексные перчатки могут содержать пониженные уровни экстрагируемого латексного белка за счет обработки протеазами, однако они все еще включают определенное количество аллергенного белка. Латексные перчатки без пудры обычно содержат самые низкие уровни аллергенов из-за процесса окончательной промывки хлором.

Эпидемиология

Использование латексных перчаток из натурального каучука медицинскими работниками вызвало всплеск распространенности латексной аллергии в середине–конце 1990-х гг. Это спровоцировало повсеместный отказ от латексных перчаток с пудрой, что привело к снижению числа новых случаев аллергии на латекс среди медицинских работников и пациентов, перенесших несколько операций [12]. Однако опудренные перчатки и другие изделия из натурального каучука, например, мочевые катетеры, все еще используют в некоторых странах, из-за чего аллергия на латекс остается там серьезной проблемой. Флористы, продавцы продуктов питания и пациенты, например, находящиеся на диализе, также подвержены риску развития аллергии [13].

Эпидемия аллергии на латекс была вызвана несколькими факторами в Северной Америке и Европе. В 1992 г. Управление по охране труда и гигиене труда



Рис. Контактный дерматит

США (OSHA) выпустило Стандарт по переносимым с кровью патогенам, требующий использования защитных перчаток [12], а «универсальные меры предосторожности» расширили использование медицинских перчаток. Латекс стали обрабатывать быстро, а не хранили в течение длительного периода, что свело к минимуму степень денатурации белка, которая естественным образом происходит во время хранения. Эти факторы увеличили количество аллергенного белка в сырье и готовых медицинских перчатках, усугубив проблему аллергии на латекс среди медицинского сообщества [12, 14, 15].

Распространенность в общей популяции

Распространенность аллергии на латекс варьируется в зависимости от численности населения и методов, используемых для выявления новых случаев. Кожные пробы и серологические методы ориентированы на обнаружение Hev b 6.02 — наиболее распространенного аллергена в латексных экстрактах [16]. В середине 1990-х от 3 до 9,5% населения в целом имели антитела IgE к NRL. Однако с увеличением отказа от NRL распространенность сенсибилизации к латексу снизилась до < 1% к 2006 г. Показатели клинической аллергии еще более снижены, но не включают пациентов с аллергическим контактным дерматитом, не являющимся IgE-опосредованным [7].

Распространенность среди медицинских работников

Аллергия на латекс стала серьезной проблемой для здоровья в конце 1980-х гг., особенно среди медицинских работников, которые подвергались воздействию аллергенов гевеи через порошковые латексные перчатки, что приводило к прямому контакту с кожей и вдыханию аэрозольных аллергенов [17]. К середине 1990-х гг. распространенность сенсибилизации к аллергенам гевеи среди медицинских работников общей практики оценивали в 12,1%, но с введением неопудренных перчаток она снизилась до 4–7%. Однако аллергия на латекс все еще происходит на воздушные шары, пластины из латекса, резиновые платки, используемые в стоматологии [18].

В западных странах, где были приняты общие правила отказа от перчаток из натурального каучука, пандемия COVID-19 привела к ослаблению государственного контроля над типом заказываемых перчаток. Однако

в таких регионах, как Азия, где не введена общая практика отказа, аллергия на латекс остается актуальной проблемой [19].

Распространенность латексной аллергии среди пациентов, перенесших несколько операций

Латексная сенсibilизация и аллергия распространены у лиц, перенесших множественные операции, особенно на органах брюшной полости или мочеполовой системы. Детей с расщелиной позвоночника (Spina bifida) относят к группе высокого риска, так как часто подвергаются воздействию латекса в результате многочисленных операций, катетеризации мочевого пузыря и ручного удаления прямой кишки. Было подсчитано, что от 1/3 до 2/3 детей, перенесших операции в 1990-х гг., стали чувствительными к аллергенам гевеи. Однако в некоторых частях мира распространенность аллергии на латекс у пациентов с миеломенингоцеле остается высокой и составляет 19,5%, а наличие более пяти операций — наиболее важный фактор риска для этого состояния [20].

Факторы риска

Основными факторами, повышающими риск развития аллергии на латекс, становятся профессиональные воздействия и склонность к атопии. Люди с экземой или аллергией на фрукты и овощи также более склонны к развитию аллергии [21]. Медицинские работники-атопики с аллергией на латекс с большей вероятностью имеют определенные полиморфизмы промоторов интерлейкина (IL), такие как IL13 и IL18, по сравнению с людьми без атопии [21]. Однако у пациентов с расщелиной позвоночника или экстропией мочевого пузыря и сопутствующей аллергией на латекс не наблюдают повышенной частоты этих полиморфизмов. Вместо этого факторами риска для данных пациентов служат количество предыдущих операций и история атопического заболевания [22].

Клинические проявления

На симптомы, возникающие при реакции на латекс, влияют различные факторы, в том числе способ воздействия, количество аллергена, присутствующего в продукте из натурального каучука, и основной механизм реакции (раздражающий, не-IgE-опосредованный или IgE-опосредованный) [23].

Люди, носящие медицинские перчатки из латекса Nevea, чаще всего жалуются на сухую, потрескавшуюся и раздраженную кожу [24]. Обычны также эритема и образование пузырьков. Эта сыпь выглядит как аллергический контактный дерматит, но ее нельзя отнести к гиперчувствительности замедленного типа к добавкам в перчатках. Наоборот, это раздражающий контактный дерматит, обусловленный потоотделением из-за окклюзии перчаткой, длительным контактом с щелочным pH, вызванным кукурузным крахмалом, используемым во многих порошковых перчатках, частым мытьем рук и использованием агрессивных средств для них.

Аллергический контактный дерматит

Кожная сыпь и зуд — распространенные симптомы аллергического контактного дерматита, возникающие через 1–4 дня после контакта кожи с изделием из NRL. Сыпь первоначально проявляется как острый экзематозный

дерматит, часто с везикулами, затем становится сухой, покрывается корками и лихенифицируется. Реакция лихенизации (утолщение кожи с подчеркнутыми складками или рисунком, которое имеет вид глубоких бороздок и морщин) представляет собой гиперчувствительность замедленного типа (тип IVc), опосредованную Т-клетками, запускаемую химическими веществами-окислителями и ускорителями (тиурамы, карбаматы, бензотиазолы, тиомочевина, амины), используемыми в процессе производства латекса, то есть это реакция не на аллергены Hev b. Однако контактный дерматит может увеличить риск IgE-опосредованной сенсibilизации к латексу из-за повышенной абсорбции аллергенов через кожные повреждения [25].

Аллергическая контактная крапивница

Аллергическая контактная крапивница или контактный дерматит — реакция гиперчувствительности немедленного типа (тип I), опосредованная IgE, и характеризующаяся контактной крапивницей (рис.) [26]. О таком типе реакции часто сообщают медицинские работники, использующие медицинские перчатки из латекса. В течение 10–15 мин после контакта с кожей могут появиться покраснение, зуд, волдыри и сыпь.

Риноконъюнктивит и астма

При использовании порошковых латексных перчаток выделяются аллергены гевеи в виде дымки, способные вызывать симптомы ринита и астмы у людей, чувствительных к латексу [23]. Симптомы вызванного латексом чихания, зуда, слезотечения, заложенности носа и насморка аналогичны симптомам сезонной аллергии на пыльцу.

Существовавшая ранее астма не обязательна для развития латекс-индуцированной астмы. Аллергические симптомы, поражающие верхние и нижние дыхательные пути, могут быть настолько серьезными, что некоторым лицам, подвергающимся воздействию латекса на работе, приходится уходить с нее, если их работодатель не сможет устранить или значительно уменьшить воздействие латекса на них [25, 23].

Анафилаксия

Имеются сообщения об анафилактических реакциях, возникающих в результате использования различных продуктов, содержащих латекс, как в медицинских, так и в немедицинских условиях [25, 27, 28]. Продукты, чаще всего вызывающие анафилаксию, включают:

- перчатки;
- катетеры с баллонным наконечником;
- стоматологические коффердамы или пластины из латекса, предназначенные для изоляции одного или нескольких обрабатываемых зубов от остальной полости рта во время лечения;
- презервативы;
- клеи для наращивания волос;
- игрушечные шарики;
- пустышки, прорезыватели, соски для бутылочек.

Диагностика

Диагностика аллергии на латекс может быть затруднена. Лучший способ определить наличие аллергии — это тщательно изучить анамнез, особенно в отношении

воздействия и симптомов. Хотя для подтверждения диагноза можно использовать кожные тесты, пока не доступные в России, серологию и провокационные тесты, они имеют ограничения из-за недоступности реагентов, переменной чувствительности и специфичности, а также вероятности развития тяжелых реакций.

История болезни

Для диагностики латексной аллергии необходим тщательный клинический анамнез аллергических реакций, связанных с воздействием продуктов, содержащих NRL [29]. Если у пациента возникает немедленная реакция гиперчувствительности на продукт в течение нескольких минут после контакта и есть подозрение на NRL, следует провести тщательную оценку всех потенциальных аллергенов, поскольку причиной может быть другой аллерген. Например, в случае, когда у женщины с аллергией на коровье молоко возникла опасная для жизни анафилактическая реакция сразу же после использования новых перчаток для кикбоксинга, позже было обнаружено, что триггером был не NRL, а казеин — компонент коровьего молока, входящий в состав наполнителя перчаток [30].

Аллергия на латекс связана с различными факторами риска: дерматитом рук, аллергией на фрукты/овощи и атопией. Если есть подозрение на аллергию на латекс, основанное на клиническом анамнезе, следующим шагом будет проведение тестов для подтверждения сенсибилизации к аллергенам гевеи путем либо кожных проб, либо обнаружения специфичных к гевее IgE в сыворотке. ПАТЧ-тестирование (аппликационные тесты) также можно использовать для дифференциации между клеточно-опосредованными реакциями гиперчувствительности замедленного типа на компоненты латекса Nev b и реакциями гиперчувствительности немедленного типа, вызванными IgE-антителами в ответ на химические вещества, добавляемые к каучуку [29]. К сожалению, все эти тесты пока недоступны в России.

Объективные исследования для выявления латексной аллергии

В разных странах существуют разные рекомендации по диагностическим тестам, используемым для подтверждения наличия аллергии на латекс.

Стратегии исследования и доступные реагенты

В США специфичные к NRL IgE-антитела в сыворотке можно обнаружить с помощью автоматических анализаторов, одобренных Federal Drug Administration (FDA). Эти системы, такие как ImmunoCAP и Immulite, обычно используют в лабораториях клинической иммунологии [31, 32]. В странах, где доступны известные реагенты для кожных тестов, сначала может быть проведена кожная проба с уколом или проколом, а затем серология на латекс-специфичные IgE-антитела с использованием одного из методов автоматических анализаторов, если результаты кожных проб не соответствуют диагнозу, основанному на истории болезни пациента [33, 34].

Кожные пробы

Использование экстрактов сывороточных белков В и С из NRL при проведении кожных проб — надежный и

безопасный метод диагностики аллергии на латекс. Эффективность этой процедуры можно повысить путем стандартизации экстрактов аллергенов и их стабильности, как это было рекомендовано в предыдущих исследованиях [29–32].

В Европе и Канаде прокол кожи обычно проводят с глицеринированными латексными экстрактами гевеи, по крайней мере, из трех коммерческих источников [33]. Экстракты готовят с использованием стерильной отфильтрованной сыворотки С, полученной из не- или аммонизированного NRL, а затем глицеринируют для сохранения их стабильности и продления срока хранения. Сыворотка С содержит как растворимые, так и лютоидные аллергены, которые высвобождаются из частиц каучука. Неаммонизированная форма сыворотки С, используемая в европейских реагентах для кожных тестов, имеет обширный аллергенный состав.

Чтобы диагностировать аллергию на латекс, проводят кожный тест с использованием ланцета для прокола кожи последовательными концентрациями экстракта NRL. Однако были сообщения об анафилаксии, вызванной этой процедурой. Чувствительность и специфичность этого теста варьировались от 65 до 96% и от 88 до 94% %, соответственно, у детей с крапивницей, риноконъюнктивитом и/или астмой в анамнезе с подозрением на аллергию на латекс [34].

В США нет доступных коммерческих реагентов для кожных тестов, а экстракты, приготовленные в офисе из продуктов NRL, сильно различаются по содержанию аллергенов. Это вызывает опасения по поводу ложноотрицательных результатов диагностических кожных проб и возможности системных реакций из-за нестандартизированных экстрактов. Прокол изделия, содержащего гевею, также не рекомендуют, поскольку невозможно определить, какое количество аллергена было распределено в коже, что ведет к риску системной аллергической реакции в результате воздействия высоких доз или непреднамеренного вдоха [35].

Серологическое исследование

Когда коммерческие реагенты для кожных тестов на NRL недоступны, предпочтительной альтернативой становится тест определения специфичных IgE к латексу [29, 34–36]. Существует два широко используемых серологических метода: ImmunoCAP и автоанализаторы Immulite [36]. Автоанализатор Noveos, одобренный Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA) и используемый в Европе, устраняет проблемы, связанные с интерференцией IgE-антиуглеводов и экзогенного биотина, возможные при использовании ImmunoCAP и Immulite соответственно. Эти тесты включают инкубацию сыворотки человека с реагентом, содержащим иммобилизованный NRL с аллергеном в составе, и обнаружение связанного IgE-антитела с реагентом, меченным ферментом, против человеческого IgE. Сообщаемый нижний предел количественного определения для этих тестов составляет 0,1 кЕд/л (0,24 нг/мл). ImmunoCAP и Immulite обладают диагностической чувствительностью и специфичностью приблизительно 70% и > 95% соответственно [37, 38]. Микроматрица на основе чипа, содержащая восемь рекомбинантных аллергенов Nev b, показала лучшую специфичность в отношении антилатексных IgE, но она более дорогостоящая и обладает меньшей аналитической

чувствительностью, чем одиночные анализы IgE [39]. ImmunoCAP ISAC может различать пациентов с аллергией на латекс и сенсибилизацией, а также идентифицировать сенсибилизированных, но бессимптомных лиц [40]. Однако его диагностическая чувствительность низка (55%) для обнаружения антител IgE, по крайней мере, к одному аллергену Nev b у пациентов с аллергией на латекс и положительными кожными тестами.

Провокационные тесты

Описаны различные методы провокации, в том числе использование перчаток, назальный и ингаляционный провокационные тесты, основанные на развитии латекс-индуцированных кожных реакций или аллергических симптомов верхних и нижних дыхательных путей в качестве конечной точки теста [41–45]. Однако большинство из этих методов по-прежнему считают исследовательскими процедурами и не рекомендуют для рутинного клинического использования.

Выявление перекрестной пищевой аллергии

Для пациентов с аллергией на латекс, которые специально запрашивают тестирование на возможную перекрестную чувствительность, могут быть рассмотрены кожные прик-тесты с пищевыми экстрактами или определение специфических IgE к пищевым аллергенам. Однако тестирование ограничено, т. к. проведение кожных или серологических тестов без предшествующей реакции может привести к «положительным» результатам на наличие антител IgE, которые могут не иметь клинического значения и привести к ненужным мерам по предотвращению контакта с аллергеном.

Механизмы развития аллергии на латекс

Аллергия на латекс может проявляться двумя способами: отсроченными (тип IV) или немедленными реакциями типа I. Лица с отсроченной гиперчувствительностью, приводящей к контактному дерматиту, связанному с химической сенсибилизацией ускорителями, имеют более высокую вероятность развития системных реакций, опосредованных IgE (тип I) [37]. Таким образом, все лица с чувствительностью к латексу, подтвержденной положительным ответом IgE-антител к NRL, должны лечиться одинаково.

Стратегии предотвращения или лечения аллергии на латекс

Существует четыре возможных стратегии предотвращения или лечения аллергических симптомов после того, как у человека диагностирована аллергия на латекс:

- отказ — наиболее эффективный и экономически выгодный подход заключается в предотвращении контакта с аллергенами NRL [46–50]. Распространенность аллергии на латекс значительно снизилась среди медицинских работников и населения в целом во многих районах, а в некоторых случаях стала неопределяемой из-за широко распространенных мер по предотвращению контакта с аллергеном. Это включает в себя реализацию практической «безопасной от латекса» (не «безлатексной») стратегии, которая была принята большинством медицинских, стоматологических учреждений и домов престарелых [49];

- фармакотерапия — может использоваться для лечения острых и хронических аллергических симптомов, но более предпочтительный подход состоит в предотвращении реакций и возможности повышенной сенсибилизации. К сожалению, превентивная фармакотерапия обычно малоэффективна;

- иммунотерапия (ИТ) — имеет ограниченное применение из-за отсутствия утвержденных экстрактов терапевтического NRL и высокой частоты побочных реакций при использовании экспериментальных экстрактов [47, 50, 51]. Они также не утверждены и по сей день;

- анти-IgE-терапия — в настоящее время проводят исследования по использованию анти-IgE-терапии для пациентов с аллергией на латекс, опосредованной IgE, хотя она еще не одобрена для данного применения [52]. В некоторых случаях лечение анти-IgE сочетают с ИТ. Однако важно отметить, что оно может быть дорогостоящим, а его пригодность зависит от массы тела пациента и общего уровня IgE в сыворотке, который должен находиться в диапазоне от 30 до 700 кЕд/л [52, 53].

Отказ от использования латекса в учреждениях

Среда с безопасным латексом

Достижение полностью свободной от NRL среды — нереалистичная цель. Вместо этого эффективное предотвращение аллергии на латекс в медицинских учреждениях было достигнуто за счет создания «среды с безопасным латексом», в которой приоритет отдают контролю воздействия аллергенов латекса на медицинских работников, население в целом и людей с аллергией на NRL.

Латексные консультативные комитеты

Большинство медицинских учреждений в США создали латексные комитеты и программы, направленные на устранение воздействия аллергенов NRL [48, 54–56]. Были созданы междисциплинарные консультативные комитеты, обычно состоящие из местных экспертов, обладающих знаниями в различных областях, таких как юридические вопросы, закупки, охрана труда, аллергия и использование перчаток в хирургии, анестезиологии и других областях медицины [46, 54, 57, 58], а также комиссии для предоставления консультаций по всем вопросам, связанным с латексом.

Экологическая политика безопасности латекса

Создание «среды с безопасным латексом» включает в себя реализацию политики, направленной на замену продуктов, содержащих NRL, синтетическими альтернативами без нее в составе, или на выявление продуктов NRL, выделяющих меньше латексных аллергенов. Использование неопудренных латексных перчаток помогает свести к минимуму воздействие аллергенов NRL в медицинских учреждениях и других отраслях, где часто используют продукты NRL [59].

Медицинские/хирургические перчатки

В период с 1980 по 2010 г. первичным источником воздействия NRL в медицинских учреждениях была опудренная смотровая/хирургическая перчатка [48, 59, 60]. Количество аллергенного белка, выделяемого из

латексных перчаток, может быть измерено, и некоторые учреждения перешли на синтетические альтернативы из-за более высокого содержания NRL [61–63]. Другие полностью отказались от перчаток, содержащих гевею [49, 54, 56, 58]. Несколько учреждений создали более безопасную среду, используя неопудренные латексные перчатки с низким содержанием аллергенов [64, 65].

Возможно, настало время более широко пересмотреть использование перчаток NRL, которые выделяют белок с низким содержанием латекса или вообще не выделяют его, наряду с синтетическими медицинскими перчатками, что было особенно актуально в связи с повышенным спросом на них во время пандемии COVID-19. Однако не существует общепринятого критерия, такого как использование < 0,15 мкг/г перчатки суммарных аллергенов Hev b 1, 3, 5 и 6.02, который был бы принят производителями или регулирующими органами для определения перчаток как имеющих низкий аллергенный потенциал, хотя этот вопрос пока рассматривают [46]. Кроме того, можно ли показать, что «партия» перчаток NRL, изготовленных на производственной линии, содержит < 0,15 мкг/г перчатки суммарного аллергена Hev b на каждом этапе производственного процесса [66–68].

Медицинские работники с высоким риском аллергии на латекс и сенсibilизированные пациенты

Учреждения, где работают лица с аллергией на латекс, должны соблюдать строгие правила по предотвращению такого воздействия. Эти правила должны, по крайней мере, разрешать использование неопудренных латексных изделий с низким содержанием белка для всех работников и безлатексных изделий для сенсibilизированных людей. Использование коллегами неопудренных латексных перчаток с низким содержанием белка может уменьшить симптомы у работников с аллергией, но не устранить их полностью [69].

Мониторинг продукции NRL и окружающей среды

Оценка количества аллергенов гевеи, которые выделяются из различных продуктов, особенно медицинских перчаток, и мониторинг уровней этих аллергенов в воздухе на рабочих местах имеют решающее значение для подтверждения эффективности новых медицинских перчаток NRL с низким содержанием белка при создании безопасной рабочей среды.

Американское общество по тестированию материалов (ASTM International) одобрило три стандартизированных теста для оценки безопасности продуктов, содержащих NRL, и для мониторинга переносимых по воздуху аллергенов на рабочих местах, где используют эти продукты. Среди указанных тестов наиболее предпочтителен иммуноферментный анализ (IEMA; ASTM D7427-08), поскольку он обеспечивает наиболее точное предсказание содержания аллергенов в продукте. В то же время другие тесты на аллергены гевеи, например, анализ конкурентного ингибирования [70], основанный на IgE человека против латекса, все еще используют в отдельных лабораториях для исследовательских целей, причем для этого нужны большие количества сыворотки человеческого IgE против латекса [71].

Аллергены гевеи — *Hevea brasiliensis* (Hev b) 1, 3, 5 и 6.02 — представляют собой четыре ключевых аллергена, используемые для мониторинга уровней аллергенов в

продуктах и окружающей среде. Количественные оценки этих аллергенов могут быть получены с использованием IEMA на основе моноклональных антител с двумя участками (ASTM D7427-08) в экстрактах продуктов и образцах окружающей среды. Аллергенная активность резинового изделия не может быть эффективно оценена посредством количественного определения только Hev b 1 и *Hevamine*. Анализ ингибирования IgE ELISA показал, что суммарные концентрации Hev b 1, 2, 5 и 6.02 должны быть менее 0,15 мкг/г перчатки, что свидетельствует о низком аллергенном потенциале. В более раннем исследовании было предложено пороговое значение в 0,5 нг/г³ воздуха для содержания латексных аэроаллергенов, что указывает на более безопасную рабочую среду. Однако этот порог не был квалифицирован с использованием ASTM D7427-08 IEMA для содержания аллергенов [71–77].

Наличие белков гевеи, вызывающих реакцию антител, можно определить с помощью иммуноферментного анализа (ИФА) антигена ASTM D6499 [78, 79]. Однако у этого метода есть ограничения, поскольку он не позволяет дифференцировать латексные аллергены, индуцирующие IgE, и антигены, не индуцирующие IgE. Подобно анализу общего белка, анализ антигена гевеи не подходит для определения «безопасности от латекса» продуктов и окружающей среды, что требует оценки точного содержания аллергенов.

Первоначальным анализом для измерения общего содержания белка гевеи в экстрактах продуктов или образцах окружающей среды был модифицированный тест Лоури (ASTM D5712) [78, 80]. Это один из колориметрических методов определения белков в растворе, имеющий, однако, ограниченную полезность для определения уровней аллергенного белка гевеи из-за его низкой аналитической чувствительности. Кроме того, посредством него нельзя различить аллергенные и неаллергенные белки гевеи. В 2016 г. ASTM International опубликовало информацию об иммунологическом методе для определения четырех аллергенных белков гевеи — Hev b 1, 3, 5, 6.02. Однако этот количественный метод можно использовать как показатель содержания аллергенов, но не общего содержания аллергенов, которые могут выделяться из продукта.

Альтернативы NRL

Синтетические эластомеры и каучук, не содержащий гевеи (Yulex), были разработаны для использования в качестве альтернатив при производстве коммерческих «каучукоподобных» продуктов:

- синтетические эластомеры, такие как бутилкаучук, неопрен (полимеры 2-хлорбутадиена) и сополимеры бутадиена и акрилонитрила, обычно используют в качестве альтернативы NRL в медицинских перчатках. Эти материалы не содержат аллергенных белков и поэтому более безопасны для медицинских работников и пациентов с аллергией на латекс. Наиболее распространенные типы нелатексных смотровых перчаток изготавливают из нитрила, неопрена, винила или синтетического полиизопренового каучука [81];
- в прошлом натуральный каучук, полученный из растения гуаюла (*Parthenium argentatum*), использовали и в качестве альтернативы NRL [82, 83]. Это растение имеет чрезвычайно низкое содержание белков, и они, по-видимому, не вступают в перекрестную реакцию с аллергенами NRL ни *in vitro*, ни *in vivo*. Однако с 2021 г. компания, производящая продукцию Guayule, перешла с использования партениума на латекс с низким содержанием

белка гевеи, поставляемый из Центральной Америки, для производства потребительских товаров (гидрокостюмы, а впоследствии — и медицинские перчатки) [84].

Индивидуальный отказ от латекса

Общий подход

Латекс можно найти в более чем 40 000 потребительских товарах, как для домашних, так и для медицинских целей, поэтому люди с аллергией на латекс также должны избегать этих продуктов [84, 85]. В США медицинские устройства с NRL в составе должны иметь маркировку с предупреждением в рамке, указывающую, что они содержат NRL.

Продолжительность ограничения контакта и возможность повторной оценки у лиц с аллергией на латекс

Общеизвестно, что создание «среды с безопасным латексом» в учреждениях может способствовать уменьшению симптомов, вызванных воздействием латекса, а также чувствительности, о которой сообщают сотрудники и пациенты. Тем не менее латекс-специфичные IgE-антитела все еще могут быть обнаружены в коже и крови тех, кто избегает контакта с латексом в течение пяти лет [48, 49, 56, 70, 86–88]. Поэтому рекомендовано продолжать избегать контакта с аллергеном.

Повторную оценку, прежде всего с помощью серологических анализов IgE против NRL, проводят для определения продолжающейся сенсибилизации у лиц, поскольку они подвержены риску повторной сенсибилизации. Следовательно, даже если последующие серологические тесты отрицательны, следует соблюдать меры предосторожности по предотвращению влияния латексных аллергенов.

Повторные оценки обычно проводят перед необходимой медицинской или стоматологической процедурой или во время ежегодного осмотра для оценки риска. IgE-антилатексная серология — единственный оценочный тест, доступный в США благодаря его хорошо задокументированному латексному алергосорбенту, согласованности между анализами и способности давать полуколичественный результат (kUa/L). Методы кожных тестов *in vivo* недоступны в США из-за отсутствия одобренных NRL экстрактов кожных тестов. Тем не менее европейские медицинские учреждения могут проводить как серологическое, так и тестирование кожи при проколе, поскольку у них есть по крайней мере один одобренный и хорошо охарактеризованный экстракт NRL. В России, к сожалению, его пока нет.

Дополнительные вопросы управления

Рабочее место

Для наблюдения за работником, у которого подозревают аллергию на NRL, первый шаг — подтвердить диагноз с помощью надежных диагностических методов [46, 57, 64]. В США это делают с помощью анализа антител IgE с использованием одного из нескольких автоматических иммуноанализаторов, одобренных государством. В Европе также могут использовать прокол-тест на коже на основе экстракта NRL. После подтверждения

чувствительности к латексу необходимо предпринять усилия для предотвращения дальнейшего контакта с NRL на рабочем месте пациента.

Хотя 15 хорошо охарактеризованных аллергенных компонентов NRL были тщательно изучены на предмет диагностического потенциала, тестирование на специфичные антитела IgE против отдельных компонентов аллергена латекса не повышает диагностическую чувствительность для латекс-индуцированной профессиональной астмы по сравнению с обнаружением антител IgE к натуральному экстракту [89]. Однако тестирование на антитела IgE к компонентам латекса может помочь дифференцировать различные пути воздействия латексных аллергенов, такие как вдыхание (Неv b 5/6.02) и контакт со слизистой оболочкой (Неv b 1/3).

В России проводят два теста — кожный аллергический тест и анализ крови. При проведении кожного теста на кожу предплечья или спины наносят небольшое количество раствора аллергенов латекса. Затем кожу прокалывают иглой для проникновения под нее раствора. Если существует аллергия на латекс, на месте нанесения раствора разовьется волдырь. Поэтому тест проводит врач-аллерголог или специально обученный врач. Образец крови направляют в медицинскую лабораторию для оценки сенсибилизации к латексу. Это определение аллерген-специфичного IgE к латексу (натуральному каучуку) методом ИФА. Единицы измерения — МЕ (международные единицы)/мл.

Важно документально подтвердить, что ухудшение состояния здоровья и инвалидность пациента — результат воздействия латекса на рабочем месте.

Школы

Когда у учащегося диагностируют подтвержденную аллергию на NRL, систематический подход к лечению начинается с создания индивидуального плана медицинского обслуживания и общешкольного плана профилактики. Крайне важно обучить школьника навыкам самоконтроля, особенно при риске анафилаксии [90].

Для предотвращения обострения и лечения аллергических реакций у лиц с аллергией на латекс рекомендуют следующие меры [84, 91]:

- ношение медицинского браслета, указывающего на аллергию на латекс;
- назначение в анамнезе пациентам с системными реакциями на латекс адреналина для самостоятельного введения;
- использование нелатексных перчаток;
- сообщение о своей аллергии до начала любой медицинской, стоматологической, гинекологической или хирургической процедуры, а также запрос на создание безопасной среды для людей с аллергией к латексу [92].

Иммунотерапия

Использование ИТ для лечения IgE-опосредованной аллергии на латекс ограничено из-за отсутствия экстрактов, одобренных регулирующими органами, а также частоты и тяжести побочных реакций на ИТ.

Обычная подкожная иммунотерапия (ПКИТ) с использованием неочищенных экстрактов латекса была протестирована в нескольких небольших рандомизированных исследованиях с различной эффективностью [93–95]. В то время как одно исследование показало уменьшение симптомов крапивницы и риноконъюнктивита, другое —

снижение гиперреактивности дыхательных путей на латекс. Однако во всех исследованиях часто возникали нежелательные явления, включая системные реакции. Их высокую частоту наблюдали и на вводной, и на поддерживающей фазах режима в одном испытании [93].

Сублингвальная иммунотерапия (СЛИТ) может иметь более низкую частоту и тяжесть нежелательных явлений, чем подкожная иммунотерапия [96–100], однако результаты различаются, причем при проведении СЛИТ также сообщали и о случаях анафилаксии [101–104].

Изучают новые подходы к ИТ для снижения риска тяжелых побочных реакций при сохранении или повышении эффективности, включая рекомбинантные аллергены, пептиды на основе Т-клеточного эпитопа и адьюванты, которые конъюгированы с аллергеном или вводятся совместно с ним [84, 105]. Эти методы лечения все еще экспериментальные.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, аллергия на латекс — это совокупность патологических состояний, которые объединяет

непереносимость изделий из натурального или (реже) синтетического каучука с развитием местных либо системных реакций, способных значительно повлиять на качество жизни людей. Эта аллергия обусловлена чувствительностью к белкам, содержащимся в NRL, и может проявляться широким спектром симптомов, — от кожных раздражений до анафилаксии.

Важно помнить, что аллергия на латекс может быть предотвращена. Люди, подверженные риску, должны внимательно следить за выбором медицинских и бытовых изделий, избегая контакта с NRL. Многие альтернативы (изделия из синтетического латекса или полиуретана) могут служить безопасной заменой.

Более того, образование и информирование о данной проблеме представляют собой ключевые аспекты в управлении аллергией на латекс. Несмотря на вызовы, создаваемые ей, при соблюдении профилактических мер и правильном управлении ситуацией большинство лиц с этим диагнозом могут продолжать жить полноценной и здоровой жизнью. Дальнейшие исследования и разработки новых технологий также будут способствовать улучшению жизни таких людей.

Литература

- Jacob JL, d'Auzac J, Prevôt JC. The composition of natural latex from *Hevea brasiliensis*. *Clin Rev Allergy*. 1993; 11: 325.
- Alenius H, Kurup V, Kelly K, et al. Latex allergy: frequent occurrence of IgE antibodies to a cluster of 11 latex proteins in patients with spina bifida and histories of anaphylaxis. *J Lab Clin Med*. 1994; 123: 712.
- Breiteneder H, Scheiner O. Molecular and immunological characteristics of latex allergens. *Int Arch Allergy Immunol*. 1998; 116: 83.
- Smith AM, Amin HS, Biagini RE, et al. Percutaneous reactivity to natural rubber latex proteins persists in health-care workers following avoidance of natural rubber latex. *Clin Exp Allergy*. 2007; 37: 1349.
- Palosuo T, Alenius H, Turjanmaa K. Quantitation of latex allergens. *Methods* 2002; 27: 52.
- Nowakowska-Swirta E, Wiszniewska M, Walusiak-Skorupa J. Allergen-specific IgE to recombinant latex allergens in occupational allergy diagnostics. *J Occup Health*. 2019; 61: 378.
- Sicherer SH. Clinical implications of cross-reactive food allergens. *J Allergy Clin Immunol*. 2001; 108: 881.
- Blanco C, Diaz-Perales A, Collada C, et al. Class I chitinases as potential panallergens involved in the latex-fruit syndrome. *J Allergy Clin Immunol*. 1999; 103: 507.
- Wright HT, Brooks DM, Wright CS. Evolution of the multi-domain protein wheat germ agglutinin. *J Mol Evol*. 1985; 21: 28091.
- Chen Z, Posch A, Cremer R, et al. Identification of hevein (Hev b 6.02) in *Hevea latex* as a major cross-reacting allergen with avocado fruit in patients with latex allergy. *J Allergy Clin Immunol*. 1998; 102: 476.
- Archer BL, Barnard D, Cockbain EG, et al. Structure, composition and biochemistry of *Hevea latex*. In: Bateman L, editor. *The chemistry and physics of rubber-like substances*. New York: John Wiley & Sons, 1963; p. 41.
- Vanderplas O, Larbanois A, Vanassche F, et al. Latex-induced occupational asthma: time trend in incidence and relationship with hospital glove policies. *Allergy*. 2009; 64: 415.
- Kelly KJ, Sussman G. Latex Allergy: Where Are We Now and How Did We Get There? *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2017; 5: 1212.
- Hamann CP, Kick SA. Allergies associated with medical gloves. *Manufacturing issues*. *Dermatol Clin*. 1994; 12: 547.
- Truscott W, Roley L. Glove-associated reactions: addressing an increasing concern. *Dermatol Nurs*. 1995; 7: 283.
- Mari A, Scala E, D'Ambrosio C, et al. Latex allergy within a cohort of not-at-risk subjects with respiratory symptoms: prevalence of latex sensitization and assessment of diagnostic tools. *Int Arch Allergy Immunol*. 2007; 143: 135.
- Turjanmaa K. Incidence of immediate allergy to latex gloves in hospital personnel. *Contact Dermatitis*. 1987; 17: 270.
- Kostyal D, Horton K, Beezhold D, et al. Latex as a significant source of *Hevea brasiliensis* allergen exposure. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2009; 103: 354.
- Liu QL, He XZ, Liang K, et al. Prevalence and risk factors for latex glove allergy among female clinical nurses: a multicenter questionnaire study in China. *Int J Occup Environ Health*. 2013; 19: 29.
- Parisi CA, Petriz NA, Busaniche JN, et al. Prevalence of latex allergy in a population of patients diagnosed with myelomeningocele. *Arch Argent Pediatr*. 2016; 114: 30.
- Brown RH, Hamilton RG, Mintz M, et al. Genetic predisposition to latex allergy: role of interleukin 13 and interleukin 18. *Anesthesiology*. 2005; 102: 496.
- Monitto CL, Hamilton RG, Levey E, et al. Genetic predisposition to natural rubber latex allergy differs between health care workers and high-risk patients. *Anesth Analg*. 2010; 110: 1310.
- Charous BL, Tarlo SM, Charous MA, Kelly K. Natural rubber latex allergy in the occupational setting. *Methods*. 2002; 27: 15.
- Heese A, van Hintzenstern J, Peters KP, et al. Allergic and irritant reactions to rubber gloves in medical health services. Spectrum, diagnostic approach, and therapy. *J Am Acad Dermatol*. 1991; 25: 831.
- Sussman G, Gold M. Guidelines for the management of latex allergies and safe latex use in health care facilities. *Am College of Allergy Asthma and Immunology*, 1996; p. 56.
- Williams JD, Lee AY, Matheson MC, et al. Occupational contact urticaria: Australian data. *Br J Dermatol*. 2008; 159: 125.
- Kimata H. Latex allergy in infants younger than 1 year. *Clin Exp Allergy*. 2004; 34: 1910.
- Cogen FC, Beezhold DH. Hair glue anaphylaxis: a hidden latex allergy. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2002; 88: 61.
- Hamilton RG. Diagnosis of natural rubber latex allergy. *Methods*. 2002; 27: 22.
- Hamilton RG, Scheer DI, Gruchalla R, et al. Casein-related anaphylaxis after use of an Everlast kickboxing glove. *J Allergy Clin Immunol*. 2015; 135: 269.

31. Hamilton RG, Adkinson NF Jr. Natural rubber latex skin testing reagents: safety and diagnostic accuracy of nonammoniated latex, ammoniated latex, and latex rubber glove extracts. *J Allergy Clin Immunol.* 1996; 98: 872.
32. Hamilton RG, Biagini RE, Krieg EF. Diagnostic performance of Food and Drug Administration-cleared serologic assays for natural rubber latex-specific IgE antibody. The Multi-Center Latex Skin Testing Study Task Force. *J Allergy Clin Immunol.* 1999; 103: 925.
33. Bernardini R, Pucci N, Azzari C, et al. Sensitivity and specificity of different skin prick tests with latex extracts in pediatric patients with suspected natural rubber latex allergy — a cohort study. *Pediatr Allergy Immunol.* 2008; 19: 315.
34. Hamilton RG, Adkinson NF Jr. Validation of the latex glove provocation procedure in latex-allergic subjects. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 1997; 79: 266.
35. Kelly KJ, Kurup V, Zacharisen M, et al. Skin and serologic testing in the diagnosis of latex allergy. *J Allergy Clin Immunol.* 1993; 91: 1140.
36. Biagini RE, Krieg EF, Pinkerton LE, Hamilton RG. Receiver operating characteristics analyses of Food and Drug Administration-cleared serological assays for natural rubber latex-specific immunoglobulin E antibody. *Clin Diagn Lab Immunol.* 2001; 8: 1145.
37. Hamilton RG, Biagini R, Mackenzie B, et al. FDA cleared immunoassays for latex-specific IGE are missing allergenic epitopes from multiple Hev b allergens. *J Allergy Clin Immunol.* 2002; 109: S259.
38. Seyfarth F, Schliemann S, Wiegand C, et al. Diagnostic value of the ISAC (®) allergy chip in detecting latex sensitizations. *Int Arch Occup Environ Health.* 2014; 87: 775.
39. Ott H, Schröder C, Raulf-Heimsoth M, et al. Microarrays of recombinant Hevea brasiliensis proteins: a novel tool for the component-resolved diagnosis of natural rubber latex allergy. *J Investig Allergol Clin Immunol.* 2010; 20: 129.
40. Schuler S, Ferrari G, Schmid-Grendelmeier P, Harr T. Microarray-based component-resolved diagnosis of latex allergy: isolated IgE-mediated sensitization to latexprofilin Hev b8 may act as confounder. *Clin Transl Allergy.* 2013; 3: 11.
41. Kurtz KM, Hamilton RG, Adkinson NF Jr. Role and application of provocation in the diagnosis of occupational latex allergy. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 1999; 83: 634.
42. Laoprasert N, Swanson MC, Jones RT, et al. Inhalation challenge testing of latex-sensitive health care workers and the effectiveness of laminar flow HEPA-filtered helmets in reducing rhinoconjunctival and asthmatic reactions. *J Allergy Clin Immunol.* 1998; 102: 998.
43. Kurtz KM, Hamilton RG, Schaefer JA, et al. Repeated latex aeroallergen challenges employing a hooded exposure chamber: safety and reproducibility. *Allergy.* 2001; 56: 857.
44. Bernardini R, Pucci N, Rossi ME, et al. Allergen specific nasal challenge to latex in children with latex allergy: clinical and immunological evaluation. *Int J Immunopathol Pharmacol.* 2008; 21: 333.
45. Unsel M, Mete N, Ardeniz O, et al. The importance of nasal provocation test in the diagnosis of natural rubber latex allergy. *Allergy.* 2009; 64: 862.
46. Bernstein DI. Management of natural rubber latex allergy. *J Allergy Clin Immunol.* 2002; 110: S111.
47. Sutherland MF, Suphioglu C, Rolland JM, O'Hehir RE. Latex allergy: towards immunotherapy for health care workers. *Clin Exp Allergy.* 2002; 32: 667.
48. Kelly KJ, Wang ML, Klancnik M, Petsonk EL. Prevention of IgE Sensitization to Latex in Health Care Workers After Reduction of Antigen Exposures. *J Occup Environ Med.* 2011; 53: 934.
49. Blumchen K, Bayer P, Buck D, et al. Effects of latex avoidance on latex sensitization, atopy and allergic diseases in patients with spina bifida. *Allergy.* 2010; 65: 1585.
50. Rolland JM, O'Hehir RE. Latex allergy: a model for therapy. *Clin Exp Allergy.* 2008; 38: 898.
51. Nucera E, Schiavino D, Sabato V, et al. Sublingual immunotherapy for latex allergy: tolerability and safety profile of rush build-up phase. *Curr Med Res Opin.* 2008; 24: 1147.
52. Chang TW, Wu PC, Hsu CL, Hung AF. Anti-IgE antibodies for the treatment of IgE-mediated allergic diseases. *Adv Immunol.* 2007; 93: 63.
53. Leynadier F, Doudou O, Gaouar H, et al. Effect of omalizumab in health care workers with occupational latex allergy. *J Allergy Clin Immunol.* 2004; 113: 360.
54. Cusick C. A latex-safe environment is in everyone's best interest. *Mater Manag Health Care.* 2007; 16: 24.
55. SGNA Practice Committee. Guideline for preventing sensitivity and allergic reactions to natural rubber latex in the workplace. *Gastroenterol Nurs.* 2008; 31: 239.
56. Kelly KJ, Sussman G. Latex Allergy: Where Are We Now and How Did We Get There? *J Allergy Clin Immunol Pract* 2017; 5: 1212.
57. Bernstein DI, Karnani R, Biagini RE, et al. Clinical and occupational outcomes in health care workers with natural rubber latex allergy. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2003; 90: 209.
58. Cremer R, Kleine-Diepenbruck U, Hering F, Holschneider AM. Reduction of latex sensitisation in spina bifida patients by a primary prophylaxis programme (five years experience). *Eur J Pediatr Surg.* 2002; 12 (1): S19.
59. Yunginger JW, Jones RT, Fransway AF, et al. Extractable latex allergens and proteins in disposable medical gloves and other rubber products. *J Allergy Clin Immunol.* 1994; 93: 836.
60. Kujala V, Alenius H, Palosuo T, et al. Extractable latex allergens in airborne glove powder and in cut glove pieces. *Clin Exp Allergy.* 2002; 32: 1077.
61. Truscott W. Glove powder reduction and alternative approaches. *Methods.* 2002; 27: 69.
62. Koh D, Ng V, Leow YH, Goh CL. A study of natural rubber latex allergens in gloves used by healthcare workers in Singapore. *Br J Dermatol.* 2005; 153: 954.
63. Palosuo T, Antoniadou I, Gottrup F, Phillips P. Latex medical gloves: time for a reappraisal. *Int Arch Allergy Immunol.* 2011; 156: 234.
64. Brown RH, Hamilton RG, McAllister MA, Johns Hopkins. Latex Task Force. How health care organizations can establish and conduct a program for a latex-safe environment. *Jt Comm J Qual Saf.* 2003; 29: 113.
65. Stinkens R, Verbeke N, Van de Velde M, et al. Safety of a powder-free latex allergy protocol in the operating theatre: A prospective, observational cohort study. *Eur J Anaesthesiol.* 2019; 36: 312.
66. Palosuo T, Reinikka-Railo H, Kautiainen H, et al. Latex allergy: the sum quantity of four major allergens shows the allergenic potential of medical gloves. *Allergy.* 2007; 62: 781.
67. Primeau MN, Adkinson NF Jr, Hamilton RG. Natural rubber pharmaceutical vial closures release latex allergens that produce skin reactions. *J Allergy Clin Immunol.* 2001; 107: 958.
68. Hamilton RG, Brown RH, Veltri MA, et al. Administering pharmaceuticals to latex-allergic patients from vials containing natural rubber latex closures. *Am J Health Syst Pharm.* 2005; 62: 1822.
69. Nienhaus A, Kromark K, Raulf-Heimsoth M, et al. Outcome of occupational latex allergy — work ability and quality of life. *PLoS One.* 2008; 3: e3459.
70. Smith AM, Amin HS, Biagini RE, et al. Percutaneous reactivity to natural rubber latex proteins persists in health-care workers following avoidance of natural rubber latex. *Clin Exp Allergy.* 2007; 37: 1349.
71. Palosuo T, Alenius H, Turjanmaa K. Quantitation of latex allergens. *Methods.* 2002; 27: 52.
72. Vandenplas O, Raulf M. Occupational Latex Allergy: the Current State of Affairs. *Curr Allergy Asthma Rep.* 2017; 17: 14.
73. Yeang HY, Arif SA, Yusof F, Sunderasan E. Allergenic proteins of natural rubber latex. *Methods.* 2002; 27: 32.
74. Sussman GL, Beezhold DH, Kurup VP. Allergens and natural rubber proteins. *J Allergy Clin Immunol.* 2002; 110: S33.
75. ASTM D7427-08. Standard test method for immunological measurement of four principal allergenic proteins (Hev b 1, 3, 5, 6.02) in natural rubber and its products derived from latex. American Society for Testing Materials, International, West Conshohocken, P A, 19428.
76. Lee MF, Wang NM, Han JL, et al. Estimating allergenicity of latex gloves using Hev b 1 and heveamine. *J Investig Allergol Clin Immunol.* 2010; 20: 499.

77. Baur X. I are we closer to developing threshold limit values for allergens in the workplace? *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2003; 90: 11.
78. Beezhold DH, Kostyal DA, Tomazic-Jezic VJ. Measurement of latex proteins and assessment of latex protein exposure. *Methods.* 2002; 27: 46.
79. ASTM D6499. Standard test method for the immunological measurement of antigenic protein in natural rubber and its products. American Society for Testing Materials, International, West Conshohocken, PA, 19428.
80. ASTM D5712-05E1. Standard test method for analysis of aqueous extractable protein in natural rubber and its products using the modified Lowry method. American Society for Testing Materials, International, West Conshohocken, PA, 19428.
81. Renaud MY. Composition of synthetic latexes used for manufacturing gloves by dipping processes. *Clin Rev Allergy.* 1993; 11: 363.
82. Siler DJ, Cornish K, Hamilton RG. Absence of cross-reactivity of IgE antibodies from subjects allergic to *Hevea brasiliensis* latex with a new source of natural rubber latex from guayule (*Parthenium argentatum*). *J Allergy Clin Immunol.* 1996; 98: 895.
83. Carey AB, Cornish K, Schrank P, et al. Cross-reactivity of alternate plant sources of latex in subjects with systemic IgE-mediated sensitivity to *Hevea brasiliensis* latex. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 1995; 74: 317.
84. Sussman G, Gold M. Guidelines for the management of latex allergies and safe latex use in health care facilities. *Am College of Allergy Asthma and Immunology.* Available from: www.acaai.org/public/physicians/latex.htm.
85. Kostyal D, Horton K, Beezhold D, et al. Latex as a significant source of *Hevea brasiliensis* allergen exposure. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2009; 103: 354.
86. Hamilton RG, Brown RH. Impact of personal avoidance practices on health care workers sensitized to natural rubber latex. *J Allergy Clin Immunol.* 2000; 105: 839.
87. Bernstein DI, Biagini RE, Karnani R, et al. In vivo sensitization to purified *Hevea brasiliensis* proteins in health care workers sensitized to natural rubber latex. *J Allergy Clin Immunol.* 2003; 111: 610.
88. Madan I, Cullinan P, Ahmed SM. Occupational management of type I latex allergy. *Occup Med (Lond).* 2013; 63: 395.
89. Raulf M, Quirce S, Vandenplas O. Addressing Molecular Diagnosis of Occupational Allergies. *Curr Allergy Asthma Rep.* 2018; 18: 6.
90. Beierwaltes P, Schoessler S. Latex Safe at School: A Student-Centered Approach. *NASN Sch Nurse.* 2017; 32: 343.
91. Gentili A, Lima M, Ricci G, et al. Secondary prevention of latex allergy in children: analysis of results. *Pediatr Med Chir.* 2006; 28: 83.
92. American Latex Allergy Association. Available from: www.latexallergyresources.org.
93. Leynadier F, Herman D, Vervloet D, Andre C. Specific immunotherapy with a standardized latex extract versus placebo in allergic healthcare workers. *J Allergy Clin Immunol.* 2000; 106: 585.
94. Turjanmaa K, Palosuo T, Alenius H, et al. Latex allergy diagnosis: in vivo and in vitro standardization of a natural rubber latex extract. *Allergy.* 1997; 52: 41.
95. Sastre J, Fernández-Nieto M, Rico P, et al. Specific immunotherapy with a standardized latex extract in allergic workers: a double-blind, placebo-controlled study. *J Allergy Clin Immunol.* 2003; 111: 985.
96. Patriarca G, Nucera E, Pollastrini E, et al. Sublingual desensitization: a new approach to latex allergy problem. *Anesth Analg.* 2002; 95: 956.
97. Nettis E, Colanardi MC, Soccio AL, et al. Double-blind, placebo-controlled study of sublingual immunotherapy in patients with latex-induced urticaria: a 12-month study. *Br J Dermatol.* 2007; 156: 674.
98. Bernardini R, Campodonico P, Burastero S, et al. Sublingual immunotherapy with a latex extract in paediatric patients: a double-blind, placebo-controlled study. *Curr Med Res Opin.* 2006; 22: 1515.
99. Nucera E, Schiavino D, Pollastrini E, et al. Sublingual desensitization in children with congenital malformations and latex allergy. *Pediatr Allergy Immunol.* 2006; 17: 606.
100. Lasa Luaces EM, Tabar Purroy AI, García Figueroa BE, et al. Component-resolved immunologic modifications, efficacy, and tolerance of latex sublingual immunotherapy in children. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2012; 108: 367.
101. Cisteró BA, Sastre J, Enrique E, et al. Tolerance and effects on skin reactivity to latex of sublingual rush immunotherapy with a latex extract. *J Investig Allergol Clin Immunol.* 2004; 14: 17.
102. Antico A, Pagani M, Crema A. Anaphylaxis by latex sublingual immunotherapy. *Allergy.* 2006; 61: 1236.
103. Buyukozturk S, Gelincik A, Ozgeker F, et al. Latex sublingual immunotherapy: can its safety be predicted? *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2010; 104: 339.
104. Nettis E, Delle DP, Di LE, et al. Latex immunotherapy: state of the art. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2012; 109: 160.
105. Rolland JM, Drew AC, O'Hehir RE. Advances in development of hypoallergenic latex immunotherapy. *Curr Opin Allergy Clin Immunol.* 2005; 5: 544.


References

1. Jacob JL, d'Auzac J, Prevôt JC. The composition of natural latex from *Hevea brasiliensis*. *Clin Rev Allergy.* 1993; 11: 325.
2. Alenius H, Kurup V, Kelly K, et al. Latex allergy: frequent occurrence of IgE antibodies to a cluster of 11 latex proteins in patients with spina bifida and histories of anaphylaxis. *J Lab Clin Med.* 1994; 123: 712.
3. Breiteneder H, Scheiner O. Molecular and immunological characteristics of latex allergens. *Int Arch Allergy Immunol.* 1998; 116: 83.
4. Smith AM, Amin HS, Biagini RE, et al. Percutaneous reactivity to natural rubber latex proteins persists in health-care workers following avoidance of natural rubber latex. *Clin Exp Allergy.* 2007; 37: 1349.
5. Palosuo T, Alenius H, Turjanmaa K. Quantitation of latex allergens. *Methods* 2002; 27: 52.
6. Nowakowska-Swirta E, Wiszniewska M, Walusiak-Skorupa J. Allergen-specific IgE to recombinant latex allergens in occupational allergy diagnostics. *J Occup Health.* 2019; 61: 378.
7. Sicherer SH. Clinical implications of cross-reactive food allergens. *J Allergy Clin Immunol.* 2001; 108: 881.
8. Blanco C, Diaz-Perales A, Collada C, et al. Class I chitinases as potential panallergens involved in the latex-fruit syndrome. *J Allergy Clin Immunol.* 1999; 103: 507.
9. Wright HT, Brooks DM, Wright CS. Evolution of the multi-domain protein wheat germ agglutinin. *J Mol Evol.* 1985; 21: 28091.
10. Chen Z, Posch A, Cremer R, et al. Identification of hevein (Hev b 6.02) in *Hevea* latex as a major cross-reacting allergen with avocado fruit in patients with latex allergy. *J Allergy Clin Immunol.* 1998; 102: 476.
11. Archer BL, Barnard D, Cockbain EG, et al. Structure, composition and biochemistry of *Hevea* latex. In: Bateman L, editor. *The chemistry and physics of rubber-like substances.* New York: John Wiley & Sons, 1963; p. 41.
12. Vandenplas O, Larbanois A, Vanassche F, et al. Latex-induced occupational asthma: time trend in incidence and relationship with hospital glove policies. *Allergy.* 2009; 64: 415.
13. Kelly KJ, Sussman G. Latex Allergy: Where Are We Now and How Did We Get There? *J Allergy Clin Immunol Pract.* 2017; 5: 1212.
14. Hamann CP, Kick SA. Allergies associated with medical gloves. *Manufacturing issues.* *Dermatol Clin.* 1994; 12: 547.
15. Truscott W, Roley L. Glove-associated reactions: addressing an increasing concern. *Dermatol Nurs.* 1995; 7: 283.
16. Mari A, Scala E, D'Ambrosio C, et al. Latex allergy within a cohort of not-at-risk subjects with respiratory symptoms: prevalence of latex sensitization and assessment of diagnostic tools. *Int Arch Allergy Immunol.* 2007; 143: 135.

17. Turjanmaa K. Incidence of immediate allergy to latex gloves in hospital personnel. *Contact Dermatitis*. 1987; 17: 270.
18. Kostyal D, Horton K, Beezhold D, et al. Latex as a significant source of *Hevea brasiliensis* allergen exposure. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2009; 103: 354.
19. Liu QL, He XZ, Liang K, et al. Prevalence and risk factors for latex glove allergy among female clinical nurses: a multicenter questionnaire study in China. *Int J Occup Environ Health*. 2013; 19: 29.
20. Parisi CA, Petriz NA, Busaniche JN, et al. Prevalence of latex allergy in a population of patients diagnosed with myelomeningocele. *Arch Argent Pediatr*. 2016; 114: 30.
21. Brown RH, Hamilton RG, Mintz M, et al. Genetic predisposition to latex allergy: role of interleukin 13 and interleukin 18. *Anesthesiology*. 2005; 102: 496.
22. Monitto CL, Hamilton RG, Levey E, et al. Genetic predisposition to natural rubber latex allergy differs between health care workers and high-risk patients. *Anesth Analg*. 2010; 110: 1310.
23. Charous BL, Tarlo SM, Charous MA, Kelly K. Natural rubber latex allergy in the occupational setting. *Methods*. 2002; 27: 15.
24. Heese A, van Hintzenstern J, Peters KP, et al. Allergic and irritant reactions to rubber gloves in medical health services. Spectrum, diagnostic approach, and therapy. *J Am Acad Dermatol*. 1991; 25: 831.
25. Sussman G, Gold M. Guidelines for the management of latex allergies and safe latex use in health care facilities. *Am College of Allergy Asthma and Immunology*, 1996; p. 56.
26. Williams JD, Lee AY, Matheson MC, et al. Occupational contact urticaria: Australian data. *Br J Dermatol*. 2008; 159: 125.
27. Kimata H. Latex allergy in infants younger than 1 year. *Clin Exp Allergy*. 2004; 34: 1910.
28. Cogen FC, Beezhold DH. Hair glue anaphylaxis: a hidden latex allergy. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2002; 88: 61.
29. Hamilton RG. Diagnosis of natural rubber latex allergy. *Methods*. 2002; 27: 22.
30. Hamilton RG, Scheer DI, Gruchalla R, et al. Casein-related anaphylaxis after use of an Everlast kickboxing glove. *J Allergy Clin Immunol*. 2015; 135: 269.
31. Hamilton RG, Adkinson NF Jr. Natural rubber latex skin testing reagents: safety and diagnostic accuracy of nonammoniated latex, ammoniated latex, and latex rubber glove extracts. *J Allergy Clin Immunol*. 1996; 98: 872.
32. Hamilton RG, Biagini RE, Krieg EF. Diagnostic performance of Food and Drug Administration-cleared serologic assays for natural rubber latex-specific IgE antibody. The Multi-Center Latex Skin Testing Study Task Force. *J Allergy Clin Immunol*. 1999; 103: 925.
33. Bernardini R, Pucci N, Azzari C, et al. Sensitivity and specificity of different skin prick tests with latex extracts in pediatric patients with suspected natural rubber latex allergy — a cohort study. *Pediatr Allergy Immunol*. 2008; 19: 315.
34. Hamilton RG, Adkinson NF Jr. Validation of the latex glove provocation procedure in latex-allergic subjects. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 1997; 79: 266.
35. Kelly KJ, Kurup V, Zacharisen M, et al. Skin and serologic testing in the diagnosis of latex allergy. *J Allergy Clin Immunol*. 1993; 91: 1140.
36. Biagini RE, Krieg EF, Pinkerton LE, Hamilton RG. Receiver operating characteristics analyses of Food and Drug Administration-cleared serological assays for natural rubber latex-specific immunoglobulin E antibody. *Clin Diagn Lab Immunol*. 2001; 8: 1145.
37. Hamilton RG, Biagini R, Mackenzie B, et al. FDA cleared immunoassays for latex-specific IGE are missing allergenic epitopes from multiple *Hev b* allergens. *J Allergy Clin Immunol*. 2002; 109: S259.
38. Seyfarth F, Schliemann S, Wiegand C, et al. Diagnostic value of the ISAC (®) allergy chip in detecting latex sensitizations. *Int Arch Occup Environ Health*. 2014; 87: 775.
39. Ott H, Schröder C, Rauf-Heimsoth M, et al. Microarrays of recombinant *Hevea brasiliensis* proteins: a novel tool for the component-resolved diagnosis of natural rubber latex allergy. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2010; 20: 129.
40. Schuler S, Ferrari G, Schmid-Grendelmeier P, Harr T. Microarray-based component-resolved diagnosis of latex allergy: isolated IgE-mediated sensitization to latexprofilin *Hev b8* may act as confounder. *Clin Transl Allergy*. 2013; 3: 11.
41. Kurtz KM, Hamilton RG, Adkinson NF Jr. Role and application of provocation in the diagnosis of occupational latex allergy. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 1999; 83: 634.
42. Laoprasert N, Swanson MC, Jones RT, et al. Inhalation challenge testing of latex-sensitive health care workers and the effectiveness of laminar flow HEPA-filtered helmets in reducing rhinoconjunctival and asthmatic reactions. *J Allergy Clin Immunol*. 1998; 102: 998.
43. Kurtz KM, Hamilton RG, Schaefer JA, et al. Repeated latex aeroallergen challenges employing a hooded exposure chamber: safety and reproducibility. *Allergy*. 2001; 56: 857.
44. Bernardini R, Pucci N, Rossi ME, et al. Allergen specific nasal challenge to latex in children with latex allergy: clinical and immunological evaluation. *Int J Immunopathol Pharmacol*. 2008; 21: 333.
45. Unsel M, Mete N, Ardeniz O, et al. The importance of nasal provocation test in the diagnosis of natural rubber latex allergy. *Allergy*. 2009; 64: 862.
46. Bernstein DI. Management of natural rubber latex allergy. *J Allergy Clin Immunol*. 2002; 110: S111.
47. Sutherland MF, Suphioglu C, Rolland JM, O'Hehir RE. Latex allergy: towards immunotherapy for health care workers. *Clin Exp Allergy*. 2002; 32: 667.
48. Kelly KJ, Wang ML, Klancnik M, Petsonk EL. Prevention of IgE Sensitization to Latex in Health Care Workers After Reduction of Antigen Exposures. *J Occup Environ Med*. 2011; 53: 934.
49. Blumchen K, Bayer P, Buck D, et al. Effects of latex avoidance on latex sensitization, atopy and allergic diseases in patients with spina bifida. *Allergy*. 2010; 65: 1585.
50. Rolland JM, O'Hehir RE. Latex allergy: a model for therapy. *Clin Exp Allergy*. 2008; 38: 898.
51. Nucera E, Schiavino D, Sabato V, et al. Sublingual immunotherapy for latex allergy: tolerability and safety profile of rush build-up phase. *Curr Med Res Opin*. 2008; 24: 1147.
52. Chang TW, Wu PC, Hsu CL, Hung AF. Anti-IgE antibodies for the treatment of IgE-mediated allergic diseases. *Adv Immunol*. 2007; 93: 63.
53. Leynadier F, Doudou O, Gaouar H, et al. Effect of omalizumab in health care workers with occupational latex allergy. *J Allergy Clin Immunol*. 2004; 113: 360.
54. Cusick C. A latex-safe environment is in everyone's best interest. *Mater Manag Health Care*. 2007; 16: 24.
55. SGNA Practice Committee. Guideline for preventing sensitivity and allergic reactions to natural rubber latex in the workplace. *Gastroenterol Nurs*. 2008; 31: 239.
56. Kelly KJ, Sussman G. Latex Allergy: Where Are We Now and How Did We Get There? *J Allergy Clin Immunol Pract* 2017; 5: 1212.
57. Bernstein DI, Karnani R, Biagini RE, et al. Clinical and occupational outcomes in health care workers with natural rubber latex allergy. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2003; 90: 209.
58. Cremer R, Kleine-Diepenbruck U, Hering F, Holschneider AM. Reduction of latex sensitisation in spina bifida patients by a primary prophylaxis programme (five years experience). *Eur J Pediatr Surg*. 2002; 12 (1): S19.
59. Yunginger JW, Jones RT, Fransway AF, et al. Extractable latex allergens and proteins in disposable medical gloves and other rubber products. *J Allergy Clin Immunol*. 1994; 93: 836.
60. Kujala V, Alenius H, Palosuo T, et al. Extractable latex allergens in airborne glove powder and in cut glove pieces. *Clin Exp Allergy*. 2002; 32: 1077.
61. Truscott W. Glove powder reduction and alternative approaches. *Methods*. 2002; 27: 69.
62. Koh D, Ng V, Leow YH, Goh CL. A study of natural rubber latex allergens in gloves used by healthcare workers in Singapore. *Br J Dermatol*. 2005; 153: 954.
63. Palosuo T, Antoniadou I, Gottrup F, Phillips P. Latex medical gloves: time for a reappraisal. *Int Arch Allergy Immunol*. 2011; 156: 234.
64. Brown RH, Hamilton RG, McAllister MA, Johns Hopkins. Latex Task Force. How health care organizations can establish and

- conduct a program for a latex-safe environment. *Jt Comm J Qual Saf.* 2003; 29: 113.
65. Stinkens R, Verbeke N, Van de Velde M, et al. Safety of a powder-free latex allergy protocol in the operating theatre: A prospective, observational cohort study. *Eur J Anaesthesiol.* 2019; 36: 312.
 66. Palosuo T, Reinikka-Railo H, Kautiainen H, et al. Latex allergy: the sum quantity of four major allergens shows the allergenic potential of medical gloves. *Allergy.* 2007; 62: 781.
 67. Primeau MN, Adkinson NF Jr, Hamilton RG. Natural rubber pharmaceutical vial closures release latex allergens that produce skin reactions. *J Allergy Clin Immunol.* 2001; 107: 958.
 68. Hamilton RG, Brown RH, Veltri MA, et al. Administering pharmaceuticals to latex-allergic patients from vials containing natural rubber latex closures. *Am J Health Syst Pharm.* 2005; 62: 1822.
 69. Nienhaus A, Kromark K, Raulf-Heimsoth M, et al. Outcome of occupational latex allergy — work ability and quality of life. *PLoS One.* 2008; 3: e3459.
 70. Smith AM, Amin HS, Biagini RE, et al. Percutaneous reactivity to natural rubber latex proteins persists in health-care workers following avoidance of natural rubber latex. *Clin Exp Allergy.* 2007; 37: 1349.
 71. Palosuo T, Alenius H, Turjanmaa K. Quantitation of latex allergens. *Methods.* 2002; 27: 52.
 72. Vandenplas O, Raulf M. Occupational Latex Allergy: the Current State of Affairs. *Curr Allergy Asthma Rep.* 2017; 17: 14.
 73. Yeang HY, Arif SA, Yusof F, Sunderasan E. Allergenic proteins of natural rubber latex. *Methods.* 2002; 27: 32.
 74. Sussman GL, Beezhold DH, Kurup VP. Allergens and natural rubber proteins. *J Allergy Clin Immunol.* 2002; 110: S33.
 75. ASTM D7427-08. Standard test method for immunological measurement of four principal allergenic proteins (Hev b 1, 3, 5, 6.02) in natural rubber and its products derived from latex. American Society for Testing Materials, International, West Conshohocken, PA, 19428.
 76. Lee MF, Wang NM, Han JL, et al. Estimating allergenicity of latex gloves using Hev b 1 and heveamine. *J Investig Allergol Clin Immunol.* 2010; 20: 499.
 77. Baur X. I are we closer to developing threshold limit values for allergens in the workplace? *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2003; 90: 11.
 78. Beezhold DH, Kostyal DA, Tomazic-Jezic VJ. Measurement of latex proteins and assessment of latex protein exposure. *Methods.* 2002; 27: 46.
 79. ASTM D6499. Standard test method for the immunological measurement of antigenic protein in natural rubber and its products. American Society for Testing Materials, International, West Conshohocken, PA, 19428.
 80. ASTM D5712-05E1. Standard test method for analysis of aqueous extractable protein in natural rubber and its products using the modified Lowry method. American Society for Testing Materials, International, West Conshohocken, PA, 19428.
 81. Renaud MY. Composition of synthetic latexes used for manufacturing gloves by dipping processes. *Clin Rev Allergy.* 1993; 11: 363.
 82. Siler DJ, Cornish K, Hamilton RG. Absence of cross-reactivity of IgE antibodies from subjects allergic to *Hevea brasiliensis* latex with a new source of natural rubber latex from guayule (*Parthenium argentatum*). *J Allergy Clin Immunol.* 1996; 98: 895.
 83. Carey AB, Cornish K, Schrank P, et al. Cross-reactivity of alternate plant sources of latex in subjects with systemic IgE-mediated sensitivity to *Hevea brasiliensis* latex. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 1995; 74: 317.
 84. Sussman G, Gold M. Guidelines for the management of latex allergies and safe latex use in health care facilities. Am College of Allergy Asthma and Immunology. Available from: www.acaai.org/public/physicians/latex.htm.
 85. Kostyal D, Horton K, Beezhold D, et al. Latex as a significant source of *Hevea brasiliensis* allergen exposure. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2009; 103: 354.
 86. Hamilton RG, Brown RH. Impact of personal avoidance practices on health care workers sensitized to natural rubber latex. *J Allergy Clin Immunol.* 2000; 105: 839.
 87. Bernstein DI, Biagini RE, Karnani R, et al. In vivo sensitization to purified *Hevea brasiliensis* proteins in health care workers sensitized to natural rubber latex. *J Allergy Clin Immunol.* 2003; 111: 610.
 88. Madan I, Cullinan P, Ahmed SM. Occupational management of type I latex allergy. *Occup Med (Lond).* 2013; 63: 395.
 89. Raulf M, Quirce S, Vandenplas O. Addressing Molecular Diagnosis of Occupational Allergies. *Curr Allergy Asthma Rep.* 2018; 18: 6.
 90. Beierwaltes P, Schoessler S. Latex Safe at School: A Student-Centered Approach. *NASN Sch Nurse.* 2017; 32: 343.
 91. Gentili A, Lima M, Ricci G, et al. Secondary prevention of latex allergy in children: analysis of results. *Pediatr Med Chir.* 2006; 28: 83.
 92. American Latex Allergy Association. Available from: www.latexallergyresources.org.
 93. Leynadier F, Herman D, Vervloet D, Andre C. Specific immunotherapy with a standardized latex extract versus placebo in allergic healthcare workers. *J Allergy Clin Immunol.* 2000; 106: 585.
 94. Turjanmaa K, Palosuo T, Alenius H, et al. Latex allergy diagnosis: in vivo and in vitro standardization of a natural rubber latex extract. *Allergy.* 1997; 52: 41.
 95. Sastre J, Fernández-Nieto M, Rico P, et al. Specific immunotherapy with a standardized latex extract in allergic workers: a double-blind, placebo-controlled study. *J Allergy Clin Immunol.* 2003; 111: 985.
 96. Patriarca G, Nucera E, Pollastrini E, et al. Sublingual desensitization: a new approach to latex allergy problem. *Anesth Analg.* 2002; 95: 956.
 97. Nettis E, Colanardi MC, Soccio AL, et al. Double-blind, placebo-controlled study of sublingual immunotherapy in patients with latex-induced urticaria: a 12-month study. *Br J Dermatol.* 2007; 156: 674.
 98. Bernardini R, Campodonico P, Burastero S, et al. Sublingual immunotherapy with a latex extract in paediatric patients: a double-blind, placebo-controlled study. *Curr Med Res Opin.* 2006; 22: 1515.
 99. Nucera E, Schiavino D, Pollastrini E, et al. Sublingual desensitization in children with congenital malformations and latex allergy. *Pediatr Allergy Immunol.* 2006; 17: 606.
 100. Lasa Luaces EM, Tabar Purroy AI, García Figueroa BE, et al. Component-resolved immunologic modifications, efficacy, and tolerance of latex sublingual immunotherapy in children. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2012; 108: 367.
 101. Cisteró BA, Sastre J, Enrique E, et al. Tolerance and effects on skin reactivity to latex of sublingual rush immunotherapy with a latex extract. *J Investig Allergol Clin Immunol.* 2004; 14: 17.
 102. Antico A, Pagani M, Crema A. Anaphylaxis by latex sublingual immunotherapy. *Allergy.* 2006; 61: 1236.
 103. Buyukozturk S, Geliincik A, Ozseker F, et al. Latex sublingual immunotherapy: can its safety be predicted? *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2010; 104: 339.
 104. Nettis E, Delle DP, Di LE, et al. Latex immunotherapy: state of the art. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2012; 109: 160.
 105. Rolland JM, Drew AC, O'Hehir RE. Advances in development of hypoallergenic latex immunotherapy. *Curr Opin Allergy Clin Immunol.* 2005; 5: 544.

КОМБИНАЦИЯ БАКТЕРИОФАГОВ И АНТИБИОТИКОВ КАК НАИБОЛЕЕ ЭФФЕКТИВНЫЙ ПОДХОД БОРЬБЫ СО *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

Н. К. Абдраймова , Е. А. Шитиков, Р. Б. Городничев, М. А. Корниенко

Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины имени Ю. М. Лопухина Федерального медико-биологического агентства, Москва, Россия

Staphylococcus aureus — бактериальный патоген, обладающий способностью к развитию антибиотикорезистентности и вызывающий ряд серьезных инфекций. Проблема терапии стафилококковых инфекций связана не только с устойчивостью штаммов к антибактериальным препаратам, но и со способностью бактерий формировать биопленки. Как альтернатива классической антибиотикотерапии рассматривается фаготерапия — использование вирулентных бактериофагов. Исследования, демонстрирующие действие бактериофагов против *S. aureus*, включают как отдельное использование фагов, так и их комбинацию с антибиотиками. Комбинированный подход представляется наиболее перспективным, так как позволяет значительно повысить эффективность терапии за счет синергического действия антибиотика и фага. В данном обзоре представлено обсуждение эффектов совместного применения двух агентов и методов их оценки. Обобщены результаты последних работ, посвященных комбинированному подходу против *S. aureus* в исследованиях *in vitro* и *in vivo*, а также в экспериментах по элиминации биопленки. Отдельное внимание уделено клиническим случаям лечения пациентов.

Ключевые слова: бактериофаги, *Staphylococcus aureus*, фаговая терапия, бактериофаговая терапия, комбинированная терапия, антибиотики, множественная лекарственная устойчивость, биопленки, синергизм антибиотиков и бактериофагов

Финансирование: исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-15-00443, <https://rscf.ru/project/22-15-00443/>.

Вклад авторов: Н. К. Абдраймова — анализ литературы, подготовка и редактирование текста, утверждение окончательного варианта статьи; Е. А. Шитиков — анализ литературы, подготовка и редактирование текста, утверждение окончательного варианта статьи; Р. Б. Городничев — редактирование текста, утверждение окончательного варианта статьи; М. А. Корниенко — разработка концепции, анализ литературы, подготовка и редактирование текста, утверждение окончательного варианта статьи.

✉ **Для корреспонденции:** Нарина Казбековна Абдраймова
ул. Малая Пироговская, д. 1а, г. Москва, 119435, Россия; abdraimovanarina@gmail.com

Статья получена: 20.10.2023 **Статья принята к печати:** 05.12.2023 **Опубликована онлайн:** 31.12.2023

DOI: 10.47183/mes.2023.058

COMBINATION OF BACTERIOPHAGES AND ANTIBIOTICS AS THE MOST EFFECTIVE THERAPY AGAINST *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

Abdraimova NK , Shitikov EA, Gorodnichev RB, Kornienko MA

Lopukhin Federal Research and Clinical Center of Physical-Chemical Medicine of Federal Medical Biological Agency, Moscow, Russia

Staphylococcus aureus is a bacterial pathogen that is frequently associated with drug resistance and causes serious infectious diseases. The challenge in treating staphylococcal infections arises not only from the strains resistance to antibacterial drugs but also from the bacteria's capacity to form biofilms. As an alternative to traditional antibiotic therapy, phage therapy, employing virulent bacteriophages, is being explored. Research on bacteriophage's effectiveness against *S. aureus* encompasses both individual use and their combination with antibiotics. The combined approach appears most promising, enhancing therapeutic efficacy substantially through the synergistic action of both the antibiotic and the phage. This review discusses the effects of using both agents together and the methodologies for their evaluation. It summarizes the latest *in vitro* and *in vivo* research on the combined approach against *S. aureus*, including experiments focused on biofilm elimination. Special emphasis is placed on clinical case studies in treating patients.

Keywords: Bacteriophages, *Staphylococcus aureus*, phage therapy, bacteriophage therapy, combination therapy, antibiotics, multidrug resistance, biofilms, synergy between antibiotics and bacteriophages

Funding: the work was supported by the Russian Science Foundation grant No. 22-15-00443, <https://rscf.ru/project/22-15-00443/>

Author contribution: Abdraimova NK — analysis of literature, article authoring and editing, approval of its final version; Shitikov EA — analysis of literature, article authoring and editing, approval of its final version; Gorodnichev RB — article editing, approval of its final version; Kornienko MA — conceptualization, analysis of literature, article authoring and editing, approval of its final version.

✉ **Correspondence should be addressed:** Narina K. Abdraimova
Malaya Pirogovskaya, 1a, Moscow, 119435, Russia; abdraimovanarina@gmail.com

Received: 20.10.2023 **Accepted:** 05.12.2023 **Published online:** 31.12.2023

DOI: 10.47183/mes.2023.058

Золотистый стафилококк (*Staphylococcus aureus*) — грамположительный микроорганизм, являющийся одним из основных патогенов человека и вызывающий широкий спектр клинических проявлений. Этот вид бактерий — основная причина бактериемии и инфекционного эндокардита, а также костно-суставных инфекций, поражений кожи и мягких тканей, плевропульмональных инфекций и инфекций, связанных с использованием медицинских изделий. Стафилококковые инфекции распространены как среди населения, так и в стационарах, а их лечение остается сложной задачей в связи с

появлением и широким распространением штаммов с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ). Показано, что золотистый стафилококк занимает второе место после *E. coli* по количеству смертей, ассоциированных с антибиотикоустойчивыми штаммами [1].

Штаммы *S. aureus* реализуют различные механизмы устойчивости к антибиотикам. Среди них выделяют синтез ферментов бета-лактамаз и продукцию белка Pwp2A — альтернативной транспептидазы [2, 3]. Последняя обеспечивает устойчивость к природным и синтетическим бета-лактамам, что привело к появлению клинически

важной группы устойчивых штаммов, названной MRSA (от англ. MRSA — methicillin resistant *Staphylococcus aureus*). Устойчивость к ванкомицину у *S. aureus* детерминирована образованием толстой клеточной стенки, препятствующей проникновению антибиотика внутрь клетки [4]. Наличие рРНК-метилтрансферазы и других ферментов, модифицирующих антибиотик, обеспечивает устойчивость к аминогликозидам. У штаммов, устойчивых к тетрациклину, часто обнаруживают защитные белки рибосом TetM и TetO [5]. *S. aureus* способен достигать устойчивости к линезолиду путем модификации мишени для антибиотика. Такая модификация возможна за счет появления и распространения мутантных вариантов гена 23S рРНК [6]. Важную роль в развитии антибиотикоустойчивости золотистого стафилококка играют эффлюксные помпы. Некоторые из них субстрат-специфичны, например, системы эффлюкса Tet(K) и Tet(L) [7]. Другие, напротив, способны распознавать и экспортировать широкий спектр препаратов. У *S. aureus* последние представлены мембранными белками, принадлежащими к нескольким семействам — ABC (от англ. ATP-binding cassette), MATE (от англ. multidrug and toxin extrusion), MFS (от англ. major facilitator superfamily), SMR (от англ. small multidrug resistance) и RND (от англ. resistance-nodulation-cell division) [8]. Отдельно стоит отметить способность *S. aureus* образовывать устойчивые клеточные агрегаты — биопленки, препятствующие проникновению молекул антибиотика к клеткам. Биопленки также способствуют колонизации золотистым стафилококком различных поверхностей, что обеспечивает протекание инфекций, ассоциированных с медицинскими изделиями [9].

Для эффективного лечения инфекций, вызванных штаммами с МЛУ, в последние годы разрабатывают альтернативные терапевтические подходы, среди которых можно выделить фаготерапию (терапию на основе вирулентных бактериофагов). Бактериофаги (фаги) — вирусы, способные инфицировать бактериальные клетки. Использование фагов как терапевтических агентов имеет ряд преимуществ по сравнению с классической терапией антибиотиками [10]. Так, необходимо отметить высокую специфичность фагов, которая исключает их воздействие на нормофлору и способность к саморепликации, что с высокой вероятностью обеспечивает присутствие агента в очаге инфекции. Механизм действия бактериофагов, как правило, отличен от антибиотиков, что позволяет их применять против антибиотикоустойчивых штаммов. Немаловажным преимуществом считается относительная простота выделения бактериофагов и производства терапевтических препаратов на их основе [11].

Несмотря на потенциальную возможность замены классических антибиотиков бактериофагами, существует ряд сложностей, которые затрудняют массовое использование фаготерапии в клинической практике. Главные ограничения — сложность и высокая стоимость процедур регистрации препаратов на основе бактериофагов и отсутствие утвержденных схем их применения [12]. Следует также отметить возможность развития у бактерий устойчивости к действию фагов и узкий спектр действия бактериофагов или, другими словами, штаммовую специфичность [13].

В качестве одного из основных путей применения бактериофагов в терапии рассматривают их комбинированное использование с антибиотиками. В настоящее время многие эксперименты *in vitro* и клинические исследования показывают эффективность

такого воздействия двух агентов [14, 15]. По мнению ряда специалистов, подобный подход должен существенно снизить нагрузку на процессы регистрации и патентования препаратов [16]. Более того, совместное применение двух разнонаправленных агентов актуально против штаммов с МЛУ [11].

Настоящая работа направлена на обзор актуальных результатов исследований, посвященных изучению терапии инфекций, вызванных *S. aureus*, с применением бактериофагов и их комбинаций с антибиотиками. Ниже будут рассмотрены исследования, посвященные изучению эффективности пар «фаг–антибиотик» как в лабораторных условиях *in vitro*, так и на животных моделях *in vivo*. Будут также продемонстрированы результаты работ по воздействию пары «фаг–антибиотик» на биопленки золотистого стафилококка и случаи комплексной терапии инфекций, вызванных *S. aureus*.

Результирующие эффекты комбинированного применения бактериофагов и антибиотиков и методы их оценки

Эффективность комбинации антибиотиков и литических бактериофагов впервые была показана в 1941 г. на примере совместного использования бактериофагов с сульфаниламидными препаратами против *S. aureus* и *Escherichia coli* [17]. Позже положительные эффекты совместного воздействия были продемонстрированы на животных моделях [18]. Аналогичные результаты были получены и с пенициллином [19]. В ходе комбинированной терапии были достигнуты успехи в лечении таких инфекционных заболеваний, как эндокардит, бактериемия, остеомиелит и перитонит [18, 20].

В свою очередь, сам термин «синергизм» («синергический эффект») был введен значительно позже, только в 2007 г. Было описано увеличение размера зон лизиса культуры *E. coli* под действием бактериофага в присутствии субингибирующих концентраций антибиотиков (азтреонам, цефотаксим, тикарциллин, пиперациллин, ампициллин, налидиксовая кислота, митомицин С) [21]. Основным объяснением наблюдаемого явления стало повышение продукции частиц бактериофага за счет анормального роста бактериальных клеток в присутствии антибиотиков. Со временем термин «синергизм» приобрел более широкий смысл. Так, под ним стали понимать случаи, когда эффективность комбинации фага и антибиотика в целом значительно превышает сумму индивидуальных эффектов [15, 16]. В некоторых публикациях стали вводить дополнительную терминологию, касающуюся положительных эффектов комбинированного воздействия. Например, в одном из исследований такие эффекты подразделяют на аддитивный эффект (от англ. add — добавлять), синергизм и фасилитацию (от англ. facilitate — облегчать), где под аддитивным эффектом авторы понимают результат, при котором совместное применение двух агентов приводит к подавлению роста клеток, равному сумме эффектов каждого компонента по отдельности, под синергизмом — превышение аддитивного эффекта, а под фасилитацией — эффект, когда комбинированное действие дает более значимое подавление бактериального роста, чем наиболее эффективный агент при отдельном введении, но меньшему в сравнении с аддитивным эффектом [15]. Помимо положительного, авторы описывают нейтральный эффект комбинированной терапии, когда совместное использование агентов приводит к снижению

Таблица 1. Исследования *in vitro* комбинированного воздействия бактериофагов и антибиотиков на штаммы *S. aureus*

Год	Фаг	Семейство	Антибиотик	Результат	Ссылка
2012	SA5	<i>Herelleviridae</i>	Гентамицин	Синергизм	[25]
2018	SA11	<i>Herelleviridae</i>	Ампициллин, цефотаксим, канамицин, тетрациклин, ципрофлоксацин, митомицин С, сульфаметоксазол, триметоприм	Синергизм (ампициллин, цефотаксим, тетрациклин, ципрофлоксацин, митомицин С, триметоприм)	[32]
2020	Sb-1	<i>Herelleviridae</i>	Даптомицин, ванкомицин, цефтаролин, цефазолин	Синергизм	[33]
2021	Коктейль AB-SA01	<i>Herelleviridae</i>	Ванкомицин, цефтаролин, цефазолин	Синергизм (ванкомицин, цефазолин)	[13]
2021	Henu2	Умеренный неклассифицируемый	Кларитромицин, линезолид, цефотаксим, тетрациклин, ципрофлоксацин	Синергизм	[31]
2021	PYOSa	<i>Herelleviridae</i>	Тетрациклин, оксациллин, ванкомицин, канамицин, азитромицин, даптомицин, рифампин, линезолид, стрептомицин	Антагонизм (тетрациклин, азитромицин, линезолид, ванкомицин, даптомицин, канамицин)	[34]
2021	Sb-1	<i>Herelleviridae</i>	Оксациллин	Синергизм, аддитивный эффект, фасилитация, антагонизм	[15]
2022	φSA115, φSA116	<i>Herelleviridae</i>	Тетрациклин, гентамицин	Антагонизм	[22]
2022	vB_SauM-515A1	<i>Herelleviridae</i>	Оксациллин, ванкомицин, гентамицин, тетрациклин, левофлоксацин, линезолид	Синергизм (тетрациклин, линезолид, оксациллин)	[14]
2023	vB_Sau_S90	Умеренный неклассифицируемый	Фосфомицин, ципрофлоксацин, ванкомицин, оксациллин	Синергизм	[35]

количества бактерий, равному наилучшему действию одного препарата, а также антагонизм, при котором комбинированная терапия менее эффективна, чем индивидуальное использование агентов [15].

Развитие интереса к комбинированной терапии привело к разнообразию лабораторных методов оценки ее эффективности. В первых работах по тематике определяли изменения диаметра зоны лизиса, сформированной под действием фага в комбинации с субингибирующей концентрацией антибиотика [21], такой традиционный метод встречается и в современных работах [22]. Однако в настоящее время чаще используют методы, связанные с измерением оптической плотности клеток, зараженных антибактериальными агентами совместно или независимо [13, 15]. Оценка подавляющего эффекта проводят при помощи подсчета площадей под кривыми роста или при оценке оптической плотности культуры через 16–24 ч [13, 15]. Высокая частота применения этого метода обусловлена наглядностью и удобством проведения экспериментов. Менее распространены колориметрические измерения для оценки количества живых клеток после обработки антибактериальными агентами, в том числе и при воздействии на биопленку [23, 24]. Была разработана экспериментальная система непрерывного культивирования, которая позволила не только оценить эффективность комбинированной терапии, но и проследить фармакодинамику процесса [25]. Встречается также описание метода изотермической микрокалориметрии для оценки воздействия фагов и антибиотиков на бактериальную биопленку [26]. Для изучения комбинированной терапии в экспериментах *in vivo* на животных моделях проводят оценку выживаемости, бактериальной нагрузки, длительности процесса инфекции, измерение размера поражения (отека), гистопатологическое исследование и др. [27–29].

Таким образом, ввиду повышения интереса к совместному применению бактериофагов и антибиотиков, за последнее время были введены новые термины для описания результирующих эффектов и был адаптирован ряд методик для изучения комбинированного подхода.

Комбинированное применение бактериофагов и антибиотиков против *S. aureus* в экспериментах *in vitro*

Комбинированный подход с применением бактериофагов и антибиотиков для элиминации *S. aureus* был продемонстрирован в экспериментах *in vitro* практически со всеми коммерчески доступными антибиотиками: аминогликозидами (гентамицин), бета-лактамами (оксациллин), гликопептидами (ванкомицин), макролидами (кларитромицин), оксазолидинонами (линезолид), тетрациклинами (тетрациклин), цефалоспорины (цефтаролин, цефазолин), циклическими пептидами (даптомицин) и др. (табл. 1). В рамках данного подхода, как правило, используют вирулентные бактериофаги семейств *Herelleviridae* (ранее *Myoviridae*) и *Rountreeviridae* (бывшие *Podoviridae*). При этом бактериофагам семейств *Herelleviridae* отдают предпочтение, что связано с их широким спектром литической активности (способны лизировать 80–95% штаммов) [30]. В некоторых работах по комбинированному воздействию исследователи используют и умеренные бактериофаги, но только в рамках *in vitro* экспериментов [31].

Как видно из табл. 1, в качестве антибиотиков в эксперименты включают бактерицидные и бактериостатические препараты различных классов, при этом в значительном количестве работ рассматривают влияние ванкомицина и оксациллина, что связано с их клинической значимостью. Например, было показано, что совместное применение фага Sb-1 (сем. *Herelleviridae*) с ванкомицином против штаммов VISA (от англ. *vancomycin intermediate S. aureus*) приводит к синергическому эффекту [33]. Авторы также установили, что использование сочетания двух антибиотиков различных классов (даптомицина либо ванкомицина с цефтаролином; даптомицина либо ванкомицина с цефазолином) с бактериофагом ведет к синергическому эффекту. При этом нужно отметить, что эффект от комбинации «фаг и два различных антибиотика» незначительно отличается от комбинации «фаг и антибиотик» при наличии синергизма в последнем случае. Повышение ингибирования

Таблица 2. Исследования комбинированной терапии биопленок *S. aureus*

Год	Фаг	Семейство	Антибиотик	Результат	Ссылка
2011	SAP-26	<i>Rountreeviridae</i>	Азитромицин, ванкомицин, рифампицин	Синергизм (рифампицин)	[23]
2014	MR-5	<i>Herelleviridae</i>	Линезолид	Синергизм	[41]
2018	SATA-8505	<i>Herelleviridae</i>	Цефазолин, ванкомицин, диклосациллин, тетрациклин, линезолид	Синергизм (ванкомицин, цефазолин) Антагонизм (ванкомицин, цефазолин, диклосациллин, линезолид, тетрациклин) Аддитивный эффект (диклосациллин, цефазолин, тетрациклин, линезолид)"	[24]
2019	PYO	<i>Herelleviridae</i>	Ципрофлоксацин, даптомицин, эритромицин, гентамицин, линезолид, оксациллин, тетрациклин, ванкомицин	Синергизм (ципрофлоксацин, тетрациклин) Антагонизм (ципрофлоксацин, ванкомицин, тетрациклин, гентамицин, эритромицин, линезолид)	[16]
2020	Sb-1	<i>Herelleviridae</i>	Доксициклин, левофлоксацин, линезолид, клиндамицин, рифампин	Синергизм	[26]
2023	Фаг K	<i>Herelleviridae</i>	Ванкомицин	Синергизм	[42]
2023	vB_SauM_Remus	<i>Herelleviridae</i>	Ванкомицин	Синергизм	[43]

бактериального роста наблюдали и при применении ванкомицина с умеренным бактериофагом Henu2 [31]. На выборке из 27 штаммов было показано, что совместное воздействие фага Sb-1 (сем. *Herelleviridae*) с различными концентрациями оксациллина в большинстве случаев приводило к положительным эффектам ингибирования бактериального роста, таким как синергизм, аддитивный эффект и фасилитация [15]. Исследователи отмечают, что негативные случаи так называемого антагонизма были крайне редки. Схожие результаты были показаны и для литического бактериофага vB_SauM-515A1: его комбинация с оксациллином в определенных концентрациях улучшала антибактериальный эффект, а антагонизма во всех рассмотренных случаях не наблюдали [14].

Точные механизмы, лежащие в основе синергического эффекта совместного применения фагов и антибиотиков против штаммов *S. aureus*, до сих пор остаются неясными. Для объяснения данного феномена предлагают различные гипотезы. Например, увеличение выработки фаговых частиц под действием сублетальных концентраций антибиотика, что было показано на примере тетрациклина, линезолида, телитромицина, кларитромицина, цефотаксима и ципрофлоксацина. Сублетальные концентрации этих антибиотиков способствовали увеличению зон фагового лизиса, что может свидетельствовать о повышенной продукции частиц бактериофага [31]. Было показано, что под действием сублетальных концентраций антибиотиков клетки *S. aureus* демонстрируют набухание, которое в ряде случаев сопровождалось увеличенной продукцией бактериофага SA11 (сем. *Herelleviridae*) [32]. По мнению авторов, такой синергизм — результат задержки лизиса, вызванной недостатком холина, который необходим для лизиса клетки и дальнейшего высвобождения дочерних вирусных частиц. Другим объяснением синергического эффекта стало преодоление устойчивости к фагам при воздействии антибиотиком. Так, комбинация бактериофага Sb-1 с ванкомицином/даптомицином предотвращала развитие устойчивости к бактериофагам [33]. Кроме того, в системе непрерывного культивирования было показано, что гентамицин индуцирует образование клеток с фенотипом, склонным к агрегации и образованию конгломератов, которые, в свою очередь, наиболее чувствительны к действию бактериофага [25].

В сравнении с синергическим эффектом, антагонизм был отмечен в значительно меньшем количестве публикаций [15, 22, 34]. В отдельных исследованиях антагонизм связывают с применением бактериостатических антибиотиков [22, 34]. Высказанная закономерность кажется вполне разумной, поскольку известно, что бактериостатические антибиотики направлены на ограничение размножения и жизнедеятельности бактериальных клеток без последующего уничтожения путем воздействия на системы биосинтеза белка и нуклеиновых кислот. Не исключено, что ингибирующему воздействию в таком случае могут подвергаться и жизненно важные процессы бактериофага. Дополнительно стоит отметить, что антибиотики в целом снижают плотность бактерий и тем самым — способность фага к репликации.

В то же время можно увидеть противоречия, возникающие при сравнении исследовательских работ разных авторов. С одной стороны, некоторые результаты экспериментов подтверждают идею о штаммо- и фагоспецифичности результирующего эффекта [15]. С другой стороны, разницу эффектов можно связать с концентрациями антибиотика. Так, при использовании бактериостатического антибиотика линезолида в концентрации 10 мкг/мл и фага PYOSa (сем. *Herelleviridae*) наблюдают антагонистический эффект [34], в то время как в других работах при применении более низких концентраций (1–2 мкг/мл) и фагов Henu2 (умеренный неклассифицируемый) [31] или vB_SauM-515A1 (сем. *Herelleviridae*) [14], наоборот, проявляется синергизм.

Таким образом, комбинированная терапия имеет весомый потенциал, и в большинстве случаев использование одновременно бактериофага и антибиотиков не снижает их результативности, а в некоторых случаях и повышает ее. В то же время очевидно, что комбинированное воздействие бактериофагов и антибиотиков многомерно и тип результирующего эффекта зависит от ряда параметров: концентраций выбранных агентов, типа антибиотика и штамма бактерии. Для более полного обобщения данных необходимо проведение дополнительных исследований, связанных с поиском корреляций между вышеперечисленными факторами, например, с учетом данных типирования штаммов.

Таблица 3. Исследования *in vivo* и клинические случаи комбинированной терапии инфекций, вызванных *S. aureus*

Год	Фаг	Семейство	Объект	Инфекция	Антибиотик	Результат	Ссылка
Исследования <i>in vivo</i>							
2013	Sb-1	<i>Herelleviridae</i>	Крысы	Имплантат-ассоциированная инфекция	Тейкопланин	Синергизм	[46]
2013	MR-10	<i>Herellevirida</i>	Мыши	Инфекции задней лапы у мышей с диабетом	Линезолид	Синергизм	[27]
2019	2003, 2002, 3A, and K	Коктейль из фагов различных семейств	Крысы	Пневмония	Тейкопланин	Нейтральный эффект	[28]
2022	vB_SauH_2002, phage 66	<i>Herelleviridae</i> , <i>Rountreeviridae</i>	Крысы	Эндокардит	Флуоксациллин	Синергизм	[29]
2023	vB_SauM_Remus	<i>Herelleviridae</i>	Личинки <i>Galleria mellonella</i>	–	Ванкомицин	Синергизм	[43]
Клинические случаи							
2019	Коктейль AB-SA01	<i>Herelleviridae</i>	–	Инфекционный эндокардит протезированного клапана	Флуоксациллин, ципрофлоксацин, рифампицин	Выздоровление пациента	[47]
2019	Коктейль AB-SA01	<i>Herelleviridae</i>	–	Инфекционный эндокардит, ассоциированный с вспомогательным устройством в левом желудочке, осложненный стерильным остеомиелитом и бактериемией	Цефазолин, миноциклин	Выздоровление пациента	[48]
2021	Коктейль AB-SA01	<i>Herelleviridae</i>	–	Инфекция протезного сустава	Цефазолин	Выздоровление пациента	[49]
2022	Mallokai	нет данных	–	Инфекция протезного сустава	Даптомицин и цефтаролин	Выздоровление пациента	[45]

Комбинированное воздействие бактериофагов и антибиотиков на биопленки, сформированные *S. aureus*

Многие штаммы *S. aureus* характеризуются способностью образовывать биопленки. Биопленки проявляют повышенную устойчивость к противомикробным средствам за счет наличия сложной пространственной структуры, механически препятствующей проникновению антибиотика, а также изменения фенотипа клеток (образование медленно растущих клеток и клеток-персистеров) [36]. Большинство клинических случаев инфекций *S. aureus* связаны с образованием биопленок, которые способны колонизировать поверхности органов и медицинских изделий [37–40].

Применение комбинированного подхода против биопленок *S. aureus* в настоящее время активно изучают (табл. 2).

Ключевой момент для эффективной обработки биопленок антимикробными агентами — это последовательность их введения. Наибольшая эффективность комбинированной терапии показана при последовательной обработке биопленки сначала бактериофагом, а затем антибиотиком. Такой результат предположительно связан со способностью фагов проникать в матрикс биопленки и разрушать его, что приводит к высвобождению планктонных клеток и их последующему уничтожению как антибиотиком, так и фагом [23]. Эти данные подтверждены во многих работах [16, 24]. Были продемонстрированы не только эффективность последовательной обработки биопленки сначала фагом (сем. *Herelleviridae*), а затем антибиотиком (ванкомицин, цефазолин), но и отсутствие эффекта действия антимикробных агентов при их одновременном использовании, и более того, в случае внесения фага после антибиотиков (ванкомицин, цефазолин, тетрацилин, линезолид) — антагонистический эффект [24]. Описаны

также случаи антагонизма при одновременном введении агентов (ванкомицин или тетрацилин с бактериофагом PYO (сем. *Herelleviridae*)) и синергизма для большинства тестируемых препаратов при их введении после фага [16].

Эффективность поэтапного введения агентов была показана и при применении бактериофагов и антибиотиков против биопленок, образованных двумя видами бактерий (*S. aureus* и *Pseudomonas aeruginosa*). Так, введение гентамицина или ципрофлоксацина после бактериофага приводит к полному подавлению роста биопленки [44]. Авторы подчеркнули, что максимальный эффект достигается при введении антибиотиков в высоких концентрациях (8 МИК (минимальная ингибирующая концентрация)). Применение высоких концентраций антибиотиков в случае инфекций, ассоциированных с биопленкообразованием, характерно и для классической антибиотикотерапии. Необходимость использования высоких концентраций антибиотиков в сочетании с бактериофагом для достижения элиминации биопленки также продемонстрирована во многих работах [16, 22, 45]. Концентрации антибиотика в работах варьируют от 2 [16] до 250 МИК [43]. Кроме того, была показана зависимость эффекта элиминации биопленки от концентрации антибиотика, а именно: подавление развития биопленки было прямо пропорционально концентрациям линезолида и тетрацилина и обратно пропорционально концентрациям ванкомицина и цефазолина (до концентрации 128 мкг/мл); в случае других антибиотиков (диклоксацилина и тетрацилина) явной линейной зависимости не наблюдали [24].

Как упоминалось ранее, биопленки играют значимую роль в имплантат-ассоциированных инфекциях. Авторы работы, в которой был успешно применен комбинированный подход для борьбы с биопленками, ассоциированными с медицинскими изделиями, предложили проводить покрытие ортопедических проволок полимером гидроксипропилметилцеллюлозой, несущим смесь бактериофага MR-5 (сем. *Herelleviridae*) и линезолида. В

результате наблюдали не только эрадикацию биопленок, но и снижение адгезии бактериальных клеток. Помимо этого, в данном исследовании было показано, что частота образования устойчивых к бактериофагу мутантов при совместном применении двух агентов снижалась [41].

Исходя из вышесказанного, последовательное введение бактериофага с антибиотиком в высоких концентрациях позволяет достичь элиминации биопленок, и более того, смесь двух агентов может быть применена совместно с полимерным покрытием медицинских изделий. Полученные результаты могут стать основой для создания новых подходов при использовании имплантатов и катетеров.

Исследования комбинированного применения бактериофагов и антибиотиков на моделях инфекций *S. aureus* и клинические случаи

Разработка новых терапевтических подходов требует подтверждения их эффективности на животных моделях. Оценку совместного использования бактериофагов и антибиотиков проводят как на позвоночных животных, так и беспозвоночных. В случае первых исследователи воссоздают модели различных инфекционных заболеваний, в том числе имплантат-ассоциированные инфекции, пневмонию, эндокардит и инфекции мягких тканей, индуцированных сахарным диабетом. В исследования включают наиболее актуальные на сегодняшний день антибиотики, такие как линезолид, тейкопланин, ванкомицин (табл. 3).

Результаты анализа представленных в таблице работ на животных моделях демонстрируют успешное применение комбинированного подхода для терапии инфекций, вызванных *S. aureus*. Было показано, что комбинация тейкопланина с литическим бактериофагом Sb-1 способна уничтожать биопленки на катетере, введенном внутривенно [46]. Перспективность комбинированного применения фаговой терапии с антибиотиками была продемонстрирована и в исследовании на крысиной модели эндокардита [29]. В публикации наибольший успех терапии показало сочетание флуоксациллина с фаговым коктейлем, содержащим представителей двух семейств — *Herelleviridae* и *Rountreeviridae*. Исследователи отмечают, что у животных, получающих бактериофаг совместно с антибиотиками, инфекционный процесс протекает значительно мягче и длится значительно меньше в сравнении с животными, получающими только антибиотик или бактериофаг [27]. Из представленных исследований исключением стала работа 2018 г., в которой не было обнаружено существенных различий между индивидуальным применением фага или антибиотика с совместным введением двух агентов в модели вентилятор-ассоциированной пневмонии [28].

В настоящее время все чаще сообщают о клинических случаях применения комбинированной терапии различных инфекций, вызванных золотистым стафилококком. В 2019 г. появилось первое сообщение об успехе комбинированной терапии фаговым коктейлем AB-SA01 (сем. *Herelleviridae*) в сочетании с антибиотиками (флуоксациллин, цiproфлоксацин и рифампицин) в случае пациента с инфекционным эндокардитом искусственного клапана [47]. После начала внутривенного введения препарата бактериофагов исследователи наблюдали

существенное подавление симптомов (лихорадки, тахикардии, гипотонии и сыпи) с последующим полным выздоровлением. Этот же препарат бактериофагов был успешно использован совместно с цефазолином и миноциклином в случае пациента с инфекционным эндокардитом, ассоциированным со вспомогательным устройством в левом желудочке [48]. Описан также случай успешной терапии инфекции суставного протеза с применением внутривенных инфузий фагового коктейля AB-SA01 и цефазолина в сочетании с хирургическим вмешательством [49]. Во всех вышеупомянутых исследованиях авторы отмечали безопасность использования бактериофагов и не сообщали о побочных эффектах.

Ввиду сообщений об успешном тестировании комбинированной терапии на животных моделях и положительных результатах в клинической практике можно сделать заключение, что совместное применение литических бактериофагов с антибиотиками — многообещающий подход для лечения инфекций золотистого стафилококка различной тяжести.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Применение литических бактериофагов в качестве дополнительного агента к классическим антибиотикам при терапии инфекций *S. aureus* с МЛУ в последние десятилетия стало актуальным направлением исследований. Эксперименты *in vitro* и *in vivo* демонстрируют, что во многих случаях комбинированное введение фага и антибиотика приводит к значительному снижению роста численности бактерий, в то время как обратный антагонистический эффект встречается значительно реже. Важное преимущество такого подхода состоит, несомненно, в его эффективности в элиминации не только планктонных клеток, но и биопленок, активно формируемых многими штаммами золотистого стафилококка. Обработка бактериофагами и антибиотиками *in vitro* позволяет значительно повысить восприимчивость и ресенсибилизацию штаммов *S. aureus* с МЛУ к антибиотикам. В то же время результаты, полученные на сегодняшний день в экспериментах *in vitro* и *in vivo*, не являются исчерпывающими и содержат много противоречий, что делает актуальными дальнейшие исследования, направленные на накопление и обобщение данных. Кроме того, для эффективного использования представленного подхода необходим фундаментальный базис, объясняющий механизмы, задействованные в элиминации *S. aureus* при комбинированном влиянии бактериофага и конкретных антибиотиков. Таким образом, дальнейшие исследования должны включать изучение взаимодействия системы «фаг–антибиотик–бактерия» с привлечением методов системной биологии и омиксных технологий.

Отдельно следует подчеркнуть, что на сегодняшний день продемонстрированы многообещающие результаты применения комплексной терапии на пациентах. Несмотря на это, для ее массового использования необходимо оптимизировать подбираемые дозы двух агентов и проводить дальнейшие клинические исследования (в том числе и двойное слепое плацебо-контролируемое исследование), подтверждающие эффективность и безопасность использования препаратов бактериофагов, произведенных надлежащим образом. Данные работы должны стать основой для разработки рекомендаций по применению бактериофагов в клинической практике.

Литература

1. Wagenlehner FME, Dittmar F. Re: global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. *Eur Urol*. 2022; 82 (6): 658.
2. Gherardi G. Staphylococcus aureus infection: pathogenesis and antimicrobial resistance. *Int J Mol Sci*. 2023; 24 (9): 81–82.
3. Fishovitz J, Hermoso JA, Chang M., Mobashery S. Penicillin-Binding Protein 2a of Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus. *IUBMB Life*. 2014; 66: 572–7.
4. McGuinness WA, Malachowa N, DeLeo FR. Vancomycin resistance in Staphylococcus aureus. *Yale J. Biol. Med*. 2017; 90: 269–81.
5. Burdett V. Tet(M)-promoted release of tetracycline from ribosomes is GTP dependent. *J Bacteriol*. 1996; 178: 3246–51.
6. Locke JB, Hilgers M, Shaw, KJ. Novel Ribosomal Mutations in Staphylococcus aureus Strains Identified through Selection with the Oxazolidinones Linezolid and Torezolid (TR-700). *Antimicrob Agents Chemother*. 2009; 53: 5265–74.
7. Jensen SO, Lyon BR. Genetics of antimicrobial resistance in Staphylococcus aureus. *Future Microbiol*. 2009; 4: 565–82.
8. Dashtbani-Roozbehani A, Brown MH. Efflux Pump Mediated Antimicrobial Resistance by Staphylococci in Health-Related Environments: Challenges and the Quest for Inhibition. *Antibiot Basel Switz*. 2021; 10: 1502.
9. Idrees M, Sawant S, Karodia N, Rahman A. Staphylococcus aureus biofilm: morphology, genetics, pathogenesis and treatment strategies. *Int J Environ Res Public Health*. 2021; 18: 7602.
10. Тикунова Н. В., Ворошилова Н. Н., Польша О. А., Морозова В. В., Тикунов А. Ю., Курильщиков А. М. и др. Генетическая характеристика и спектр антибактериальной активности бактериофагов, входящих в состав промышленных серий лекарственного препарата лиобактериофаг поливалентный очищенный. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2016; 15 (2 (87)): 93–100.
11. Nikolich MP, Filippov AA. Bacteriophage therapy: developments and directions. *Antibiotics*. 2020; 9: 135.
12. Lin DM, Koskella B, Lin HC. Phage therapy: An alternative to antibiotics in the age of multi-drug resistance. *World J Gastrointest Pharmacol. Ther*. 2017; 8: 162–73.
13. Kebriaei R, Lev KL, Stamper KC, Lehman SM, Morales S, Rybak MJ. Bacteriophage AB-SA01 Cocktail in Combination with Antibiotics against MRSA-VISA Strain in an In Vitro Pharmacokinetic/Pharmacodynamic Model. *Antimicrob Agents Chemother*. 2021; 65 (1): e01863-20.
14. Абдраймова Н. К., Корниенко М. А., Беспятых Д. А., Кулцов Н. С., Городничев Р. Б., Шитиков Е. А. Комбинированное воздействие бактериофага vB_SauM-515A1 и антибиотиков на клинические изоляты Staphylococcus aureus. *Вестник РГМУ*. 2022; (5): 23–30.
15. Simon K, Pier W, Krüttgen A, Horz HP. Synergy between Phage Sb-1 and Oxacillin against Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus. *Antibiotics*. 2021; 10 (7): 849.
16. Dickey J, Perrot V. Adjunct phage treatment enhances the effectiveness of low antibiotic concentration against Staphylococcus aureus biofilms in vitro. *PLoS One*. 2019; 14 (1): e0209390.
17. Zaytzeff-Jern H, Meleney FL. Studies in bacteriophage VI: The effect of sulfapyridine and sulfanilamide on staphylococci and E. Coli and their respective bacteriophages. *J Lab Clin Med*. 1941; 26: 1756–67.
18. Macneal WJ, Spence MJ, Blevins A. Cure of experimental staphylococcal meningitis. *Exp Biol Med*. 1942; 50: 176–9.
19. Himmelweit F. Combined action of penicillin and phage on staphylococci. *Lancet*. 1945; 246: 104–5.
20. Diallo K, Dublanche A. A century of clinical use of phages: a literature review. *Antibiotics (Basel)*. 2023; 12 (4): 751.
21. Comeau AM, Tétart F, Trojet SN, Prère MF, Krisch HM. Phage-Antibiotic Synergy (PAS): beta-lactam and quinolone antibiotics stimulate virulent phage growth. *PLoS One*. 2007; 2 (8): e799.
22. Vashisth M, Yashveer S, Anand T, Virmani N, Bera BC, Vaid RK. Antibiotics targeting bacterial protein synthesis reduce the lytic activity of bacteriophages. *Virus Res*. 2022; 321: 198909.
23. Rahman M, Kim S, Kim SM, Seol SY, Kim J. Characterization of induced Staphylococcus aureus bacteriophage SAP-26 and its anti-biofilm activity with rifampicin. *Biofouling*. 2011; 27 (10): 1087–93.
24. Kumaran D, Taha M, Yi Q, et al. Does treatment order matter? Investigating the ability of bacteriophage to augment antibiotic activity against Staphylococcus aureus biofilms. *Front Microbiol*. 2018; 9: 127.
25. Kirby AE. Synergistic action of gentamicin and bacteriophage in a continuous culture population of Staphylococcus aureus. *PLoS One*. 2012; 7 (11): e51017.
26. Wang L, Tkhilaishvili T, Trampuz A. Adjunctive Use of Phage Sb-1 in Antibiotics Enhances Inhibitory Biofilm Growth Activity versus Rifampin-Resistant Staphylococcus aureus Strains. *Antibiotics (Basel)*. 2020; 9 (11): 749.
27. Chhibber S, Kaur T, Sandeep Kaur. Co-therapy using lytic bacteriophage and linezolid: effective treatment in eliminating methicillin resistant Staphylococcus aureus (MRSA) from diabetic foot infections. *PLoS One*. 2013; 8 (2): e56022.
28. Prazak J, Iten M, Cameron DR, et al. Bacteriophages Improve Outcomes in Experimental Staphylococcus aureus Ventilator-associated Pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med*. 2019; 200 (9): 1126–33.
29. Save J, Que YA, Entenza JM, Kolenda C, Laurent F, Resch G. Bacteriophages combined with subtherapeutic doses of flucloxacillin act synergistically against Staphylococcus aureus experimental infective endocarditis. *J Am Heart Assoc*. 2022; 11 (3): e023080.
30. Kornienko M, Kuptsov N, Gorodnichev R, et al. Contribution of Podoviridae and Myoviridae bacteriophages to the effectiveness of anti-staphylococcal therapeutic cocktails. *Sci Rep*. 2020; 10 (1): 18612.
31. Li X, Hu T, Wei J, et al. Characterization of a Novel Bacteriophage Henu2 and Evaluation of the Synergistic Antibacterial Activity of Phage-Antibiotics. *Antibiotics (Basel)*. 2021; 10 (2): 174.
32. Kim M, Jo Y, Hwang YJ, et al. Phage-Antibiotic Synergy via Delayed Lysis. *Appl Environ Microbiol*. 2018; 84 (22): e02085-18.
33. Kebriaei R, Lev K, Morrisette T, Stamper KC, Abdul-Mutakabbir JC, Lehman SM, et al. Bacteriophage-Antibiotic Combination Strategy: an Alternative against Methicillin-Resistant Phenotypes of Staphylococcus aureus. *Antimicrob Agents Chemother*. 2020; 64 (7): e00461-20.
34. Berryhill BA, Huseby DL, McCall IC, Hughes D, Levin BR. Evaluating the potential efficacy and limitations of a phage for joint antibiotic and phage therapy of Staphylococcus aureus infections. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2021; 118 (10): e2008007118.
35. Loganathan A, Manohar P, Nachimuthu R. Phage-antibiotic combination: an effective method for eradication of Staphylococcus aureus. *bioRxiv*. Available from: <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2023.03.27.534482v2>.
36. Gilbert P, Maira-Litran T, McBain AJ, Rickard AH, Whyte FW. The physiology and collective recalcitrance of microbial biofilm communities. *Adv Microb Physiol*. 2002; 46: 202–56.
37. Archer NK, Mazaitis MJ, Costerton JW, Leid JG, Powers ME, Shirliff ME. Staphylococcus aureus biofilms: properties, regulation, and roles in human disease. *Virulence*. 2011; 2 (5): 445–59.
38. Costerton JW, Montanaro L, Arciola CR. Biofilm in implant infections: its production and regulation. *Int J Artif Organs*. 2005; 28 (11): 1062–8.
39. Oliveira WF, Silva PMS, Silva RCS, et al. Staphylococcus aureus and Staphylococcus epidermidis infections on implants. *J Hosp Infect*. 2018; 98 (2): 111–7.
40. Cho OH, Bae IG, Moon SM, Park SY, Kwak YG, Kim BN, et al. Therapeutic outcome of spinal implant infections caused by Staphylococcus aureus: A retrospective observational study. *Medicine (Baltimore)*. 2018; 97 (40): e12629.
41. Kaur S, Harjai K, Chhibber S. Bacteriophage mediated killing of Staphylococcus aureus in vitro on orthopaedic K wires in presence of linezolid prevents implant colonization. *PLoS One*. 2014; 9 (3): e90411.
42. Joo H, Wu SM, Soni I, Wang-Crocker C, Matern T, Beck JP, et al. Phage and Antibiotic Combinations Reduce Staphylococcus

- aureus in Static and Dynamic Biofilms Grown on an Implant Material. *Viruses*. 2023; 15 (2): 460.
43. Taha M, Arnaud T, Lightly TJ, Peters D, Wang L, Chen W, et al. Combining bacteriophage and vancomycin is efficacious against MRSA biofilm-like aggregates formed in synovial fluid. *Front Med (Lausanne)*. 2023; 10: 1134912.
 44. Akturk E, Oliveira H, Santos SB, Costa S, Kuyumcu S, Melo LDR, et al. Synergistic Action of Phage and Antibiotics: Parameters to Enhance the Killing Efficacy Against Mono and Dual-Species Biofilms. *Antibiotics (Basel)*. 2019; 8 (3): 103.
 45. Doub JB, Ng VY, Lee M, Chi A, Lee A, Würstle S, et al. Salphage: Salvage Bacteriophage Therapy for Recalcitrant MRSA Prosthetic Joint Infection. *Antibiotics (Basel)*. 2022; 11 (5): 616.
 46. Yilmaz C, Colak M, Yilmaz BC, Ersoz G, Kutateladze M, Gozlugol M. Bacteriophage therapy in implant-related infections: an experimental study. *J Bone Joint Surg Am*. 2013; 95 (2): 117–25.
 47. Gilbey T, Ho J, Cooley LA, Petrovic Fabijan A, Iredell JR. Adjunctive bacteriophage therapy for prosthetic valve endocarditis due to *Staphylococcus aureus*. *Med J Aust*. 2019; 211 (3): 142-143.e1.
 48. Aslam S, Pretorius V, Lehman SM, Morales S, Schooley RT. Novel bacteriophage therapy for treatment of left ventricular assist device infection. *J Heart Lung Transplant*. 2019; 38 (4): 475–6.
 49. Ramirez-Sanchez C, Gonzales F, Buckley M, Biswas B, Henry M, Deschenes MV, et al. Successful treatment of *Staphylococcus aureus* prosthetic joint infection with bacteriophage therapy. *Viruses*. 2021; 13 (6): 1182.

References

1. Wagenlehner FME, Dittmar F. Re: global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. *Eur Urol*. 2022; 82 (6): 658.
2. Gherardi G. *Staphylococcus aureus* infection: pathogenesis and antimicrobial resistance. *Int. J. Mol. Sci.* 2023; 24 (9): 81–82.
3. Fishovitz J, Hermoso JA, Chang M, Mobashery S. Penicillin-Binding Protein 2a of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *IUBMB Life*. 2014; 66: 572–7.
4. McGuinness WA, Malachowa N, DeLeo FR. Vancomycin resistance in *Staphylococcus aureus*. *Yale J Biol Med*. 2017; 90: 269–81.
5. Burdett V. Tet(M)-promoted release of tetracycline from ribosomes is GTP dependent. *J Bacteriol*. 1996; 178: 3246–51.
6. Locke JB, Hilgers M, Shaw, KJ. Novel Ribosomal Mutations in *Staphylococcus aureus* Strains Identified through Selection with the Oxazolidinones Linezolid and Torezolid (TR-700). *Antimicrob Agents Chemother*. 2009; 53: 5265–74.
7. Jensen SO, Lyon BR. Genetics of antimicrobial resistance in *Staphylococcus aureus*. *Future Microbiol*. 2009; 4: 565–82.
8. Dashtbani-Roozbehani A, Brown MH. Efflux Pump Mediated Antimicrobial Resistance by *Staphylococci* in Health-Related Environments: Challenges and the Quest for Inhibition. *Antibiot Basel Switz*. 2021; 10: 1502.
9. Idrees M, Sawant S, Karodia N, Rahman A. *Staphylococcus aureus* biofilm: morphology, genetics, pathogenesis and treatment strategies. *Int J Environ Res Public Health*. 2021; 18: 7602.
10. Tikunova NV, Voroshilova NN, Polygach OA, Morozova VV, Tikunov AY, Kurilshnikov AM, et al. Genetic characteristics and range of antibacterial activity of the bacteriophages, which are a part of manufactured serie of drugs — pyobacteriophage polyvalent purified. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2016; 15 (2 (87)): 93–100. Russian.
11. Nikolich MP, Filipov AA. Bacteriophage therapy: developments and directions. *Antibiotics*. 2020; 9: 135.
12. Lin DM, Koskella B, Lin HC. Phage therapy: An alternative to antibiotics in the age of multi-drug resistance. *World J Gastrointest Pharmacol. Ther*. 2017; 8: 162–73.
13. Kebriaei R, Lev KL, Stamper KC, Lehman SM, Morales S, Rybak MJ. Bacteriophage AB-SA01 Cocktail in Combination with Antibiotics against MRSA-VISA Strain in an In Vitro Pharmacokinetic/Pharmacodynamic Model. *Antimicrob Agents Chemother*. 2021; 65 (1): e01863-20.
14. Abdraimova NK, Kornienko MA, Bespiatykh DA, Kuptsov NS, Gorodnichev RB, Shitikov EA. Combined effects of bacteriophage vB_SauM-515A1 and antibiotics on the *Staphylococcus aureus* clinical isolates. *Bulletin of RSMU*. 2022; (5): 23–30. Russian.
15. Simon K, Pier W, Krüttgen A, Horz HP. Synergy between Phage Sb-1 and Oxacillin against Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Antibiotics*. 2021; 10 (7): 849.
16. Dickey J, Perrot V. Adjunct phage treatment enhances the effectiveness of low antibiotic concentration against *Staphylococcus aureus* biofilms in vitro. *PLoS One*. 2019; 14 (1): e0209390.
17. Zaytzeff-Jern H, Meleney FL. Studies in bacteriophage VI: The effect of sulfapyridine and sulfanilamide on staphylococci and *E. Coli* and their respective bacteriophages. *J Lab Clin Med*. 1941; 26: 1756–67.
18. Macneal WJ, Spence MJ, Blevins A. Cure of experimental staphylococcal meningitis. *Exp Biol Med*. 1942; 50: 176–9.
19. Himmelweit F. Combined action of penicillin and phage on staphylococci. *Lancet*. 1945; 246: 104–5.
20. Diallo K, Dublanchet A. A century of clinical use of phages: a literature review. *Antibiotics (Basel)*. 2023; 12 (4): 751.
21. Comeau AM, Tétart F, Trojet SN, Prère MF, Krisch HM. Phage-Antibiotic Synergy (PAS): beta-lactam and quinolone antibiotics stimulate virulent phage growth. *PLoS One*. 2007; 2 (8): e799.
22. Vashisth M, Yashveer S, Anand T, Virmani N, Bera BC, Vaid RK. Antibiotics targeting bacterial protein synthesis reduce the lytic activity of bacteriophages. *Virus Res*. 2022; 321: 198909.
23. Rahman M, Kim S, Kim SM, Seol SY, Kim J. Characterization of induced *Staphylococcus aureus* bacteriophage SAP-26 and its anti-biofilm activity with rifampicin. *Biofouling*. 2011; 27 (10): 1087–93.
24. Kumaran D, Taha M, Yi Q, et al. Does treatment order matter? Investigating the ability of bacteriophage to augment antibiotic activity against *Staphylococcus aureus* biofilms. *Front Microbiol*. 2018; 9: 127.
25. Kirby AE. Synergistic action of gentamicin and bacteriophage in a continuous culture population of *Staphylococcus aureus*. *PLoS One*. 2012; 7 (11): e51017.
26. Wang L, Tkhilaishvili T, Trampuz A. Adjunctive Use of Phage Sb-1 in Antibiotics Enhances Inhibitory Biofilm Growth Activity versus Rifampin-Resistant *Staphylococcus aureus* Strains. *Antibiotics (Basel)*. 2020; 9 (11): 749.
27. Chhibber S, Kaur T, Sandeep Kaur. Co-therapy using lytic bacteriophage and linezolid: effective treatment in eliminating methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) from diabetic foot infections. *PLoS One*. 2013; 8 (2): e56022.
28. Prazak J, Iten M, Cameron DR, et al. Bacteriophages Improve Outcomes in Experimental *Staphylococcus aureus* Ventilator-associated Pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med*. 2019; 200 (9): 1126–33.
29. Save J, Que YA, Entenza JM, Kolenda C, Laurent F, Resch G. Bacteriophages combined with subtherapeutic doses of flucloxacillin act synergistically against *Staphylococcus aureus* experimental infective endocarditis. *J Am Heart Assoc*. 2022; 11 (3): e023080.
30. Kornienko M, Kuptsov N, Gorodnichev R, et al. Contribution of Podoviridae and Myoviridae bacteriophages to the effectiveness of anti-staphylococcal therapeutic cocktails. *Sci Rep*. 2020; 10 (1): 18612.
31. Li X, Hu T, Wei J, et al. Characterization of a Novel Bacteriophage Henu2 and Evaluation of the Synergistic Antibacterial Activity of Phage-Antibiotics. *Antibiotics (Basel)*. 2021; 10 (2): 174.
32. Kim M, Jo Y, Hwang YJ, et al. Phage-Antibiotic Synergy via Delayed Lysis. *Appl Environ Microbiol*. 2018; 84 (22): e02085-18.
33. Kebriaei R, Lev K, Morrisette T, Stamper KC, Abdul-Mutakabbir JC, Lehman SM, et al. Bacteriophage-Antibiotic Combination Strategy: an Alternative against Methicillin-Resistant Phenotypes of *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2020; 64 (7): e00461-20.

34. Berryhill BA, Huseby DL, McCall IC, Hughes D, Levin BR. Evaluating the potential efficacy and limitations of a phage for joint antibiotic and phage therapy of *Staphylococcus aureus* infections. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2021; 118 (10): e2008007118.
35. Loganathan A, Manohar P, Nachimuthu R. Phage-antibiotic combination: an effective method for eradication of *Staphylococcus aureus*. *bioRxiv*. Available from: <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2023.03.27.534482v2>.
36. Gilbert P, Maira-Litran T, McBain AJ, Rickard AH, Whyte FW. The physiology and collective recalcitrance of microbial biofilm communities. *Adv Microb Physiol*. 2002; 46: 202–56.
37. Archer NK, Mazaitis MJ, Costerton JW, Leid JG, Powers ME, Shirtliff ME. *Staphylococcus aureus* biofilms: properties, regulation, and roles in human disease. *Virulence*. 2011; 2 (5): 445–59.
38. Costerton JW, Montanaro L, Arciola CR. Biofilm in implant infections: its production and regulation. *Int J Artif Organs*. 2005; 28 (11): 1062–8.
39. Oliveira WF, Silva PMS, Silva RCS, et al. *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* infections on implants. *J Hosp Infect*. 2018; 98 (2): 111–7.
40. Cho OH, Bae IG, Moon SM, Park SY, Kwak YG, Kim BN, et al. Therapeutic outcome of spinal implant infections caused by *Staphylococcus aureus*: A retrospective observational study. *Medicine (Baltimore)*. 2018; 97 (40): e12629.
41. Kaur S, Harjai K, Chhibber S. Bacteriophage mediated killing of *Staphylococcus aureus* in vitro on orthopaedic K wires in presence of linezolid prevents implant colonization. *PLoS One*. 2014; 9 (3): e90411.
42. Joo H, Wu SM, Soni I, Wang-Crocker C, Matern T, Beck JP, et al. Phage and Antibiotic Combinations Reduce *Staphylococcus aureus* in Static and Dynamic Biofilms Grown on an Implant Material. *Viruses*. 2023; 15 (2): 460.
43. Taha M, Arnaud T, Lightly TJ, Peters D, Wang L, Chen W, et al. Combining bacteriophage and vancomycin is efficacious against MRSA biofilm-like aggregates formed in synovial fluid. *Front Med (Lausanne)*. 2023; 10: 1134912.
44. Akturk E, Oliveira H, Santos SB, Costa S, Kuyumcu S, Melo LDR, et al. Synergistic Action of Phage and Antibiotics: Parameters to Enhance the Killing Efficacy Against Mono and Dual-Species Biofilms. *Antibiotics (Basel)*. 2019; 8 (3): 103.
45. Doub JB, Ng VY, Lee M, Chi A, Lee A, Würstle S, et al. Salphage: Salvage Bacteriophage Therapy for Recalcitrant MRSA Prosthetic Joint Infection. *Antibiotics (Basel)*. 2022; 11 (5): 616.
46. Yilmaz C, Colak M, Yilmaz BC, Ersoz G, Kutateladze M, Gozlugol M. Bacteriophage therapy in implant-related infections: an experimental study. *J Bone Joint Surg Am*. 2013; 95 (2): 117–25.
47. Gilbey T, Ho J, Cooley LA, Petrovic Fabijan A, Iredell JR. Adjunctive bacteriophage therapy for prosthetic valve endocarditis due to *Staphylococcus aureus*. *Med J Aust*. 2019; 211 (3): 142-143.e1.
48. Aslam S, Pretorius V, Lehman SM, Morales S, Schooley RT. Novel bacteriophage therapy for treatment of left ventricular assist device infection. *J Heart Lung Transplant*. 2019; 38 (4): 475–6.
49. Ramirez-Sanchez C, Gonzales F, Buckley M, Biswas B, Henry M, Deschenes MV, et al. Successful treatment of *Staphylococcus aureus* prosthetic joint infection with bacteriophage therapy. *Viruses*. 2021; 13 (6): 1182.

РОБОТОТЕХНИЧЕСКИЕ СРЕДСТВА РЕАБИЛИТАЦИИ ДВИГАТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ПАЦИЕНТОВ В ПОСТИНСУЛЬТНОМ ПЕРИОДЕ

И. Ю. Земляков², Д. С. Жданов^{1,2} ✉, А. Ш. Буреев^{1,2}, Е. В. Голобокова^{1,2}, Я. В. Костелей^{1,2,3}

¹ Национальный исследовательский Томский государственный университет, Томск, Россия

² Федеральный научно-клинический центр медицинской реабилитации и курортологии Федерального медико-биологического агентства, Москва, Россия

³ Томский государственный университет систем управления и радиоэлектроники, Томск, Россия

Проблема распространенности инсультов одна из самых острых в медицинской и социальной составляющей жизни общества — инсульты занимают второе место по распространенности в статистике смертности населения. В Российской Федерации инсульт наблюдается ежегодно почти у 500 000 человек и является первым среди причин смерти от неврологических заболеваний и вторым по частоте в структуре смертности после заболеваний сердца. Наиболее частые последствия инсульта — двигательные нарушения различной степени выраженности, проявляющиеся в виде изменения мышечного тонуса, парезов и параличей, нарушений функции ходьбы. В обзоре представлены результаты анализа текущего состояния и возможных направлений развития роботизированных реабилитационных устройств, используемых при постинсультных парезах конечностей. Рассмотрены существующие варианты их построения, условия проведения кинезиотерапевтических сеансов для получения наибольшего эффекта. Ближайшую перспективу развития высокотехнологических устройств данного типа авторы видят в создании не только сложных стационарных универсальных комплексов для клиник, но и простых мобильных специализированных тренажеров с удаленным врачебным контролем для амбулаторного использования.

Ключевые слова: медицинская робототехника, устройства для реабилитации, инсульт, экзоскелет, биологическая обратная связь, функциональная электростимуляция

Финансирование: результаты были получены в рамках выполнения государственного задания Минобрнауки России, проект № FSWM-2022-0008.

Благодарности: проректору по научной и инновационной деятельности НИ ТГУ А. Ворожцову за помощь в развитии исследований в области медицинской робототехники.

Вклад авторов: И. Ю. Земляков — написание статьи; Д. С. Жданов — анализ литературных источников; А. Ш. Буреев — анализ патентных решений; Е. В. Голобокова — поиск информации об устройствах для восстановления функций верхней конечности; Я. В. Костелей — поиск информации об устройствах для восстановления функций нижней конечности.

Соблюдение этических стандартов: исследование одобрено этическим комитетом при ФГБУ ФНКЦ МРИК ФМБА России (протокол № 1 от 06 июля 2022 г.).

✉ **Для корреспонденции:** Дмитрий Сергеевич Жданов
Площадь Новособорная, д. 1, каб. 103, г. Томск, 63450, Россия; D_S_Zhdanov@mail.ru

Статья получена: 01.11.2023 **Статья принята к печати:** 09.12.2023 **Опубликована онлайн:** 28.12.2023

DOI: 10.47183/mes.2023.054

ROBOTIC MEANS OF REHABILITATION OF MOTOR ACTIVITY OF PATIENTS IN THE POST-STROKE PERIOD

Zemlyakov IY², Zhdanov DS^{1,2} ✉, Bureev AS^{1,2}, Golobokova EV^{1,2}, Kosteley YaV^{1,2,3}

¹ National Research Tomsk State University, Tomsk, Russia

² Federal Research and Clinical Centre for Medical Rehabilitation and Balneology of the Federal Medical Biological Agency of Russia, Moscow, Russia

³ Tomsk State University of Control Systems and Radioelectronics, Tomsk, Russia

Stroke prevalence is one of the most acute problems in the medical and social aspects of society: strokes are the second most common in the mortality statistics of the population. In the Russian Federation, stroke occurs annually in almost 500,000 people and is the first among the causes of death from neurological diseases and the second most common cause of death after heart disease. The most common consequences of stroke are motor disorders of varying severity, manifested as changes in muscle tone, paresis and paralysis, and impaired walking function. This paper is an overview of the current state of robotic rehabilitation devices used for post-stroke limb paresis and of expected trends of their development. The existing variants of their construction, conditions of kinesiotherapy sessions for obtaining the greatest effect are considered. The authors are of the opinion that the nearest prospect for the development of high-tech devices of this type is not only complex stationary universal complexes for clinics, but also simple mobile specialized simulators with remote medical control for outpatient use.

Keywords: medical robotics, devices for rehabilitation, stroke, exoskeleton, biofeedback, functional electrical stimulation

Funding: the results were obtained as part of the fulfillment of the state assignment of the Russian Ministry of Education and Science, project № FSWM-2022-0008.

Acknowledgements: to A. Vorozhtsov, Vice-Rector for Research and Innovation of the National Research University for assistance in the development of research in the field of medical robotics.

Author contribution: IY Zemlyakov — article core authoring, formalization of findings and conclusion; DS Zhdanov — analysis of literature; ASh Bureev — analysis of patented solutions; EV Golobokova — search for information on devices for restoration of upper limb functions; YaV Kosteley — search for information on devices for restoration of lower limb functions.

Compliance with the ethical standards: The study was approved by the Ethical Committee of the Multidisciplinary Scientific and Clinical Center for Medical and Sports Rehabilitation and Resorts (minutes №1 dated July 6, 2022).

✉ **Correspondence should be addressed:** Dmitry S. Zhdanov
Novosobornaya ploshchad', 1, k. 103, Tomsk, 63450, Russia; D_S_Zhdanov@mail.ru

Received: 01.11.2023 **Accepted:** 09.12.2023 **Published online:** 28.12.2023

DOI: 10.47183/mes.2023.054

Медицинская робототехника — сложный и весьма специфический раздел, лежащий на пересечении нескольких высокотехнологических областей науки и техники. По мнению Д. Энгельбергера, получившего титул «отец робототехники», «больницы — это идеальное место и идеальная окружающая среда для использования роботов» [1]. Тем не менее полностью заменить человека робототехнические системы в ближайшее время не смогут — пока им под силу выполнять только рутинные и повторяющиеся действия [2, 3].

Впервые роботизированные устройства (РУ) в медицине были применены в 1985 г. для точного направления движения иглы при проведении биопсии тканей головного мозга с использованием манипулятора PUMA 560 [2]. В дальнейшем развитие именно позиционирующих хирургических систем стало основным направлением развития медицинской робототехники. Впрочем, в полном смысле назвать дистанционно управляемые манипуляторы робототехническими устройствами нельзя, хотя они прекрасно зарекомендовали себя в микрохирургии [4].

С развитием микроэлектроники и общей робототехники внедрение РУ в медицину существенно расширилось [5]. Стало возможным их внедрение в лабораторной диагностике [5], хирургии [6], психиатрии и психологии [7], стоматологии [8] и других разделах. Вместе с тем высокую актуальность имеет скорейшее внедрение сервисных РУ в стационарах для обслуживания маломобильных пациентов. Выполняя рутинные задачи, они существенно снижают рабочую нагрузку на медицинских сестер [9].

Существует еще одно направление в здравоохранении, где РУ могут оказаться весьма востребованными. В мире ежегодно около 17 млн человек страдают от инсультов, частично или полностью теряя двигательные функции. За последние годы наметилась тенденция повышения выживаемости больных, и к 2030 г. их количество достигнет 70 млн человек, что ляжет существенным бременем на национальные системы здравоохранения и социального обеспечения [10]. РУ для реабилитации этой категории пациентов предназначены для решения задачи восстановления функционирования пораженных конечностей.

Целью создания обзора было проведение технического анализа построения существующих роботизированных систем двигательной реабилитации пациентов в постинсультном периоде, а также их возможных направлений развития. Поиск материалов проводили в базах данных National Library of Medicine, Scopus, eLIBRARY, Google Patents, а также в ряде других баз данных научной и патентной ориентации.

Тенденции развития реабилитационных РУ

Восстановление функционирования двигательных функций пациентов, перенесших инсульт, в настоящее время возможно с помощью внешних РУ (экзоскелетов) и электромеханических устройств, проводящих принудительную тренировку конечности в соответствии с методиками проведения кинезотерапии. Впервые электромеханические РУ были применены на рубеже 1980–90-х гг. [11, 12]. За счет использования датчиков обратной связи конструкции РУ при проведении упражнений была предпринята попытка обеспечить атравматическое и наиболее полное взаимодействие экзоскелета с человеком. Так, положительный эффект использования экзоскелета в нейрореабилитации

был впервые описан в 1998 г. [13]. Авторы показали отсутствие побочных эффектов, хорошую переносимость назначенных процедур и значимое влияние манипуляций с поврежденной конечностью на процесс восстановления двигательных центров коры головного мозга.

За последующие 20 лет количество публикаций, посвященных постинсультной нейрореабилитации с использованием РУ, быстро росло. В русскоязычной литературе вопрос нейрореабилитации с использованием РУ до 2018 г. отражен в аналитическом обзоре [14]. Использование РУ в отечественной клинической практике нейрореабилитации того периода можно оценить, посчитав количество процитированных статей российских авторов: из 71 статьи их оказалось всего лишь 5. В другом отечественном обзоре упоминают более 240 моделей РУ для восстановительного лечения [15]. Авторы приводят данные, что для закрепления в памяти двигательного акта необходимо совершить упражнение не менее 400 раз. Однако при отсутствии РУ без ошибок это выполнить затруднительно.

Авторы одного из обзоров указывают на постоянно растущую стоимость курсов по реабилитации инсультных пациентов в восстановительном периоде и периоде остаточных явлений, а также на высокую стоимость соответствующего оборудования [16]. Связано это с процессом разработки и внедрением РУ, имеющих возможность индивидуальной адаптации, в том числе с использованием элементов искусственного интеллекта. Небольшие тиражи таких изделий при существенных трудовых и финансовых затратах на создание и сертификацию обуславливают их высокую стоимость [17]. Вторая тенденция развития — на рынке появляется все большее количество мобильных компактных устройств, предназначенных для индивидуального постоянного использования [18]. В сравнении со стационарными реабилитационными тренажерами, они требовательнее к используемым материалам, качеству изготовления и энергопотреблению, что также влияет на себестоимость. Предполагается, что за пять лет с 2020 по 2025 г. рынок реабилитационных устройств вырастет на треть и достигнет \$16,6 млрд в год. При этом необходимо учитывать, что высокотехнологичная помощь данного направления в мире в настоящее время доступна менее чем 50% нуждающихся в ней [16].

Высокая нагрузка на сотрудников реабилитационных отделений, существенная стоимость оборудования и недостаточная распространенность специализированных клинических центров вынуждает ограничивать продолжительность цикла восстановительной терапии несколькими неделями. Выходом из создавшейся ситуации может стать рост производства и расширение номенклатуры домашних реабилитационных РУ, относительно недорогих из-за узкой специализации и, как следствие, упрощенной конструкции. Подобное решение позволит организовывать непрерывный реабилитационный процесс под периодическим врачебным контролем и достигать положительных результатов за меньшее время. К сожалению, отечественный сегмент рынка индивидуальных реабилитационных РУ находится в стадии становления и пока еще недостаточно широк [16].

Устройства для нейрореабилитации

РУ для нейрореабилитации можно квалифицировать как сервисных роботов в подкатегории «роботы для

реабилитации пациентов» [19]. Их было предложено разделить на два подкласса: роботы, разработанные для тренировки утраченных двигательных функций после инсульта (терапевтические устройства), и роботы, предназначенные для компенсации утраченных навыков (вспомогательные устройства) [20]. Актуальность использования обоих типов РУ объясняется тем, что на разных стадиях реабилитации они органично дополняют друг друга. При этом за счет экономии времени на очный контроль правильности выполнения упражнений снижается нагрузка на медицинский персонал, а также возникает экономический эффект, выражающийся в увеличении количества курируемых пациентов при незначительном росте нагрузки на одного врача.

Устройства, предназначенные для нейрореабилитации конечностей и их фрагментов, можно разделить на три типа [21–23]:

1) статические ортопедические аппараты, реализующие функцию поддержки конечности. Не имеют в составе никаких исполнительных механизмов. К ним относят шины, лангеты, корсеты и фиксаторы различного типа [24];

2) динамические ортезы, сохраняющие подвижность конечности. Могут быть пассивными, поддерживающими, или активными, снабженными механическими приводами, тренирующими конкретный сустав [25];

3) роботизированные экзоскелеты, повторяющие механические свойства конечности и, как следствие, в большей степени соответствующие ее анатомии. Несмотря на громоздкость и высокую стоимость, эти решения в наибольшей степени соответствуют задачам нейрореабилитации и функционального протезирования в условиях свободного перемещения.

Рассмотрим последний вариант как наиболее универсальное решение, хотя до настоящего времени экзоскелеты медицинского назначения в отечественной системе стандартов не выделены в отдельную категорию [26]. Экзоскелеты предполагают безопасную совместную работу с пациентом, направленную на возможность использования и улучшение остаточных двигательных функций. Следовательно, системы приведения в действие и управления должны обеспечивать минимум два режима работы: режим с управлением по положению и режим с управлением по усилию. В режиме управления по положению РУ движется по заранее заданным пространственно-временным траекториям, определенным его настройками. Режим управления по усилию предполагает использование мышечных усилий пациента для формирования РУ полноценного движения: эта схема применима при незначительных порезах мышц. В качестве дополнительного контура, корректирующего правильность выполнения упражнения, можно добавить управление по положению.

Сокращение времени реабилитации при использовании экзоскелетов при проведении кинезиотерапии впервые было показано в работе [21]. При этом достоверных различий в эффективности упражнений с экзоскелетами с адаптивным управлением и без него не установлено [22]. Авторы даже склоняются в пользу РУ без адаптивных возможностей из-за их меньшей стоимости, большей надежности, простоты в использовании и обслуживании.

Период начала проведения реабилитационных мероприятий и параметры проведения роботизированной тренировки ходьбы (RAGT, роботизированная тренировка походки) зависят от многих факторов [23]. Установлено, что наилучшие результаты можно получить в остром периоде

заболевания, при проведении сеанса длительностью 30 мин, три раза в неделю в течение четырех недель. Для оценки состояния использовали шесть клинических параметров, включая оценку сенсомоторных функций по шкале Фугл-Мейера, шкалу оценки нарушения равновесия и баланса Берг, шкалу оценки контроля и нарушений движения туловища, модифицированный индекс Бартел оценки независимости в основных сферах повседневной жизни и модифицированную шкалу спастичности мышц Эшворта. Это утверждение было подтверждено результатами исследований электромиограмм (ЭМГ) группы из 36 пациентов. Разница параметров ЭМГ (частота пиков, ее длительность и площадь) между контрольной и экспериментальной группами была достоверной [27].

Экзоскелеты верхних конечностей более сложны относительно РУ того же типа для нижних конечностей. Это связано с тем, что к простым движениям крупных суставов добавляются повороты кисти, а также хватательные или щипковые движения пальцев [28, 29]. При этом известные РУ, реализующие перемещения пальцев, не учитывают движение запястья, поэтому конструкции устройств либо удерживают его неподвижно, либо позволяют совершать движения только в одной плоскости — сгибаться и разгибаться. Функциональная многогранность имитации движения кисти и пальцев руки человека предполагает высокую сложность задачи управления РУ, в том числе с использованием элементов искусственного интеллекта и методов обнаружения намерений движения пациента, включая регистрацию тензометрических и электрофизиологических сигналов паретичных мышц [30].

Устройства для восстановления функций верхних конечностей

Несмотря на достаточное количество моделей РУ, ориентированных на восстановление функционирования верхних конечностей, до сих пор отсутствует единая согласованная, функционально и физиологически обоснованная концепция проведения нейрореабилитационных мероприятий подвижности руки и кисти с использованием РУ [31]. Эта ситуация отражает неоднозначность существующих подходов к проведению нейрореабилитации инсультных больных и многообразии клинических состояний, часто не имеющих четких различий и являющихся сочетанными [31]. Как результат описанной ситуации, в настоящее время имеются РУ, предназначенные для восстановления функционирования рук на основе ЭМГ с интерфейсом мозг-компьютер (BCI или ИМК) и соматосенсорные РУ с функциональной электростимуляцией (BCI-FES) [32].

Реабилитационный процесс с использованием ЭМГ может быть основан на описанных ниже принципах. Достоверного различия в эффективности описанных методов пока не обнаружено [33]:

1) воздействие на мышцы паретичной конечности сигналами электростимулятора, которые соответствуют физиологической норме и хранятся в соответствующей базе данных: электромиограмма служит для контроля воздействия;

2) использование принципа «зеркала», когда на паретичную конечность подается усиленный сигнал, регистрируемый на здоровой в тот момент, когда пациент пытается совершить идентичные движения;

3) использование ЭМГ в цепи биологической обратной связи (БОС), когда в режиме «зеркала» пациенту предъявляются электромиограммы при попытке

совершения идентичных движений паретичной и здоровой рукой.

РУ, использующие BCI, реализуют различные подходы, основанные на регистрации электроэнцефалограмм (ЭЭГ) двигательных зон коры головного мозга. Основная проблема таких РУ — неоднозначность трактовки регистрируемого сигнала. Одним из первых относительно простых и специализированных, но требующим существенных вычислительных мощностей, представляется алгоритм, основанный на анализе пространственно-временных характеристик ЭЭГ в нескольких частотных диапазонах общей полосы пропускания сигнала электроэнцефалограммы [34]. Более универсальный и быстрый алгоритм минимизации энергии сигнала (или его частные реализации), распознаваемого образа, позволяет на практике получать приближенные решения, которые в отдельных случаях оказываются более эффективными [35]. Алгоритм PSD (спектральная площадь мощности) основан на измерении спектральной плотности мощности сигнала, состоящего из большого количества синусоид, генерируемых независимыми источниками, что наблюдают во многих шумоподобных сигналах [36]. К общим недостаткам РУ с нейроинтерфейсами следует отнести существующую в настоящее время невозможность выделения слабых сигналов активации мелких мышц кисти и предплечья, управляющих отдельными пальцами.

Соматосенсорные РУ основаны на создании петли биологической обратной связи между завершенными комплексами движений и ощущениями, получаемыми от зрительной, слуховой или тактильной систем организма [37]. Наиболее эффективной оказалась аудиовизуальная БОС в сочетании с технологиями виртуальной или дополненной реальности, где пациенты выполняли упражнения с эффектом соматосенсорного погружения. Датчики обратной связи, установленные для фиксации движений, регистрируют силу воздействия, скорость движения или положение в пространстве руки, кисти и/или пальцев. Последующие исследования доказали, что мультисенсорная стимуляция и механическая обратная связь, помогающие в реабилитационном обучении, значительно сокращают процесс реабилитации и имеют длительное последствие [38].

Эффективное средство для восстановления подвижности — BCI-FES, при которой стимулирующие импульсы вызывают мышечную активность параллельно с принудительными движениями всей конечности или какой-либо ее части. Тем самым через реципрокные отношения в двигательных центрах коры головного мозга формируется устойчивая связь между внешним стимулом и соответствующим движением. Действенность метода показана на восстановлении подвижности как нижних [39, 40], так и верхних конечностей независимо от возраста и пола [41, 42]. При этом наибольший эффект был продемонстрирован в острой фазе инсульта. Немного уступая в эффективности соматосенсорным РУ, реабилитационные тренажеры этого типа за счет узкой специализации, направленной на тренировку ограниченного количества движений, могут оказаться проще, дешевле и компактнее.

Устройства для восстановления функций нижних конечностей

Существенное снижение сроков нейрореабилитации у пациентов с парезами нижних конечностей при

использовании роботизированных экзоскелетов, а также более эффективное восстановление их функционирования отмечают многие авторы [43–46]. В последнее время распространение начинают получать гибкие экзоскелеты нижних конечностей, которые эффективно решают некоторые проблемы традиционных жестких экзоскелетов, обеспечивая более высокое качество имитации биомеханики нормальной ходьбы, большую жесткость в области суставов, меньший вес и относительную компактность системы управления [43].

Согласно полученным данным, за последние десятилетия внимание разработчиков экзоскелетов нижних конечностей сосредоточилось на трех основных направлениях: материалы, технология производства и управление [44]. Относительно механической части исполнения каких-либо принципиальных улучшений не произошло. Из материалов для производства на первый план ожидаемо вышли биологически нейтральные легкие сплавы на основе титана и композитных пластиков на основе углеволокна (карбона). Это позволяет существенно упростить технологию производства, заменив штамповку под прессом на моделирование изделия в легкой пресс-форме с подогревом и последующим уплотнением в ходе полимеризации связующих смол. Таким образом, изготовление основы механической части экзоскелетов стало доступно небольшим предприятиям. Кроме того, появилась возможность индивидуальной подгонки частей экзоскелета уже на стадии их производства. Управление механикой экзоскелетов также активно развивается, существенно уменьшается энергопотребление и элементы становятся все более компактными за счет появления на рынке микроконтроллеров, соизмеримых по производительности с настольными ЭВМ начала 2000-х гг., а также миниатюрных шаговых двигателей с высоким крутящим моментом.

Положительным моментом представляется внедрение БОС для расширения возможностей управления экзоскелетами. Одно из направлений — это развитие адаптивного управления на основе распознавания намерений движения с помощью датчиков ускорения и кожной ЭМГ [45]. В этом случае, как справедливо отмечают авторы, основными препятствиями становятся множественность несогласованных шкал и оценок двигательной активности постинсультных больных, что затрудняет объективность оценки эффективности воздействий, отсутствие адекватных математических моделей, связывающих ЭМГ-активность двигательных нервов с соответствующим движением ноги, особенно во время спуска и подъема по лестницам, а также сам характер сигналов ЭМГ с нарушенной координацией мышц после инсульта, что требует использования многослойных моделей нейронных сетей для их распознавания. Решение этих задач позволит частично автоматизировать процесс реабилитации, в первую очередь в плане изменения влияния экзоскелета на походку по мере прогресса в восстановлении двигательных навыков. Авторы справедливо замечают, что внедрение экзоскелетов с адаптивным управлением снизит не только нагрузку на врача-реабилитолога, взяв на себя решение рутинных задач, но и даст существенный экономический эффект за счет роста численности группы пациентов, приходящихся на одного врача.

Вместе с тем даже использование упрощенных роботизированных приводов, реализующих подвижность лишь тазобедренного и коленного суставов во время

тренировок, уже дает положительный эффект для восстановления биомеханики ходьбы. При анализе результатов влияния подобной схемы на восстановление двигательных функций установлено общее улучшение моторики движений, снижение мышечного тонуса разгибателей и увеличение длительности фазы опоры в цикле шага; при этом сам цикл шага сократился с пяти частей до трех. Авторы пришли к выводу, что роботизированные тренировки с применением активных приводов для тазобедренного и коленного суставов опосредованно способствуют изменениям кинематических параметров в голеностопном суставе за счет приближения показателей паттерна к некоему усредненному шаблону движений [46].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализируя работы, описывающие влияние РУ на функциональное восстановление конечностей постинсультных больных, нельзя не согласиться с позицией, изложенной в одной из работ: большинство источников описывают лишь идеи, в лучшем случае — предварительный дизайн и тестирование прототипов, а не оценку уже выпускаемых или готовых к массовому внедрению устройств [47]. Кроме того, несмотря на социальную значимость и важность внедрения медицинских РУ, до сих пор основной объем предложений на отечественном рынке представлен зарубежными разработками. Заметим, что их высокая стоимость и сложность сервисного обслуживания в условиях наложенных на Россию санкций требуют скорейшего решения задач разработки и серийного выпуска отечественных устройств аналогичного назначения.

Основной вывод представленного обзора состоит в том, что для сохранения непрерывности реабилитационного процесса и действительного повышения качества жизни пациентов следует разрабатывать не только высокоэффективные робототехнические комплексы, доступные для крупных клиник и реабилитационных центров, но и относительно простые, недорогие и массовые РУ для домашнего использования. Это позволит сделать реабилитационный процесс по-настоящему непрерывным. Примером этому могут послужить относительно простые и недорогие специализированные РУ типа BCI-FES для пациентов в постинсультном периоде, реализация которых, по нашему мнению, не потребует больших вложений.

Использование медицинских сервисных роботов для пациентов с ограниченной мобильностью в домашних условиях пока затруднено из-за высокой стоимости и необходимости создания разветвленной сети сервисных центров. Однако применение подобных РУ с голосовым управлением в клинических условиях более чем оправдано,

так как позволяет снизить нагрузку на медсестер и автоматизировать такие рутинные процедуры, как раздача лекарств или утренний контроль за температурой и артериальным давлением пациентов.

Если анализировать состояние и ближайшие перспективы развития реабилитационных РУ, то следует ожидать их развития в двух взаимодополняющих направлениях.

С одной стороны, появление все большего количества моделей универсальных стационарных комплексов, ориентированных на эксплуатацию в клинических условиях и крупных реабилитационных центрах. Изначально каждый такой комплекс должен обладать библиотекой профилей проведения «стандартных» тренировочных сеансов общего плана с возможностью расширения и дополнения новыми комбинациями упражнений. Обязательным условием для таких систем должно стать использование многопетлевой БОС, обеспечивающей индивидуальную адаптацию к возможностям каждого пациента с элементами самообучения. Вырабатываемые в ходе тренировок индивидуальные профили больных должны храниться в цифровой библиотеке и использоваться при повторных визитах. При этом распространение таких профилей вряд ли целесообразно из-за их высокой индивидуальности.

С другой стороны, для обеспечения непрерывности реабилитационного процесса следует ожидать развития рынка относительно недорогих специализированных, возможно, мобильных устройств, используемых в том числе и в домашних условиях. Снижение стоимости таких РУ возможно при их функциональной специализации, использовании упрощенных технологий и унификации механической части и электромеханической оснастки, а также если сделать набор профилей упражнений разумно минимальным. Но и в этом случае необходимым условием следует считать использование, по крайней мере, одной БОС, позволяющей организовать адаптацию и самообучение РУ. Обеспечение этих изделий средствами объективного контроля (поверхностная ЭМГ, акселерометрия) за двигательной активностью пораженных конечностей совместно с каналом передачи данных на удаленный сервер обеспечит наиболее полные условия для проведения полноценных реабилитационных мероприятий.

В заключение необходимо отметить, что, по мнению авторов, внедрение робототехники в медицину обязательно приведет к росту эффективности диагностических, лечебных и реабилитационных процедур и повышению долгосрочной выживаемости пациентов. Широкая роботизация здравоохранения способна создать условия для достаточно скорого перехода медицины на совершенно иной уровень диагностики и лечения, который еще недавно считался фантастическим.

Литература

1. Краевский С. В., Рогаткин Д. А. Медицинская робототехника: первые шаги медицинских роботов. Технологии живых систем. 2010; 7 (4): 3–14. EDN: OPBPTP.
2. Мосоян М. С., Федоров Д. А. Современная робототехника в медицине. Трансляционная медицина. 2020; 7 (5): 91–108. DOI: 10.18705/2311-4495-2020-7-5-91-108.
3. Козырев Ю. Г. Промышленные роботы: основные типы и технические характеристики. М.: КНОРУС, 2015; 560 с.
4. Moglia A, Georgiou K, Georgiou E, Satava RM, Cuschieri A. A systematic review on artificial intelligence in robot-assisted surgery. *Int J Surg.* 2021; 95: 106151. DOI: 10.1016/j.ijsu.2021.106151. PMID: 34695601.
5. Gyles C. Robots in medicine. *Can Vet J.* 2019; 60 (8): 819–20. PMID: 31391598. PMID: PMC6625162.
6. Denning NL, Kallis MP, Prince JM. Pediatric robotic surgery. *Surg Clin North Am.* 2020; 100 (2): 431–43. DOI: 10.1016/j.suc.2019.12.004. PMID: 32169188.
7. Fiske A, Henningsen P, Buyx A. Your robot therapist will see you now: ethical implications of embodied artificial intelligence in psychiatry, psychology, and psychotherapy. *J Med Internet Res.*

- 2019; 21 (5): e13216. DOI: 10.2196/13216. PMID: 31094356. PMID: PMC6532335.
8. Ahmad P, Alam MK, Aldajani A, Alahmari A, Alanazi A, Stoddart M, et al. Dental robotics: a disruptive technology. *Sensors (Basel)*. 2021; 21 (10): 3308. DOI: 10.3390/s21103308. PMID: 34064548. PMID: PMC8151353.
 9. Maalouf N, Sidaoui A, Elhadj IH, Asmar D. Robotics in nursing: a scoping review. *J Nurs Scholarsh*. 2018; 50 (6): 590–600. DOI: 10.1111/jnu.12424. PMID: 30260093.
 10. Ding Q, Liu S, Yao Y, Liu H, Cai T, Han L. Global, regional, and national burden of ischemic stroke, 1990–2019. *Neurology*. 2021; 98: 1–10. DOI:10.1212/WNL.00000000000013115.
 11. Gosine R, Harwin W, Furby L, Jackson R. An intelligent end-effector for a rehabilitation robot. *Journal of Medical Engineering Technology*. 1989; 13 (1–2): 37–43.
 12. Gosine R, Harwin W, Jackson R. An interactive robot workstation for applications in rehabilitation. *IEEE Xplore: Intelligent Robots and Systems '90*. 1990; 2: 977–83. DOI: 10.1109/IROS.1990.262522.
 13. Krebs H, Hogan N, Aisen M, Volpe B. Robot-Aided Neurorehabilitation. *IEEE transactions on rehabilitation engineering: IEEE Engineering in Medicine and Biology Society*. 1998; 6: 75–87. DOI: 10.1109/86.662623.
 14. Белова А. Н., Борзиков В. В., Кузнецов А. Н., Рукина Н. Н. Роботизированные устройства в нейрореабилитации: состояние вопроса. *Вестник восстановительной медицины*. 2018; 2: 94–107.
 15. Королева Е. С., Алифинова В. М., Латыпова А. В., Чебан С. В., Отт В. А., Бразовский К. С. и др. Принципы и опыт применения роботизированных реабилитационных технологий у пациентов после инсульта. *Бюллетень сибирской медицины*. 2019; 18 (2): 223–33.
 16. Аксенова Е. И., Горбатов С. Ю., Маклакова Ю. А. Экспертный обзор: Индустрия реабилитационных технологий в России и мире. М.: ГБУ «НИИОЗММ ДЗМ», 2020; 64 с.
 17. Сервисные роботы от Promobot. Применение в медицине. [последнее цитирование 5 сентября 2023 г.]. Доступно по ссылке: <https://evercare.ru/news/servisnye-roboty-ot-promobot-primenenie-v-medicine>.
 18. Mehrholz J, Pohl M, Platz T, Kugler J, Elsner B. Electromechanical and robot-assisted arm training for improving activities of daily living, arm function, and arm muscle strength after stroke. *Cochrane Database Syst Rev*. 2018; 9 (9): CD006876. DOI: 10.1002/14651858.CD006876.pub5. PMID: 30175845. PMID: PMC6513114.
 19. ГОСТ Р 60.0.0.2 — 2016. Роботы и робототехнические устройства. Классификация. М.: Стандартинформ, 2016; 15 с.
 20. Klamroth-Marganska V. Stroke rehabilitation: therapy robots and assistive devices. In: P Kerkhof LM, Miller VM, editors. Sex-specific analysis of cardiovascular function. Springer International Publishing AG, 2018; p. 579–87. DOI: 10.1007/978-3-319-77932-4_35.
 21. Fukuda H, Morishita T, Ogata T, Saita K, Hyakutake K, Watanabe J, et al. Tailor-made rehabilitation approach using multiple types of hybrid assistive limb robots for acute stroke patients: A pilot study. *Assist Technol*. 2016; 28 (1): 53–6. DOI: 10.1080/10400435.2015.1080768. PMID: 26478988.
 22. Park JH, Park G, Kim HY, Lee JY, Ham Y, Hwang D, et al. A comparison of the effects and usability of two exoskeletal robots with and without robotic actuation for upper extremity rehabilitation among patients with stroke: a single-blinded randomised controlled pilot study. *J Neuroeng Rehabil*. 2020; 17 (1): 137. DOI: 10.1186/s12984-020-00763-6. PMID: 33076952. PMID: PMC7574181.
 23. Xie L, Yoon BH, Park C, You JSH. Optimal intervention timing for robotic-assisted gait training in hemiplegic stroke. *Brain Sci*. 2022; 12 (8): 1058. DOI: 10.3390/brainsci12081058. PMID: 36009121. PMID: PMC9405763.
 24. ГОСТ Р 51079-2006 (ISO 9999:2002). Технические средства реабилитации людей с ограничениями жизнедеятельности. Классификация. М.: Российский институт стандартизации, 2007; 114 с.
 25. ГОСТ Р 51819-2022. Протезирование и ортезирование верхних и нижних конечностей. Термины и определения. М.: Российский институт стандартизации, 2022; 20 с.
 26. ГОСТ Р 59181-2022. Средства индивидуальной защиты опорно-двигательного аппарата. Экзоскелеты промышленные. Классификация. Термины и определения. М.: Российский институт стандартизации, 2022; 8 с.
 27. Zhang H, Li X, Gong Y, Wu J, Chen W, et al. Three-Dimensional Gait Analysis and sEMG measures for robotic-assisted gait training in subacute stroke: a randomized controlled trial. *Biomed Res Int*. 2023; 2023: 7563802. DOI: 10.1155/2023/7563802. PMID: 37082189. PMID: PMC10113045.
 28. Gassert R, Dietz V. Rehabilitation robots for the treatment of sensorimotor deficits: a neurophysiological perspective. *J Neuroeng Rehabil*. 2018; 15 (1): 46. DOI: 10.1186/s12984-018-0383-x. PMID: 29866106. PMID: PMC5987585.
 29. Baniqued PDE, Stanyer EC, Awais M, Alazmani A, Jackson AE, Mon-Williams MA, et al. Brain-computer interface robotics for hand rehabilitation after stroke: a systematic review. *J Neuroeng Rehabil*. 2021; 18 (1): 15. DOI: 10.1186/s12984-021-00820-8. PMID: 33485365. PMID: PMC7825186.
 30. Du Plessis T, Djouani K, Oosthuizen C. A review of active hand exoskeletons for rehabilitation and assistance. *Robotics*. 2021; 10: 42. DOI: 10.3390/robotics10010040.
 31. Sun Y, Yuntao T, Zheng J, Dong D, Chen X, Bai L. From sensing to control of lower limb exoskeleton: a systematic review. *Annual Reviews in Control*. 2022; 53. DOI: 10.1016/j.arcontrol.2022.04.003.
 32. Wu H, Li L, Li L, Liu T, Wang J. Review of comprehensive intervention by hand rehabilitation robot after stroke. *Sheng Wu Yi Xue Gong Cheng Xue Za Zhi*. 2019; 36 (1): 151–6. DOI: 10.7507/1001-5515.201711024. PMID: 30887790. PMID: PMC9929888.
 33. Spencer J, Wolf SL, Kesar TM. Biofeedback for post-stroke gait retraining: a review of current evidence and future research directions in the context of emerging technologies. *Front Neurol*. 2021; 12: 637199. DOI: 10.3389/fneur.2021.637199. PMID: 33859607. PMID: PMC8042129.
 34. Ang K, Chin Z, Zhang H, Guan C. Filter Bank Common Spatial Pattern (FBCSP) in brain-computer interface. *Proceedings of the International Joint Conference on Neural Networks; 2008 June 1–8; Hong Kong, China; p. 2390–7*. DOI: 10.1109/IJCNN.2008.4634130.
 35. Осокин А. А. Субмодулярная релаксация в задаче минимизации энергии марковского случайного поля [диссертация]. М., 2014.
 36. Thomas BE, John SK, Abe S. Power Spectral Density (PSD) Computation using Modified Welsh Method. *Int J Sci Technol Engineer*. 2015; 2 (4): 145–52.
 37. Костенко Е. В., Петрова Л. В., Погонченкова И. В., Непринцева Н. В., Шурупова С. Т., Копашева В. Д. и др. Инновационные технологии и мультимодальная коррекция в медицинской реабилитации двигательных и нервно-психических нарушений вследствие инсульта. *Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физкультуры*. 2022; 99 (6): 67–78. DOI: 10.17116/kurort20229906167.
 38. Assis G, Brandao A, Corrêa AG, Castellano G. Characterization of functional connectivity in chronic stroke subjects after augmented reality training. *Virtual Worlds*. 2023; 2 (1): 1–15. DOI: 10.3390/virtualworlds2010001.
 39. Sota K, Uchiyama Y, Ochi M, Matsumoto S, Hachisuka K, Domen K. Examination of factors related to the effect of improving gait speed with functional electrical stimulation intervention for stroke patients. *PM R*. 2018; 10 (8): 798–805. DOI: 10.1016/j.pmrj.2018.02.012. PMID: 29518588.
 40. Jacqueline da Cunha M, Rech KD, Salazar AP, Pagnussat AS. Functional electrical stimulation of the peroneal nerve improves post-stroke gait speed when combined with physiotherapy. A systematic review and meta-analysis. *Ann Phys Rehabil Med*. 2021; 64 (1): 101388. DOI: 10.1016/j.rehab.2020.03.012. PMID: 32376404.
 41. Cardoso LRL, Bochekezanian V, Forner-Cordero A, Melendez-Calderon A, Bo APL. Soft robotics and functional electrical stimulation advances for restoring hand function in people with

- SCI: a narrative review, clinical guidelines and future directions. *J Neuroeng Rehabil.* 2022; 19 (1): 66. DOI: 10.1186/s12984-022-01043-1. PMID: 35773733. PMCID: PMC9245887.
42. Zulauf-Czaja A, Al-Taleb MKH, Purcell M, Petric-Gray N, Cloughley J, Vuckovic A. On the way home: a BCI-FES hand therapy self-managed by sub-acute SCI participants and their caregivers: a usability study. *J Neuroeng Rehabil.* 2021; 18 (1): 44. DOI: 10.1186/s12984-021-00838-y. PMID: 33632262. PMCID: PMC7905902.
43. Meng Q, Zeng Q, Xie Q, Fei C, Kong B, Lu X, et al. Flexible lower limb exoskeleton systems: A review. *NeuroRehabilitation.* 2022; 50 (4): 367–90. DOI: 10.3233/NRE-210300. PMID: 35147568.
44. Hussain F, Goecke R, Mohammadian M. Exoskeleton robots for lower limb assistance: A review of materials, actuation, and manufacturing methods. *Proc Inst Mech Eng H.* 2021; 235 (12): 1375–85. DOI: 10.1177/09544119211032010. PMID: 34254562.
45. Su D, Hu Z, Wu J, Shang P, Luo Z. Review of adaptive control for stroke lower limb exoskeleton rehabilitation robot based on motion intention recognition. *Front Neurobot.* 2023; 17: 1186175. DOI: 10.3389/fnbot.2023.1186175. PMID: 37465413. PMCID: PMC10350518.
46. Клочков А. С., Зимин А. А., Хижникова А. Е., Супонева Н. А., Пирадов М. А. Влияние роботизированных тренировок на биомеханику голеностопного сустава у пациентов с постинсультным парезом. *Вестник РГМУ.* 2020; 5: 47–57. DOI: 10.24075/vrgmu.2020.066.
47. Suarez-Escobar M, Rendon-Velez E. An overview of robotic/mechanical devices for post-stroke thumb rehabilitation. *Disabil Rehabil Assist Technol.* 2018; 13 (7): 683–703. DOI: 10.1080/17483107.2018.1425746. PMID: 29334274.

References

- Kraevsky SV, Rogatkin DA. Medical robotics: the first steps of medical robots. *Technologies of living systems.* 2010; 7 (4): 3–14. EDN: OPBPTP. Russian.
- Mosoyan MS, Fedorov DA. Modern robotics in medicine. *Translational Medicine.* 2020; 7 (5): 91–108. DOI: 10.18705/2311-4495-2020-7-5-91-108. Russian.
- Kozyrev YuG. *Promyshlennyye roboty: osnovnyye tipy i tehnikeskie harakteristiki.* M.: KNORUS, 2015; 560 p. Russian.
- Moglia A, Georgiou K, Georgiou E, Satava RM, Cuschieri A. A systematic review on artificial intelligence in robot-assisted surgery. *Int J Surg.* 2021; 95: 106151. DOI: 10.1016/j.ijsu.2021.106151. PMID: 34695601.
- Gyles C. Robots in medicine. *Can Vet J.* 2019; 60 (8): 819–20. PMID: 31391598. PMCID: PMC6625162.
- Denning NL, Kallis MP, Prince JM. Pediatric robotic surgery. *Surg Clin North Am.* 2020; 100 (2): 431–43. DOI: 10.1016/j.suc.2019.12.004. PMID: 32169188.
- Fiske A, Henningsen P, Buys A. Your robot therapist will see you now: ethical implications of embodied artificial intelligence in psychiatry, psychology, and psychotherapy. *J Med Internet Res.* 2019; 21 (5): e13216. DOI: 10.2196/13216. PMID: 31094356. PMCID: PMC6532335.
- Ahmad P, Alam MK, Aldajani A, Alahmari A, Alanazi A, Stoddart M, et al. Dental robotics: a disruptive technology. *Sensors (Basel).* 2021; 21 (10): 3308. DOI: 10.3390/s21103308. PMID: 34064548. PMCID: PMC8151353.
- Maalouf N, Sidaoui A, Elhajj IH, Asmar D. Robotics in nursing: a scoping review. *J Nurs Scholarsh.* 2018; 50 (6): 590–600. DOI: 10.1111/jnu.12424. PMID: 30260093.
- Ding Q, Liu S, Yao Y, Liu H, Cai T, Han L. Global, regional, and national burden of ischemic stroke, 1990–2019. *Neurology.* 2021; 98: 1–10. DOI:10.1212/WNL.00000000000013115.
- Gosine R, Harwin W, Furby L, Jackson R. An intelligent end-effector for a rehabilitation robot. *Journal of Medical Engineering Technology.* 1989; 13 (1–2): 37–43.
- Gosine R, Harwin W, Jackson R. An interactive robot workstation for applications in rehabilitation. *IEEE Xplore: Intelligent Robots and Systems '90.* 1990; 2: 977–83. DOI: 10.1109/IROS.1990.262522.
- Krebs H, Hogan N, Aisen M, Volpe B. Robot-Aided Neurorehabilitation. *IEEE transactions on rehabilitation engineering: IEEE Engineering in Medicine and Biology Society.* 1998; 6: 75–87. DOI: 10.1109/86.662623.
- Belova AN, Borzenkov VV, Kuznetsov AN, Rukina NN. Robotic devices in neurorehabilitation: the state of the question. *Bulletin of Restorative Medicine.* 2018; 2: 94–107. Russian.
- Koroleva ES, Alifirova VM, Latypova AV, Cheban SV, Ott VA, Brazovsky KS, et al. Principles and experience of using robotic rehabilitation technologies in patients after stroke. *Bulletin of Siberian Medicine.* 2019; 18 (2): 223–33. Russian.
- Aksenova EI, Gorbatov SYu, Maklakova YuA. *Jekspertnyj obzor: Industrija reabilitacionnyh tehnologij v Rossii i mire.* M.: GBU «NIIOZMM DZM», 2020; 64 p. Russian.
- Service roboty ot Promobot. *Primenenie v meditsine.* [cited 2023 Sept 5]. Available from: <https://evercare.ru/news/service-roboty-ot-promobot-primenenie-v-medicine>. Russian.
- Mehrholz J, Pohl M, Platz T, Kugler J, Elsner B. Electromechanical and robot-assisted arm training for improving activities of daily living, arm function, and arm muscle strength after stroke. *Cochrane Database Syst Rev.* 2018; 9 (9): CD006876. DOI: 10.1002/14651858.CD006876.pub5. PMID: 30175845. PMCID: PMC6513114.
- GOST R 60.0.0.2 – 2016. *Roboty i robototekhnicheskie ustroystva.* Klassifikatsiya. M.: Standartinform, 2016; 15 p. Russian.
- Klamroth-Marganska V. Stroke rehabilitation: therapy robots and assistive devices. In: P Kerckhof LM, Miller VM, editors. *Sex-specific analysis of cardiovascular function.* Springer International Publishing AG, 2018; p. 579–87. DOI: 10.1007/978-3-319-77932-4_35.
- Fukuda H, Morishita T, Ogata T, Saita K, Hyakutake K, Watanabe J, et al. Tailor-made rehabilitation approach using multiple types of hybrid assistive limb robots for acute stroke patients: A pilot study. *Assist Technol.* 2016; 28 (1): 53–6. DOI: 10.1080/10400435.2015.1080768. PMID: 26478988.
- Park JH, Park G, Kim HY, Lee JY, Ham Y, Hwang D, et al. A comparison of the effects and usability of two exoskeletal robots with and without robotic actuation for upper extremity rehabilitation among patients with stroke: a single-blinded randomised controlled pilot study. *J Neuroeng Rehabil.* 2020; 17 (1): 137. DOI: 10.1186/s12984-020-00763-6. PMID: 33076952. PMCID: PMC7574181.
- Xie L, Yoon BH, Park C, You JSH. Optimal intervention timing for robotic-assisted gait training in hemiplegic stroke. *Brain Sci.* 2022; 12 (8): 1058. DOI: 10.3390/brainsci12081058. PMID: 36009121. PMCID: PMC9405763.
- GOST R 51079-2006 (ISO 9999:2002). *Tekhnicheskie sredstva reabilitatsii lyudey s ogranicheniyami zhiznedeyatel'nosti.* Klassifikatsiya. M.: Rossiyskiy institut standartizatsii, 2007; 114 p. Russian.
- GOST R 51819-2022. *Protezirovaniye i ortezirovaniye verkhnikh i nizhnikh konechnostey. Terminy i opredeleniya.* M.: Rossiyskiy institut standartizatsii, 2022; 20 p. Russian.
- GOST R 59181-2022. *Sredstva individual'noy zashchity oporno-dvigatel'nogo apparata. Ekzoskelety promyshlennyye.* Klassifikatsiya. Terminy i opredeleniya. M.: Rossiyskiy institut standartizatsii, 2022; 8 p. Russian.
- Zhang H, Li X, Gong Y, Wu J, Chen J, Chen W, et al. Three-Dimensional Gait Analysis and sEMG measures for robotic-assisted gait training in subacute stroke: a randomized controlled trial. *Biomed Res Int.* 2023; 2023: 7563802. DOI: 10.1155/2023/7563802. PMID: 37082189. PMCID: PMC10113045.
- Gassert R, Dietz V. Rehabilitation robots for the treatment of sensorimotor deficits: a neurophysiological perspective. *J Neuroeng Rehabil.* 2018; 15 (1): 46. DOI: 10.1186/s12984-018-0383-x. PMID: 29866106. PMCID: PMC5987585.

29. Baniqued PDE, Stanyer EC, Awais M, Alazmani A, Jackson AE, Mon-Williams MA, et al. Brain-computer interface robotics for hand rehabilitation after stroke: a systematic review. *J Neuroeng Rehabil.* 2021; 18 (1): 15. DOI: 10.1186/s12984-021-00820-8. PMID: 33485365. PMCID: PMC7825186.
30. Du Plessis T, Djouani K, Oosthuizen C. A review of active hand exoskeletons for rehabilitation and assistance. *Robotics.* 2021; 10: 42. DOI: 10.3390/robotics10010040.
31. Sun Y, Yuntao T, Zheng J, Dong D, Chen X, Bai L. From sensing to control of lower limb exoskeleton: a systematic review. *Annual Reviews in Control.* 2022; 53. DOI: 10.1016/j.arcontrol.2022.04.003.
32. Wu H, Li L, Li L, Liu T, Wang J. Review of comprehensive intervention by hand rehabilitation robot after stroke. *Sheng Wu Yi Xue Gong Cheng Xue Za Zhi.* 2019; 36 (1): 151–6. DOI: 10.7507/1001-5515.201711024. PMID: 30887790. PMCID: PMC9929888.
33. Spencer J, Wolf SL, Kesar TM. Biofeedback for post-stroke gait retraining: a review of current evidence and future research directions in the context of emerging technologies. *Front Neurol.* 2021; 12: 637199. DOI: 10.3389/fneur.2021.637199. PMID: 33859607. PMCID: PMC8042129.
34. Ang K, Chin Z, Zhang H, Guan C. Filter Bank Common Spatial Pattern (FBCSP) in brain-computer interface. *Proceedings of the International Joint Conference on Neural Networks; 2008 June 1–8; Hong Kong, China; p. 2390–7.* DOI: 10.1109/IJCNN.2008.4634130.
35. Osokin AA. Submodulyarnaya relaksatsiya v zadache minimizatsii energii markovskogo sluchaynogo polya [dissertation]. M., 2014. Russian.
36. Thomas BE, John SK, Abe S. Power Spectral Density (PSD) Computation using Modified Welsh Method. *Int J Sci Technol Engeneer.* 2015; 2 (4): 145–52.
37. Kostenko EV, Petrova LV, Pogonchenkova IV, Neprintseva NV, Shurupova ST, Kopysheva VD, et al. Innovative technologies and multimodal correction in medical rehabilitation of motor and neuropsychiatric disorders due to stroke. *Questions of balneology, physiotherapy and physical therapy.* 2022; 99 (6): 67–78. DOI: 10.17116/kurort20229906167. Russian.
38. Assis G, Brandao A, Corrêa AG, Castellano G. Characterization of functional connectivity in chronic stroke subjects after augmented reality training. *Virtual Worlds.* 2023; 2 (1): 1–15. DOI: 10.3390/virtualworlds2010001.
39. Sota K, Uchiyama Y, Ochi M, Matsumoto S, Hachisuka K, Domen K. Examination of factors related to the effect of improving gait speed with functional electrical stimulation intervention for stroke patients. *PM R.* 2018; 10 (8): 798–805. DOI: 10.1016/j.pmrj.2018.02.012. PMID: 29518588.
40. Jaqueline da Cunha M, Rech KD, Salazar AP, Pagnussat AS. Functional electrical stimulation of the peroneal nerve improves post-stroke gait speed when combined with physiotherapy. A systematic review and meta-analysis. *Ann Phys Rehabil Med.* 2021; 64 (1): 101388. DOI: 10.1016/j.rehab.2020.03.012. PMID: 32376404.
41. Cardoso LRL, Bochekezanian V, Forner-Cordero A, Melendez-Calderon A, Bo APL. Soft robotics and functional electrical stimulation advances for restoring hand function in people with SCI: a narrative review, clinical guidelines and future directions. *J Neuroeng Rehabil.* 2022; 19 (1): 66. DOI: 10.1186/s12984-022-01043-1. PMID: 35773733. PMCID: PMC9245887.
42. Zulauf-Czaja A, Al-Taleb MKH, Purcell M, Petric-Gray N, Cloughley J, Vuckovic A. On the way home: a BCI-FES hand therapy self-managed by sub-acute SCI participants and their caregivers: a usability study. *J Neuroeng Rehabil.* 2021; 18 (1): 44. DOI: 10.1186/s12984-021-00838-y. PMID: 33632262. PMCID: PMC7905902.
43. Meng Q, Zeng Q, Xie Q, Fei C, Kong B, Lu X, et al. Flexible lower limb exoskeleton systems: A review. *NeuroRehabilitation.* 2022; 50 (4): 367–90. DOI: 10.3233/NRE-210300. PMID: 35147568.
44. Hussain F, Goecke R, Mohammadian M. Exoskeleton robots for lower limb assistance: A review of materials, actuation, and manufacturing methods. *Proc Inst Mech Eng H.* 2021; 235 (12): 1375–85. DOI: 10.1177/09544119211032010. PMID: 34254562.
45. Su D, Hu Z, Wu J, Shang P, Luo Z. Review of adaptive control for stroke lower limb exoskeleton rehabilitation robot based on motion intention recognition. *Front Neurobot.* 2023; 17: 1186175. DOI: 10.3389/fnbot.2023.1186175. PMID: 37465413. PMCID: PMC10350518.
46. Klochkov AS, Zimin AA, Khizhnikova AE, Suponeva NA, Piradov MA. Effect of robot-assisted gait training on biomechanics of ankle joint in patients with post-stroke hemiparesis. *Bulletin of RSMU.* 2020; 5: 47–57. DOI: 10.24075/vrgmu.2020.066. Russian.
47. Suarez-Escobar M, Rendon-Velez E. An overview of robotic/mechanical devices for post-stroke thumb rehabilitation. *Disabil Rehabil Assist Technol.* 2018; 13 (7): 683–703. DOI: 10.1080/17483107.2018.1425746. PMID: 29334274.

ОЦЕНКА РЕАБИЛИТАЦИИ ДЕТЕЙ-РЕКОНВАЛЕСЦЕНТОВ ПОСЛЕ ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Е. В. Мельникова^{1,2}, Н. М. Хасанова^{1,3}✉, Н. В. Скрипченко^{1,4}¹ Детский научно-клинический центр инфекционных болезней Федерального медико-биологического агентства, Санкт-Петербург, Россия² Санкт-Петербургский медико-социальный институт, Санкт-Петербург, Россия³ Северный государственный медицинский университет, Архангельск, Россия⁴ Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет, Санкт-Петербург, Россия

Особенность медицинской реабилитации детей состоит в том, что последствия заболевания могут ограничивать развитие активностей растущего ребенка, поэтому необходимы повторные курсы реабилитации или абилитации, где каждый последующий курс — это продолжение предыдущего. Задача специалиста — выявить показания к реабилитации. В статье представлены феноменология и способы диагностики нарушений активности и участия у детей-реконвалесцентов после перенесенных инфекционных заболеваний для постановки целей реабилитации в доменах (категориях) Международной классификации функционирования, ограничений жизнедеятельности и здоровья. Рассмотрено применение метода оценки активности и участия как со стороны ребенка, так и со стороны родителя или опекуна. Статья содержит информацию, полезную для специалистов, занимающихся вопросами реабилитации детей после инфекционных заболеваний.

Ключевые слова: дети, реабилитация, инфекционные заболевания, МКФ, активность и участие

Благодарности: авторы благодарят Марию Щепочкину из Северного государственного медицинского университета (Архангельск, Россия) за помощь в сборе данных.

Вклад авторов: Н. В. Скрипченко — разработка концепции, постановка ключевых целей и задач; Е. В. Мельникова — формирование идеи, написание и редактирование текста, утверждение окончательного варианта статьи; Н. М. Хасанова — сбор данных, написание и редактирование текста, утверждение окончательного варианта статьи.

✉ **Для корреспонденции:** Нина Минувалиевна Хасанова
ул. Профессора Попова, д. 9, г. Санкт-Петербург, 197022, Россия; khasanovanina@rambler.ru

Статья получена: 14.08.2023 **Статья принята к печати:** 19.09.2023 **Опубликована онлайн:** 09.11.2023

DOI: 10.47183/mes.2023.045

ASSESSING REHABILITATION OF CONVALESCENT CHILDREN AFTER INFECTIOUS DISEASES

Melnikova EV^{1,2}, Khasanova NM^{1,3}✉, Skripchenko NV^{1,4}¹ Pediatric Research and Clinical Center for Infectious Diseases of the Federal Medical Biological Agency, Saint Petersburg, Russia² Saint Petersburg Medical and Social Institute, Saint Petersburg, Russia³ Northern State Medical University, Arkhangelsk, Russia⁴ Saint Petersburg State Pediatric Medical University, Saint Petersburg, Russia

The fact that the disease sequelae can limit the development of the growing child's activity is the feature of pediatric medical rehabilitation, that is why there is a need for repeated courses of rehabilitation or habilitation, where each subsequent course is a continuation of the previous one. The specialist's mission is to determine indications for rehabilitation. The paper reports phenomenology and methods to diagnose abnormal activity and participation in convalescent children after infectious diseases in order to set the rehabilitation goals in the International Classification of Functioning, Disability and Health domains (categories). The use of method to estimate activity and participation from the point of view of both child and parent or caregiver is considered. The paper provides information useful for specialists dealing with the issues of rehabilitation of children after infectious diseases.

Keywords: children, rehabilitation, infectious diseases, ICF method, activity and participation

Acknowledgments: the authors would like to express their gratitude to Maria Schepochkina, Northern State Medical University (Arkhangelsk, Russia), for assistance in data acquisition.

Author contribution: Skripchenko NV — developing the concept, setting the main goals and objectives; Melnikova EV — developing the idea, manuscript writing and editing, approval of the final version of the article; Khasanova NM — data acquisition, manuscript writing and editing, approval of the final version of the article.

✉ **Correspondence should be addressed:** Nina M. Khasanova
Professora Popova, 9, Saint Petersburg, 197022, Russia; khasanovanina@rambler.ru

Received: 14.08.2023 **Accepted:** 19.09.2023 **Published online:** 09.11.2023

DOI: 10.47183/mes.2023.045

Особенностью медицинской реабилитации детей является сочетание роста и развития ребенка с развитием активностей и формированием навыков с одной стороны и инвалидизирующим состоянием с другой. В детской реабилитации также важна продуктивная коммуникация с ребенком и его родителями, поскольку семья и ближайшие родственники, физическое окружение имеют огромное значение для развития ребенка.

Современная медицинская реабилитация существенно изменилась и динамично развивается. Сейчас, как

никогда, важны осмысление и отработка тактических приемов реабилитации, в том числе и в области детской инфектологии [1, 2].

Значение и возможности МКФ

Международная классификация функционирования, ограничений жизнедеятельности и здоровья (МКФ) описывает функциональное здоровье как взаимодействие между физическим или психическим состоянием человека

(уровень функций и структур тела) и его способностью справляться с повседневной деятельностью (уровень активности), а также его вовлеченность в жизненные ситуации (уровень участия). Принято считать, что функционирование и инвалидность человека, включая его/ее участие, возникают в результате взаимодействия между состоянием здоровья и факторами контекста или окружающей среды (такими как качество воздуха, доступность окружающей среды, отношения со сверстниками, доступность услуг и т. д.) и личными факторами (такими как возраст, пол, ценности, убеждения, образ жизни и т. д.) [3]. Таким образом, течение заболевания и функционирование рассматривают как интерактивные и развивающиеся процессы, на которые можно воздействовать на любом из этих уровней посредством понимания и изменения человеческого поведения. Четкая и связанная с функционированием реабилитационная цель повышает мотивацию и приводит к значимому улучшению результатов. В педиатрической реабилитации сейчас широко пропагандируют совместную постановку цели как часть семейно-ориентированного подхода, при этом акцент смещается с уровня структур и функций организма на расширение активности и участия детей в повседневной деятельности [4].

В соответствии с МКФ, на здоровье человека влияют личные факторы и факторы окружающей среды, которые выходят за рамки анатомии и физиологии. Буквенно-цифровая система используется для обозначения домена МКФ и дальнейшего разделения каждого домена на категории, обеспечивая исчерпывающий список ограничений жизнедеятельности и создавая стандартную концептуальную основу для классификации компонентов здоровья и инвалидности [5]. Однако такая полнота и обширная структура кодирования МКФ (МКФ в состоянии описать любые отклонения в состоянии здоровья) до известной степени ограничивала ее применение в повседневной клинической практике [6].

Участие с позиций МКФ означает участие в жизненных ситуациях и деятельности [7]. Участие происходит в среде, где человек живет, работает и играет. Важно помнить, что именно участие в различных жизненных ситуациях и повседневной деятельности рассматривают как конечный продукт реабилитации людей с ограниченными возможностями любого возраста. Исходя из определения участия в МКФ, необходимо использовать комплексные инструменты оценки, которые могут быть адаптированы к существующей в сообществе культуре и использованы для оценки участия детей в различных жизненных ситуациях.

Современные инструменты оценки участия детей

Среди современных инструментов, измеряющих участие детей в значимой деятельности, можно назвать «Оценку участия и удовольствия детей» (CAPE) [8], «Сортировку карт детской активности» (PACS) [9], «Опросник участия детей» (CPQ) [10] и Life-Habit [11]. Перечисленные инструменты не включают все сферы деятельности. Например, часто используемая шкала CAPE имеет хорошие психометрические характеристики у детей с инвалидностью и без нее, оценивает участие в значимых мероприятиях в областях досуга или игры. Эта шкала не может оценить участие в таких областях, как повседневная деятельность, инструментальная деятельность, повседневная жизнь и отдых/сон. Таким образом, есть два варианта оценки

участия детей в значимой деятельности: либо с помощью комбинации нескольких шкал/инструментов (CAPE, PACS и т. д.), либо применение инструмента, который всесторонне оценивает участие в различных жизненных ситуациях [12].

Участие — это многомерная конструкция, на которую влияют многие факторы (например, пол, возраст и исполнительские навыки), а также факторы окружающей среды (например, доступность, социальный и экономический статус). Принимая во внимание определение участия, приведенное в МКФ, и тот факт, что участие считается конечным результатом реабилитации людей с ограниченными возможностями [13], важно тщательно, должным образом оценивать участие в различных аспектах жизни с использованием инклюзивных и комплексных инструментов для постановки цели, реализации программы лечения и оценки эффективности вмешательств [14].

Значение контакта с родителями в детской реабилитации

В детской реабилитации фундаментом успешной работы является полноценный контакт с родителями и вовлечение их в реабилитационную работу — в частности, в постановку цели реабилитации. Однако данные литературы свидетельствуют о том, что врачи, стараясь определить цели пациента и семьи, зачастую устанавливают цели, не отражающие предпочтения пациента или лица, осуществляющего уход. Часто пациенты рассматривают постановку цели как некое имплицитное соглашение между врачом и пациентом. Порой семья и пациент не знают о целях реабилитации [14], тогда как совместная постановка цели позволяет пациенту и его семье обозначить свои интересы и помочь в разработке плана реабилитации [15]. Совместная постановка цели и задач у взрослых связана с усилением мотивации пациентов и улучшением результатов лечения. В педиатрической же популяции ресурсом оказалось повышение компетентности лиц, осуществляющих уход в процессе совместной постановки цели [4].

Опыт работы врачей физической и реабилитационной медицины (ФРМ) показывает, что родители часто чувствуют дискомфорт при постановке целей для детей раннего возраста из-за отсутствия знаний о состоянии и доступных реабилитационных вмешательствах [16]. В этих случаях родители могут полагаться на опыт врача для определения достижимых и значимых целей, что, вообще говоря, ограничивает глубину сотрудничества пациента и его семьи. В других случаях врачи ФРМ могут чувствовать себя более комфортно при использовании упрощенных методологий постановки целей, в которых не участвуют пациент и лицо, осуществляющее уход. Порой практики ставят под сомнение способность пациента и семьи ставить реалистичные цели [17]. Однако по данным литературных источников понимание целей реабилитации лицами, осуществляющими уход, улучшается, когда цели совместно определяют пациент, семья и врач [18]. Более того, данные показывают, что лица, осуществляющие уход, и врачи часто имеют разные взгляды на положительную динамику процесса реабилитации, что подчеркивает важность совместной модели постановки целей с акцентом на МКФ, гарантирующей, что цели останутся значимыми для пациента и его семьи [6].

Определение цели реабилитации в детской практике

Обычно реабилитационную цель определяют до начала курса реабилитации. Во время встречи реабилитологи спрашивают пациента и его семью: «Что для вас важнее всего?» и «Чего бы вы хотели, чтобы мы помогли вам достичь?». Из выявленных доменов МКФ выбирают 3–5 наиболее важных. На их основе устанавливают цель по принципу SMART (т. е. конкретную, измеряемую, достижимую, реалистичную и определенную во времени).

Ограничения в постановке реабилитационных целей в доменах «активности и участия» у детей с пятилетнего возраста можно преодолеть путем использования опросника CASP.

Шкала участия детей и подростков (CASP) измеряет степень участия детей в деятельности дома, в школе и в обществе по сравнению с детьми того же возраста [19, 20]. Она была разработана как часть программы Child and Family Follow-up Survey для мониторинга результатов и потребностей детей с травматическими и другими приобретенными повреждениями мозга. Содержание и методы, используемые в CASP, основаны на МКФ [7], позволили проводить исследования, направленные на оценку участия детей/молодежи с различными видами хронических заболеваний, включая инвалидирующие, а также оценку факторов среды, физического и социального окружения, которые поддерживают или препятствуют функционированию.

Возможности шкалы участия детей и подростков CASP

Несмотря на определенные ограничения CASP остается очень кратким, относительно простым в заполнении инструментом, который предлагает хороший охват на уровне доменов «активности и участия». Из-за своей краткости и простоты он полезен в клинической практике, а также для оценки программ и популяционных исследований.

При этом CASP является одним из очень немногих показателей активности и участия дома, в школе и в обществе для детей и молодежи с хроническими заболеваниями/инвалидностью, который может быть применен как для родителей, так и для детей.

CASP состоит из 20 пунктов с порядковой шкалой и четырех подразделов: 1) «Домашнее участие» (6 пунктов), 2) «Участие в жизни общества» (4 пункта), 3) «Участие в жизни школы» (5 пунктов) и 4) «Жизнедеятельность дома и в обществе» (5 пунктов). Двадцать пунктов оценивают по четырехбалльной шкале: «Ожидаемый результат к возрасту» (в субшкале — «Полное участие»), «Несколько ограничено», «Очень ограничено», «Невозможно» (в субшкале — «Не в состоянии»). Ответ «Неприменимо» выбирают в том случае, если пункт отражает деятельность, в которой ребенок не должен участвовать в силу возраста (например, работа).

Большинство пунктов применимо к детям от пяти лет и старше, поэтому предложено использовать CASP для детей начиная со старшего дошкольного возраста.

Каждый пункт CASP рассматривает широкий аспект деятельности или жизненной ситуации. Пункт, подраздел, и общий суммарный балл могут быть использованы в исследованиях и практике. Более высокие баллы отражают более активное участие в жизни общества в соответствии с возрастными ожиданиями. CASP также содержит открытые вопросы об эффективных стратегиях

и поддержке, а также о препятствиях, влияющих на участие (протокол CASP приведен в приложении).

CASP можно использовать для планирования отдельных вмешательств, оценки эффективности реабилитации, а также для проведения исследований. В CASP не входят демографические данные, поэтому требуется дополнительная демографическая информация (например, возраст, пол, тип инвалидности, учреждение, географическое положение, время с момента постановки диагноза).

CASP перевели на разные языки. Для проведения CASP требуется около 10 мин. Специалисты, использующие CASP для своих целей, должны знать содержание и шкалы оценок, используемые в CASP, ключевые понятия, которые подлежат оценке (в частности, «участие» и «факторы окружающей среды»), как они определены в МКФ [7, 21]. Возможно также самостоятельное заполнение опросника (лично или по электронной почте) как ребенком, имеющим соответствующий навык, так и родителем, а также проведение интервью специалистом лично или по телефону.

Анализ первоисточников предполагает, что версия CASP для самоотчетов детей является многообещающей с точки зрения оценки активности и участия ребенка — как перенесшего острое заболевание, так и имеющего хронические заболевания/инвалидность. Опросник, по-видимому, примерно одинаково ранжирует активность и участие, чтобы оправдать использование только опроса ребенка, когда основной интерес постановки целей реабилитации касается работы с пациентом, или родительского отчета, когда отчеты детей невозможны (например, из-за когнитивных ограничений подростка), или параллельное использование, когда важно понять нюансы различий между точками зрения родителей и детей [22].

Несмотря на то что дети лучше знают о своей роли в активности и участии дома, в школе и в обществе различия между отчетами родителей и детей вряд ли указывают на то, выполнено ли исследование правильно или неправильно. Они скорее отражают представления каждого человека о здоровье, функционировании и благополучии ребенка. Очевидно, что точка зрения как ребенка, так и родителя важна для выбора реабилитационного вмешательства или организационных мероприятий. CASP представляет собой интересный и перспективный специфический инструмент оценки активности и участия детей с разными заболеваниями ввиду отмеченных ранее исследователями [21, 22] корреляций нарушений, выявленных по результатам родительского отчета, и определенных видов заболеваний. Для будущих исследований может быть полезным более внимательно изучить эти корреляции, используя более крупные выборки по каждому заболеванию/инвалидности — например, по наиболее распространенным инфекционным болезням, занимающим до 90% среди причин заболеваемости детей до 14-летнего возраста [23].

Особенности реабилитации детей с инфекционной патологией

Известно, что до 50% всех случаев инвалидности у детей связаны с инфекционной патологией, а в структуре летальности детей первого года жизни на инфекционные болезни приходится около 70% [24–26]. Специалисты РФ неоднократно и подробно поднимали вопрос проблем организации медицинской реабилитации детей с заболеваниями инфекционного характера в связи

с возможностью развития у них стойких и выраженных остаточных явлений [27–29].

Мировые данные свидетельствуют о МКФ-ориентированных подходах к организации и проведению реабилитационного лечения детей с инфекционными заболеваниями. Результаты демонстрируют значительную неоднородность целей реабилитации и подчеркивают, что цели необходимо оценивать индивидуально для каждого ребенка, независимо от состояния здоровья или таких факторов, как возраст или функциональная независимость [4]. Кроме того, исследования, имеющие организационную и практическую ценность, основаны на использовании как постановки реабилитационного диагноза в доменах МКФ, так и вспомогательных опросников.

Так, исследование, посвященное реабилитации детей, выживших после бактериального менингита (БМ), показало, что дети часто страдают от снижения качества жизни, связанного с инвалидизирующими последствиями. Авторы стремились оценить качество жизни, связанное со здоровьем (HRQOL — Health-Related Quality of Life), и влияние неврологических и слуховых осложнений у детей, перенесших БМ, используя инструмент Pediatric Quality of Life Inventory (PedsQL) для выявления различий в HRQOL между пациентами и контрольной группой. По результатам исследования выжившие пациенты набрали значительно более низкие баллы, чем контрольные, согласно отчетам PedsQL доверенных родителей, что указывает на более низкое качество жизни (физическое здоровье: 82,5 против 100, $p = 0,001$; психосоциальное здоровье: 80 против 90, $p = 0,005$; общий балл: 82,61 против 93, $p = 0,004$), в то время как в самоотчетах детей в PedsQL не было различий между случаями и контролем. Во всех классах «Шкалы исходов Глазго» случаи значительно отличались от контрольной группы в части отчетности PedsQL по доверенности родителей с общим баллом 84,21 (легкая/отсутствие инвалидности), 43,54 (умеренная инвалидность) и 55,56 (тяжелая инвалидность), в то время как контрольная группа набрала 91,3 балла ($p = 0,04$, $p = 0,02$ и $p < 0,001$ соответственно). Родители считают, что качество жизни выживших после БМ ухудшается независимо от наличия или отсутствия инвалидности. Всеми выжившим после БМ необходимо обеспечить наблюдение и, при необходимости, своевременную реабилитацию [30].

Чрезвычайно интересно исследование, целью которого было изучить взгляды и восприятие родителей применительно к потребностям их детей с врожденным вирусом Зика, используя критерии МКФ [31].

Результаты исследования показали, что, хотя родители действительно сосредоточились на вопросах, связанных с двигательными способностями их детей, в целом их внимание было сосредоточено на факторах окружающей среды. Эти факторы включали в себя услуги, системы и политику профилактики и лечения детей, а также факторы, которые позволили бы вести здоровый образ жизни, способствовать физическому и психологическому благополучию и социальному статусу детей. При этом, в силу раннего возраста заболевших детей, коррекция целей реабилитации должна быть проведена позже, когда у детей появится возможность выразить свое мнение [32].

Важности системного подхода к определению всех факторов, влияющих на эффект реабилитации, а также влияния времени на естественный ход выздоровления после перенесенного острого энцефалита посвящено следующее исследование [33]. В работе использованы пять часто используемых показателей функционального

исхода у пациентов с неврологическими нарушениями или инвалидностью, в том числе показатель функциональной независимости для детей (WeeFIM — The Functional Independence Measure for Children), расширенная оценка результатов Глазго (GOS-E-Glasgow Outcome Scale-Extended), модифицированная шкала Рэнкина, Международная классификация функций (МКФ) и Ливерпульская оценка результатов. Компоненты WeeFIM, полученные при обследовании пациентов, включали в себя оценку помощи, необходимой при перемещении, повседневной деятельности, контроля мочевого пузыря и кишечника, потребности в средствах передвижения, способности общаться и познания. Клинически значимые домены МКФ включали в себя степень трудности переноса тела в пространстве, удержания сидячего положения, количество сна, поддержание сна, достаточность сна, тонус всех мышц тела, непроизвольные сокращения мышц и наличие генерализованной боли.

Базовые наборы МКФ для детской реабилитации

Как известно, МКФ включает в себя 1685 категорий, что представляет собой значительную сложность для надежного выбора цели при клинической работе. Основные наборы МКФ (т. е. краткий список категорий МКФ, считающихся наиболее подходящими для человека с определенным состоянием здоровья) в некоторой степени смягчили эту проблему. Базовые наборы разрабатывают в ходе научного процесса, в котором участвуют исследователи, врачи и лица, осуществляющие уход, или пациенты со всего мира. В настоящее время существуют только три основных набора МКФ для детей и молодежи с дебютом инвалидности в детском возрасте. Основные наборы были разработаны для детского церебрального паралича (ДЦП) [34]; расстройства аутистического спектра (РАС) [35]; и синдрома дефицита внимания с гиперактивностью (СДВГ) [36]. Общие краткие наборы данных представляют собой минимальный международный стандарт для оценки и описания функционирования в любом возрасте с использованием наименьшего возможного числа категорий [37]. Несмотря на то что базовые наборы сократили число категорий МКФ для конкретного диагноза, проблемы с клинической реализацией сохраняются. Например, базовый набор МКФ для СДВГ включает 111 категорий, а общий краткий набор для СДВГ использует 73–81 категорию в зависимости от возрастного диапазона [36].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Использование данных опросника CASP для оценки активности и участия ребенка (детская и родительская версия) позволит существенно облегчить как формирование реабилитационного диагноза на основе МКФ, так и процессы целеполагания и оценки эффективности реабилитационного вмешательства. Широкое применение универсальной информации на основе МКФ мультидисциплинарными реабилитационными командами, вовлечение членов семей и детей с инфекционными заболеваниями в процесс целеполагания, формирование реабилитационного плана и его дальнейшее претворение в жизнь будут способствовать достижению оптимального уровня участия в домашней, школьной и общественной жизни. Опросник CASP в этом случае является тем самым новым и при этом достаточно простым и эффективным инструментом для решения указанных задач.

Литература

1. Лобзин Ю. В., Захаров В. И. Медицинская реабилитация инфекционных больных и динамический контроль за переболевшими. СПб.: Изд-во СЗГМУ имени И. И. Сеченова; 2015. 184 с.
2. Мельникова Е. В., Хасанова Н. М., Чупрова С. Н., Усков А. Н., Скрипченко Н. В., Самойлова И. Г. и др. Медицинская реабилитация и инфекционные болезни у детей. Медицина экстремальных ситуаций. 2021; (4): 55–64. DOI: 10.47183/mes.2021.043.
3. McDougall J, Bedell G, Wright V. The youth report version of the Child and Adolescent Scale of Participation (CASP): assessment of psychometric properties and comparison with parent report. *Child Care Health Dev.* 2013; 39 (4): 512–22. DOI: 10.1111/cch.12050. PubMed PMID: 23763252.
4. Rast FM, Labruyère R. ICF mobility and self-care goals of children in inpatient rehabilitation. *Dev Med Child Neurol.* 2020; 62 (4): 483–8. DOI: 10.1111/dmcn.14471. PubMed PMID: 31984500.
5. Шмони А. А., Мальцева М. Н., Мельникова Е. В., Иванова Г. Е. Базовые принципы медицинской реабилитации, реабилитационный диагноз в категориях МКФ и реабилитационный план. *Вестник восстановительной медицины.* 2017; 2 (78): 16–22.
6. Angeli JM, Schwab SM, Huijs L, Sheehan A, Harpster K. ICF-inspired goal-setting in developmental rehabilitation: an innovative framework for pediatric therapists. *Physiother Theory Pract.* 2021; 37 (11): 1167–76. DOI: 10.1080/09593985.2019.1692392. PubMed PMID: 31766925.
7. Международная классификация функционирования, ограничений жизнедеятельности и здоровья: 54-я сессия ассамблеи Всемирной Организации Здравоохранения 22 мая 2001 года. Библиотечная служба ВОЗ. Санкт-Петербургский институт усовершенствования врачей-экспертов Министерства труда и социального развития Российской Федерации, 2003; 228 с.
8. King G, Law M, King S, Hurley P, Rosenbaum P, Hanna S, et al. Children's Assessment of Participation and Enjoyment (CAPE) and preference for activities for children (PAC) Harcourt Assessment. San Antonio, TX: Harcourt Assessment, Inc., 2004.
9. Mandich AD, Polatajko HJ, Miller LT, Baum C. *Pediatric Activity Card Sort (PACS)*. Ottawa, Canada: CAOT Publications ACE., 2004.
10. Rosenberg L, Jarus T, Bart O. Development and initial validation of the children participation questionnaire (CPQ). *Disability and Rehabilitation.* 2010; (32): 1633–44. DOI: <https://doi.org/10.3109/09638281003611086>.
11. Noreau L, Fougereyrollas P, Vincent C. The LIFE-H: Assessment of the quality of social participation. *Technology and Disability.* 2002; 14 (3): 113–8. DOI: <https://doi.org/10.1080/09638280410001658649>.
12. Amini M, Hassani Mehraban A, Pashmdarfard M, Cheraghifard M. Reliability and validity of the Children Participation Assessment Scale in Activities Outside of School–Parent version for children with physical disabilities. *Aust Occup Ther J.* 2019; 66 (4): 482–9. DOI: 10.1111/1440-1630.12569. PubMed PMID: 30697766.
13. Adair B, Ullenhag A, Keen D, Granlund M, Imms C. The effect of interventions aimed at improving participation outcomes for children with disabilities: a systematic review. *Dev Med Child Neurol.* 2015; 57 (12): 1093–104. DOI: 10.1111/dmcn.12809. PubMed PMID: 26010935.
14. Amini M, Hassani Mehraban A, Haghani H, Mollazade E, Zaree M. Factor structure and construct validity of Children Participation Assessment Scale in Activities Outside of School–Parent Version (CPAS-P). *Occup Ther Health Care.* 2017; 31 (1): 44–60. DOI: 10.1080/07380577.2016.1272733. PubMed PMID: 28139181.
15. Gallo KP, Hill LC, Hoagwood KE, Olin SC. A narrative synthesis of the components of and evidence for patient- and family-centered care. *Clin Pediatr (Phila).* 2016; 55 (4): 333–46. DOI: 10.1177/0009922815591883. PubMed PMID: 26116351; PMCID: PMC5555419.
16. Wiart L, Ray L, Darrah J, Magill-Evans J. Parents' perspectives on occupational therapy and physical therapy goals for children with cerebral palsy. *Disabil Rehabil.* 2010; 32 (3): 248–58. DOI: 10.3109/09638280903095890. PubMed PMID: 20001831.
17. Baker SM, Marshak HH, Rice GT, Zimmerman GJ. Patient participation in physical therapy goal setting. *Phys Ther.* 2001; 81 (5): 1118–26. PubMed PMID: 11319937.
18. Angeli JM, Harpster K, Huijs L, Seid M, Sheehan A, Schwab SM. Patient-centered goal setting in developmental therapy: discordance between documented goals and caregiver-perceived goals. *Pediatr Qual Saf.* 2019; 4 (4): e199. DOI: 10.1097/pq9.000000000000199. PubMed PMID: 31572900; PMCID: PMC6708649.
19. Bedell GM. Developing a follow-up survey focused on participation of children and youth with acquired brain injuries after discharge from inpatient rehabilitation. *NeuroRehabilitation.* 2004; 19 (3): 191–205. PubMed PMID: 15502253.
20. Bedell G. Further validation of the Child and Adolescent Scale of Participation (CASP). *Dev Neurorehabil.* 2009; 12 (5): 342–51. DOI: 10.3109/17518420903087277. PubMed PMID: 20477563.
21. Bedell G, Ph.D., OTR, FAOTA. The Child and Adolescent Scale of Participation (CASP). Administration and Scoring Guidelines. 2019; p. 1–16.
22. Christie S, Chan V, Mollayeva T, Colantonio A. Systematic review of rehabilitation intervention outcomes of adult and paediatric patients with infectious encephalitis. *BMJ Open.* 2018; 8 (5): 1–18. DOI: 10.1136/bmjopen-2017-015928. PubMed PMID: 29764868; PMCID: PMC5961616.
23. Лобзин Ю. В., Коновалова Л. Н., Скрипченко Н. В. Состояние инфекционной заболеваемости у детей в Российской Федерации. *Медицина экстремальных ситуаций.* 2017; 60 (2): 8–22.
24. Лобзин Ю. В., Рычкова С. В., Усков А. Н., Скрипченко Н. В., Федоров В. В. Современные тенденции инфекционной заболеваемости у детей в Российской Федерации. *Кубанский научный медицинский вестник.* 2020; 27 (4): 119–33.
25. Скрипченко Н. В., Пронина Е. В., Лепихина Т. Г., Владимирова О. Н., Иванова М. В., Гончар Н. В. и др. Медицинская реабилитация детей-реконвалесцентов инфекционных заболеваний в свете представлений Международной классификации функционирования, ограничений жизнедеятельности и здоровья. *Педиатр.* 2015; VI (3): 41–7.
26. Самойлова И. Г. Прошлое, настоящее и будущее в реабилитации детей, перенесших нейроинфекции. *Детская и подростковая реабилитация.* 2018; 2 (34): 19–26.
27. Самойлова И. Г. Экономическая эффективность реабилитации детей после нейроинфекций. *Вятский медицинский вестник.* 2019; 1 (61): 64–6.
28. Мельникова Е. В., Хасанова Н. М., Шергольд Е. Ю., Кудрявцев А. В., Лепихина Т. Г., Усков А. Н. и др. Реабилитационная оценка при инфекционных заболеваниях нижних дыхательных путей у детей с использованием категорий международной классификации функционирования. *Физическая и реабилитационная медицина, медицинская реабилитация.* 2022; 4 (4): 67–77.
29. Маматова Д. М. Медицинская реабилитация в период выздоровления после инфекционных заболеваний. *Вестник науки.* 2021; 2 (4-37): 81–4.
30. Rugemalira E, Karppinen M, Savonius O, Cruzeiro ML, Peltola H, Roine I, et al. Health-related quality of life after childhood bacterial meningitis. *Pediatr Infect Dis J.* 2021; 40 (11): 987–92. DOI: 10.1097/INF.0000000000003243. PubMed PMID: 34321441.
31. Ferreira HNC, Schiariti V, Regalado ICR, Sousa KG, Pereira SA, Fachine CPNDS, et al. Functioning and disability profile of children with microcephaly associated with congenital Zika virus infection. *Int J Environ Res Public Health.* 2018; 15 (6): 1107. DOI: 10.3390/ijerph15061107. PubMed PMID: 29844290; PMCID: PMC6025082.
32. Campos TNC, Schiariti V, Gladstone M, Melo A, Tavares JS, Magalhães AG, et al. How congenital Zika virus impacted my child's functioning and disability: a Brazilian qualitative study guided by the ICF. *BMJ Open.* 2020; 10 (12): e038228. DOI: 10.1136/bmjopen-2020-038228. PubMed PMID: 33268403; PMCID: PMC7713226.

33. Teo JH, Shabhani S, Qiao F, Ng ZM, Chan DW. Comparison of functional outcome scales in paediatric acute encephalitis: Responsiveness and outcome predictors. *J Pediatr Rehabil Med*. 2022; 15 (2): 289–98. DOI: 10.3233/PRM-200706. PubMed PMID: 34744032.
34. Schiariiti V, Selb M, Cieza A, O'Donnell M. International Classification of Functioning, Disability and Health core sets for children and youth with cerebral palsy: A consensus meeting. *Dev Med Child Neurol*. 2015; (57): 149–58. DOI: doi.org/10.1111/dmcn.12551.
35. Bölte S, Mahdi S, de Vries PJ, Granlund M, Robison JE, Shulman C, et al. The Gestalt of functioning in autism spectrum disorder: Results of the international conference to develop final consensus International Classification of Functioning, Disability and Health core sets. *Autism*. 2019; 23 (2): 449–67. DOI: 10.1177/1362361318755522. PubMed PMID: 29378422; PMID: PMC6376609.
36. Bölte S, Mahdi S, Coghill D, Gau SS, Granlund M, Holtmann M, et al. Standardised assessment of functioning in ADHD: consensus on the ICF Core Sets for ADHD. *Eur Child Adolesc Psychiatry*. 2018; 27 (10): 1261–81. DOI: 10.1007/s00787-018-1119-y. PubMed PMID: 29435654.
37. Petyushkin P, Selb M, Cieza A. ICF core sets. In: Bickenbach J, Cieza A, Rauch A, Stucki G, editors. *ICF Core Sets: Manual for Clinical Practice*. Hogrefe Publishing, 2012; p. 1–21.

References

1. Lobzin JuV, Zaharov VI. Medicinskaja reabilitacija infekcionnyh bol'nyh i dinamicheskij kontrol' za perebolevshimi. SPb.: Izd-vo SZGMU imeni I.I. Sechenova, 2015; 184 p. Russian.
2. Melnikova EV, Khasanova NM, Chuprova SN, Uskov AN, Skripchenko NV, Samoylova IG, et al. Medical rehabilitation and infectious diseases in children. *Extreme Medicine*. 2021; (4): 50–8. DOI: 10.47183/mes.2021.043.
3. McDougall J, Bedell G, Wright V. The youth report version of the Child and Adolescent Scale of Participation (CASP): assessment of psychometric properties and comparison with parent report. *Child Care Health Dev*. 2013; 39 (4): 512–22. DOI: 10.1111/cch.12050. PubMed PMID: 23763252.
4. Rast FM, Labryère R. ICF mobility and self-care goals of children in inpatient rehabilitation. *Dev Med Child Neurol*. 2020; 62 (4): 483–8. DOI: 10.1111/dmcn.14471. PubMed PMID: 31984500.
5. Shmonin AA, Malceva MN, Melnikova EV, Ivanova GE. Bazovye principy medicinskoj reabilitacii, reabilitacionnyj diagnoz v kategorijah MKF i reabilitacionnyj plan. *Vestnik vosstanovitel'noj mediciny*. 2017; 2 (78): 16–22. Russian.
6. Angeli JM, Schwab SM, Huijs L, Sheehan A, Harpster K. ICF-inspired goal-setting in developmental rehabilitation: an innovative framework for pediatric therapists. *Physiother Theory Pract*. 2021; 37 (11): 1167–76. DOI: 10.1080/09593985.2019.1692392. PubMed PMID: 31766925.
7. Mezhdunarodnaja klassifikacija funkcionirovanija, ogranichenij zhiznedejatel'nosti i zdorov'ja: 54-ja sessija assamblei Vsemirnoj Organizacii Zdravoohraneniya 22 maja 2001 goda. Biblioteknaja sluzhba VOZ. Sankt-Peterburgskij institut usovershenstvovaniya vrachej-jekspertov Ministerstva truda i social'nogo razvitiya Rossijskoj Federacii, 2003; 228 p. Russian.
8. King G, Law M, King S, Hurley P, Rosenbaum P, Hanna S, et al. Children's Assessment of Participation and Enjoyment (CAPE) and preference for activities for children (PAC) Harcourt Assessment. San Antonio, TX: Harcourt Assessment, Inc., 2004.
9. Mandich AD, Polatajko HJ, Miller LT, Baum C. Pediatric Activity Card Sort (PACS). Ottawa, Canada: CAOT Publications ACE., 2004.
10. Rosenberg L, Jarus T, Bart O. Development and initial validation of the children participation questionnaire (CPQ). *Disability and Rehabilitation*. 2010; (32): 1633–44. DOI: https://doi.org/10.3109/09638281003611086.
11. Noreau L, Fougere P, Vincent C. The LIFE-H: Assessment of the quality of social participation. *Technology and Disability*. 2002; 14 (3): 113–8. DOI: https://doi.org/10.1080/09638280410001658649.
12. Amini M, Hassani Mehraban A, Pashmdarfard M, Cheraghifard M. Reliability and validity of the Children Participation Assessment Scale in Activities Outside of School–Parent version for children with physical disabilities. *Aust Occup Ther J*. 2019; 66 (4): 482–9. DOI: 10.1111/1440-1630.12569. PubMed PMID: 30697766.
13. Adair B, Ullenhag A, Keen D, Granlund M, Imms C. The effect of interventions aimed at improving participation outcomes for children with disabilities: a systematic review. *Dev Med Child Neurol*. 2015; 57 (12): 1093–104. DOI: 10.1111/dmcn.12809. PubMed PMID: 26010935.
14. Amini M, Hassani Mehraban A, Haghani H, Mollazade E, Zaree M. Factor structure and construct validity of Children Participation Assessment Scale in Activities Outside of School–Parent Version (CPAS-P). *Occup Ther Health Care*. 2017; 31 (1): 44–60. DOI: 10.1080/07380577.2016.1272733. PubMed PMID: 28139181.
15. Gallo KP, Hill LC, Hoagwood KE, Olin SC. A narrative synthesis of the components of and evidence for patient- and family-centered care. *Clin Pediatr (Phila)*. 2016; 55 (4): 333–46. DOI: 10.1177/0009922815591883. PubMed PMID: 26116351; PMID: PMC5555419.
16. Wiart L, Ray L, Darrach J, Magill-Evans J. Parents' perspectives on occupational therapy and physical therapy goals for children with cerebral palsy. *Disabil Rehabil*. 2010; 32 (3): 248–58. DOI: 10.3109/09638280903095890. PubMed PMID: 20001831.
17. Baker SM, Marshak HH, Rice GT, Zimmerman GJ. Patient participation in physical therapy goal setting. *Phys Ther*. 2001; 81 (5): 1118–26. PubMed PMID: 11319937.
18. Angeli JM, Harpster K, Huijs L, Seid M, Sheehan A, Schwab SM. Patient-centered goal setting in developmental therapy: discordance between documented goals and caregiver-perceived goals. *Pediatr Qual Saf*. 2019; 4 (4): e199. DOI: 10.1097/pq9.000000000000199. PubMed PMID: 31572900; PMID: PMC6708649.
19. Bedell GM. Developing a follow-up survey focused on participation of children and youth with acquired brain injuries after discharge from inpatient rehabilitation. *NeuroRehabilitation*. 2004; 19 (3): 191–205. PubMed PMID: 15502253.
20. Bedell G. Further validation of the Child and Adolescent Scale of Participation (CASP). *Dev Neurorehabil*. 2009; 12 (5): 342–51. DOI: 10.3109/17518420903087277. PubMed PMID: 20477563.
21. Bedell G, Ph.D., OTR, FAOTA. The Child and Adolescent Scale of Participation (CASP). Administration and Scoring Guidelines. 2019; p. 1–16.
22. Christie S, Chan V, Mollayeva T, Colantonio A. Systematic review of rehabilitation intervention outcomes of adult and paediatric patients with infectious encephalitis. *BMJ Open*. 2018; 8 (5): 1–18. DOI: 10.1136/bmjopen-2017-015928. PubMed PMID: 29764868; PMID: PMC5961616.
23. Lobzin JuV, Konovalova LN, Skripchenko NV. Sostojanie infekcionnoj zabolevaemosti u detej v Rossijskoj Federacii. *Medicina jekstremal'nyh situacij*. 2017; 60 (2): 8–22. Russian.
24. Lobzin JuV, Rychkova SV, Uskov A, Skripchenko NV, Fedorov VV. Sovremennye tendencii infekcionnoj zabolevaemosti u detej v Rossijskoj Federacii. *Kubanskij nauchnyj medicinskij vestnik*. 2020; 27 (4): 119–33. Russian.
25. Skripchenko N, Pronina EV, Lepihina TG, Vladimirova ON, Ivanova MV, Gonchar NV, et al. Medicinskaja reabilitacija detej-rekonvalescentov infekcionnyh zabolevanij v svete predstavlenij mezhdunarodnoj klassifikacii funkcionirovanija, ogranichenij zhiznedejatel'nosti i zdorov'ja. *Pediatr*. 2015; VI (3): 41–7. Russian.
26. Samojlova IG. Proshloe, nastojashhee i budushhee v reabilitacii detej, perenessih nejroinfekcii. *Detskaja i podrostkovaja reabilitacija*. 2018; 2 (34): 19–26. Russian.

27. Samojlova IG. Jekonomicheskaja jeffektivnost' reabilitacii detej posle nejroinfekcij. *Vjatskij medicinskij vestnik*. 2019; 1 (61): 64–6. Russian.
28. Melnikova EV, Khasanova NM, Shergold EJu, Kudryavtsev AV, Lepikhina TG, Uskov AN, et al. Assessment of rehabilitation in children with infectious diseases of the lower respiratory tract using the categories of the International Classification of Functioning, Disability and Health Physical and rehabilitation medicine. 2022; 4 (4): 67–77. Russian.
29. Mamatova DM. Medicinskaja reabilitacija v period vyzdorovlenija posle infekcionnyh zabolevanij. *Vestnik nauki*. 2021; 2 (4-37): 81–4. Russian.
30. Rugemalira E, Karppinen M, Savonius O, Cruzeiro ML, Peltola H, Roine I, et al. Health-related quality of life after childhood bacterial meningitis. *Pediatr Infect Dis J*. 2021; 40 (11): 987–92. DOI: 10.1097/INF.0000000000003243. PubMed PMID: 34321441.
31. Ferreira HNC, Schiariti V, Regalado ICR, Sousa KG, Pereira SA, Fechine CPNDS, et al. Functioning and disability profile of children with microcephaly associated with congenital Zika virus infection. *Int J Environ Res Public Health*. 2018; 15 (6): 1107. DOI: 10.3390/ijerph15061107. PubMed PMID: 29844290; PMCID: PMC6025082.
32. Campos TNC, Schiariti V, Gladstone M, Melo A, Tavares JS, Magalhães AG, et al. How congenital Zika virus impacted my child's functioning and disability: a Brazilian qualitative study guided by the ICF. *BMJ Open*. 2020; 10 (12): e038228. DOI: 10.1136/bmjopen-2020-038228. PubMed PMID: 33268403; PMCID: PMC7713226.
33. Teo JH, Shabhani S, Qiao F, Ng ZM, Chan DW. Comparison of functional outcome scales in paediatric acute encephalitis: Responsiveness and outcome predictors. *J Pediatr Rehabil Med*. 2022; 15 (2): 289–98. DOI: 10.3233/PRM-200706. PubMed PMID: 34744032.
34. Schiariti V, Selb M, Cieza A, O'Donnell M. International Classification of Functioning, Disability and Health core sets for children and youth with cerebral palsy: A consensus meeting. *Dev Med Child Neurol*. 2015; (57): 149–58. DOI: doi.org/10.1111/dmcn.12551.
35. Bölte S, Mahdi S, de Vries PJ, Granlund M, Robison JE, Shulman C, et al. The Gestalt of functioning in autism spectrum disorder: Results of the international conference to develop final consensus International Classification of Functioning, Disability and Health core sets. *Autism*. 2019; 23 (2): 449–67. DOI: 10.1177/1362361318755522. PubMed PMID: 29378422; PMCID: PMC6376609.
36. Bölte S, Mahdi S, Coghill D, Gau SS, Granlund M, Holtmann M, et al. Standardised assessment of functioning in ADHD: consensus on the ICF Core Sets for ADHD. *Eur Child Adolesc Psychiatry*. 2018; 27 (10): 1261–81. DOI: 10.1007/s00787-018-1119-y. PubMed PMID: 29435654.
37. Ptyushkin P, Selb M, Cieza A. ICF core sets. In: Bickenbach J, Cieza A, Rauch A, Stucki G, editors. *ICF Core Sets: Manual for Clinical Practice*. Hogrefe Publishing, 2012; p. 1–21.

МЕТИЛИРОВАНИЕ ПРОМОТОРОВ ГЕНОВ КЛЕТОЧНОГО ЦИКЛА И АПОПТОЗА У ОБЛУЧЕННЫХ ЛИЦ, ВПОСЛЕДСТВИИ ЗАБОЛЕВШИХ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫМИ НОВООБРАЗОВАНИЯМИ

Е. А. Блинова^{1,2}✉, А. В. Кореченкова¹, В. С. Никифоров^{1,2}, А. В. Аклеев^{1,2}

¹ Уральский научно-практический центр радиационной медицины Федерального медико-биологического агентства России, Челябинск

² Челябинский государственный университет, Челябинск

Метилирование ДНК играет важную роль в канцерогенезе, в литературе встречается достаточно много исследований уровня метилирования всего генома, промоторов генов и некодирующих элементов в раковых клетках. При этом данных об изменении паттерна метилирования в клетках крови и связи с развитием злокачественных новообразований (ЗНО) существенно меньше. Цель работы — исследование уровня метилирования промоторных регионов генов контроля клеточного цикла и апоптоза (*BAX*, *MDM2*, *TP53*, *NFkB1*) в клетках периферической крови лиц, подвергшихся хроническому радиационному воздействию в латентном периоде развития злокачественных новообразований. Исследование проводили у 200 человек, подвергшихся аварийному хроническому радиационному воздействию в результате сбросов радиоактивных отходов в реку Теча. Уровень метилирования оценивали методом ПЦР в реальном времени. Было установлено, что распределение облученных лиц с ЗНО в латентном периоде по уровню метилирования промоторных регионов генов *BAX*, *MDM2* и *NFkB1* статистически значимо отличалось от распределения в группы сравнения ($p < 0,001$; $p < 0,001$; $p = 0,004$ соответственно). Установлено, что в группе облученных лиц, которые впоследствии заболели ЗНО, доля лиц с уровнем метилирования до 10% промоторной области гена *BAX* была статистически значимо больше и составила 98% относительно группы сравнения, в которой доля таких людей не превышала 73% ($p < 0,00001$).

Ключевые слова: хроническое радиационное воздействие, метилирование генов, CpG-динуклеотиды, канцерогенез, река Теча

Благодарности: статья подготовлена в рамках выполнения Федеральной целевой программы «Модернизация высокотехнологичных методов, направленных на выявление медицинских последствий радиационных воздействий на персонал ПО «Маяк» и население Уральского региона» контракт № 27.501.21.2 от 11.06.2021.

Вклад авторов: Е. А. Блинова — планирование исследования, обобщение первичного материала, анализ и обсуждение результатов, подготовка текста статьи; А. В. Кореченкова — выполнение лабораторных методов исследования, подготовка текста статьи; В. С. Никифоров — выполнение лабораторных методов исследования, подготовка текста статьи; А. В. Аклеев — планирование исследования, редакция текста статьи, подготовка окончательного варианта статьи.

Соблюдение этических стандартов: исследование одобрено этическим комитетом ФГБУН УНПЦ РМ ФМБА России (протокол № 2 от 20 июля 2021 г.). Все обследованные лица подписали информированное согласие на участие в исследовании.

✉ **Для корреспонденции:** Евгения Андреевна Блинова
ул. Воровского, д. 68А, г. Челябинск, 154141, Россия; blinova@urcrm.ru

Статья получена: 03.10.2023 **Статья принята к печати:** 13.11.2023 **Опубликована онлайн:** 25.12.2023

DOI: 10.47183/mes.2023.051

METHYLATION OF CELL CYCLE AND APOPTOSIS GENES' PROMOTERS IN EXPOSED INDIVIDUALS WITH SUBSEQUENT MALIGNANT NEOPLASMS

Blinova EA^{1,2}✉, Korechenkova AV¹, Nikiforov VS¹, Akleyev AV^{1,2}

¹ Urals Research Center for Radiation Medicine, Chelyabinsk, Russia

² Chelyabinsk State University, Chelyabinsk, Russia

DNA methylation plays an important role in carcinogenesis; there are many studies that investigate the degree of methylation of the entire genome, gene promoters, and non-coding elements in cancer cells, but much less information about changes of the methylation patterns in blood cells and links with the development of malignant neoplasms (MN). This study aimed to investigate the degree of methylation of promoter regions of cell cycle control and apoptosis genes (*BAX*, *MDM2*, *TP53*, *NFkB1*) in peripheral blood cells of persons chronically exposed to radiation with MN developing latently. The study included 200 persons chronically exposed to radiation from the Techa River, contaminated with nuclear wastes dumped into it. The level of methylation was assessed by real-time PCR. The participants were divided into exposed and control groups; comparing them, we found that in the former, the distribution of exposed individuals with latent MN by the degree of methylation of promoter regions of *BAX*, *MDM2* and *NFkB1* genes was significantly different from that in the latter ($p < 0.001$; $p < 0.001$; $p = 0.004$, respectively). It was established that, compared to the control group, the share of the test group participants with subsequent MN who had up to 10% of the *BAX* gene promoter regions methylated was significantly higher, and amounted to 98%, while in the control group this figure did not exceed 73% ($p < 0.00001$).

Keywords: chronic radiation exposure, gene methylation, CpG dinucleotides, carcinogenesis, the Techa River

Acknowledgements: the article was prepared in the context of the Federal Target Program "Modernization of high-tech methods of identification of medical consequences of exposure to radiation of personnel of the Mayak Production Association and population of the Ural region," Contract № 27.501.21.2 of 11.06.2021.

Author contributions: E.A. Blinova — study planning, generalization of primary material, analysis and discussion of the results, article drafting; A.V. Korechenkova — laboratory tests, article drafting; V.S. Nikiforov — laboratory tests, article drafting; A.V. Akleyev — study planning, article editing, authoring of the final version of the article.

Compliance with ethical standards: the study was approved by the Ethics Committee of the Urals Research Center for Radiation Medicine of the FMBA of Russia (Minutes #2 of July 20, 2021). All participants signed the informed consent form to participate in the study.

✉ **Correspondence should be addressed:** Evgenia A. Blinova
Vorovskogo, 68A, Chelyabinsk, 454141, Russia; blinova@urcrm.ru

Received: 03.10.2023 **Accepted:** 13.11.2023 **Published online:** 25.12.2023

DOI: 10.47183/mes.2023.051

На сегодняшний день достаточно хорошо оценен потенциал генетических факторов в прогнозировании рисков развития злокачественных новообразований (ЗНО). Так, для некоторых видов ЗНО установлены генетические маркеры с высокой степенью надежности, например, мутации в генах *BRCA1* и *BRCA2* для ЗНО молочной железы и яичников [1], в гене *TP53* — для ЗНО молочной железы, легких, желудка и кишечника [2], или в гене *ATM* — для ЗНО поджелудочной и молочной желез [3]. Тем не менее их вклад в радиационно-индуцированный канцерогенез остается неопределенным из-за полигенной природы ЗНО. Дополнительным подходом к прогнозированию риска развития ЗНО могут быть эпигенетические показатели, один из которых — метилирование ДНК, способное модифицироваться факторами окружающей среды, в том числе ионизирующим излучением.

Эпигенетические модификации, включая метилирование, влияют на экспрессию генов, участвующих в канцерогенезе на разных стадиях: от инициации до прогрессии [4]. В опухолевых клетках регистрируется гиперметилирование как генов супрессоров, так и мобильных генетических элементов, а также онкогенов. Например, гиперметилирование генов супрессоров опухолевого роста было установлено для немелкоклеточного рака легких, колоректального рака, ЗНО молочной железы, предстательной железы и мочевого пузыря [5–7]. Гипометилирование мобильных генетических элементов, таких как *Alu* и *LINE-1*, а также отдельных областей генов регистрировали при ЗНО молочной железы, яичников, гепатоцеллюлярном раке и ЗНО желудочно-кишечного тракта [8, 9].

Следует отметить, что эпигенетические метки отражают как врожденный генетический фон, так и воздействие факторов окружающей среды, что важно с точки зрения понимания механизмов влияния экзогенных факторов на канцерогенез [10].

Несомненно, метилирование ДНК тканеспецифично, в связи с чем паттерны метилирования, полученные из доступных тканей, например, кровь, не могут быть легко экстраполированы на ткани, в которых развивается рак [11]. Однако это возможно, поскольку соответствие между метилированием ДНК в разных тканях зависит от локуса и степени межтканевой корреляции, кроме того, метильные метки могут наследоваться или возникать на ранних этапах развития, вследствие чего будут определяться во многих тканях [12]. Изменение метилирования в генах, связанных со старением (эпигенетические часы), также может быть ассоциировано с риском развития различных патологий, в том числе рака [13–15].

В литературе имеется информация о разработке алгоритмов прогнозирования риска развития ЗНО на основе анализа метилирования ДНК в клетках крови. Было показано, что алгоритмы анализа фенотипического старения и оценки риска смертности, основанные на уровне метилирования CpG-динуклеотидов ДНК, связаны с возрастом, уровнем белка в плазме крови, курением, а также ключевыми факторами заболевания и могут быть использованы как для оценки общего риска развития ЗНО, так и риска развития различных типов ЗНО (рака легкого, предстательной железы, молочной железы, колоректального рака) [16–18]. В систематическом обзоре опубликованных исследований, посвященных изучению метилирования ДНК крови человека, установлена устойчивая тенденция связи глобального гипометилирования ДНК клеток крови и эпигенетического возраста с повышенным риском развития ЗНО молочной железы [19].

Однако, несмотря на представленные исследования, надежные доказательства предполагаемой связи между моделями метилирования ДНК и риском развития ЗНО все еще отсутствуют.

В связи с тем что остановка клеточного цикла и апоптоз — одни из барьеров на пути клетки к онкотрансформации, в настоящем исследовании была проведена оценка уровня метилирования промоторных регионов генов контроля клеточного цикла и апоптоза (*BAX*, *MDM2*, *TP53*, *NFkB1*) в крови лиц, подвергшихся хроническому радиационному воздействию и впоследствии заболевших ЗНО.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Характеристика обследованных лиц

Исследование уровня метилирования CpG-динуклеотидов в промоторных регионах генов *BAX*, *MDM2*, *TP53* и *NFkB1* в клетках периферической крови проводили у лиц, подвергшихся хроническому низкоинтенсивному радиационному воздействию вследствие сбросов жидких радиоактивных отходов в реку Течу производственным объединением «Маяк» в 1950–1960 гг. Для каждого обследованного человека были рассчитаны индивидуальные накопленные дозы облучения красного костного мозга (ККМ) в соответствии с дозиметрической системой TRDST 2016 [20]. Все обследованные люди были разделены на две группы: основная группа — 100 облученных лиц, у которых впоследствии были диагностированы злокачественные новообразования (забор крови у пациентов проводили проспективно в латентном периоде, за 5 лет до развития ЗНО) и группа сравнения — облученные лица без онкологических заболеваний. В настоящем исследовании выбор латентного периода (до 5 лет) был обусловлен тем, что уровень метилирования зависит от разных факторов окружающей среды и может меняться со временем, в результате чего увеличение времени наблюдения могло стать причиной слабой связи с риском развития рака или ее отсутствия. Так, в систематическом обзоре было показано, что в различные периоды наблюдения могут изменяться паттерны метилирования ДНК [19].

Критерии включения людей в обследованные группы: проживание в одном из 41 села, расположенного на побережье реки Течи, в период с 01.01.1950 по 31.12.1960 и наличие рассчитанных индивидуальных кумулятивных доз облучения красного костного мозга на основе дозиметрической системы Techa River Dosimetry System-2016 (TRDS-2016) [20]. Критерии исключения: наличие на момент забора крови аутоиммунных заболеваний, гемобластозов и злокачественных новообразований (в том числе на 2023 г. для группы сравнения).

В основной группе облученных лиц в период с 2002 по 2020 г. были диагностированы следующие виды ЗНО: злокачественные новообразования губы (код по МКБ 10: C00 — 3 случая), органов пищеварения (пищевода: C15 — 1 случай; желудка: C16 — 14 случаев; поперечноободочной кишки C18.4 — 5 случаев; ректосигмоидного соединения: C19 — 3 случая; поджелудочной железы: C25.9 — 8 случаев), органов дыхания и грудной клетки (трахеи, бронха, легкого: C34 — 19 случаев), молочной железы (C50 — 16 случаев), женских половых органов (шейки матки: C53 — 7 случаев; тела матки: C54 — 4 случая; яичника и придатков матки: C56 — 3 случая), мужских половых

Таблица 1. Характеристика исследуемых групп

Характеристика групп		Основная группа (лица с ЗНО в латентном периоде)	Группа сравнения			
			<i>BAX</i>	<i>MDM2</i>	<i>TP53</i>	<i>NFκB1</i>
Количество участников		<i>n</i> = 100	<i>n</i> = 73	<i>n</i> = 140	<i>n</i> = 69	<i>n</i> = 90
Возраст на момент обследования, лет: M ± SE (min–max)		68,3 ± 0,7 (51–86)	71,7 ± 0,8 (59–87)	71,8 ± 0,5 (56–87)	70,4 ± 0,8 (58–84)	71,5 ± 0,7 (59–84)
Пол, человек (%)	Мужчины	46 (46)	26 (36)	51 (36)	17 (25)	29 (32)
	Женщины	54 (54)	47 (64)	89 (64)	52 (75)	61 (68)
Накопленная доза облучения красного костного мозга (ККМ), мГр: M ± SE (min–max)		722,5 ± 69,3 (10,1–3507,1)	542,4 ± 63,4 (10,1–2869,8)	617,6 ± 52,2 (10,1–3179,7)	507,6 ± 62,0 (10,0–2869,8)	765,8 ± 83,3 (10,1–3715,5)

Примечание: ККМ — красный костный мозг; M — средняя; SE — ошибка средней; *n* — количество человек; (min–max) — диапазон значений.

органов (предстательной железы: С61 — 8 случаев); мочевых путей (мочевого пузыря: С67 — 6 случаев; почек: С64 — 3 случая).

Характеристика исследуемых групп представлена в табл. 1.

Средний возраст обследованных лиц с ЗНО составил 68,3 ± 0,7 лет (от 51 до 86 лет). В группе преобладали женщины (54%). Средняя накопленная доза облучения ККМ в группе лиц с ЗНО составила 731,5 ± 68,3 мГр (диапазон доз: 10,1–3507 мГр).

Количество обследованных лиц в группе сравнения по каждому гену различалось, однако основная группа и группы сравнения были сопоставимы по возрасту на время проведения обследования, половому составу и дозе облучения ККМ (табл. 1).

Методы исследования

Выделенную из образцов замороженной крови геномную ДНК денатурировали и подвергали бисульфитной конверсии с использованием набора реагентов EpiJET Bisulfite Conversion Kit (Thermo Scientific; США) в соответствии с протоколом фирмы-производителя. После обработки ДНК бисульфитом проводили амплификацию с праймерами, специфичными для метилированных участков ДНК. Последовательности праймеров для ПЦР фрагментов промоторных регионов генов *BAX*, *MDM2*, *TP53*, *NFκB1* были сконструированы с использованием программы Methyl Primer Express Software V.1.0 (Applied Biosystems; США). Выбор генов был основан на результатах ранее проведенных исследований транскрипционной активности генов и уровня метилирования промоторных участков генов у облученных лиц [21, 22].

Олигонуклеотиды были синтезированы фирмой ДНК-Синтез (Россия). В табл. 2 представлены последовательности

олигонуклеотидов, специфичных для метилированной последовательности ДНК.

Определение статуса метилирования промоторов генов было осуществлено с использованием метода ПЦР в реальном времени с применением анализа кривых плавления высокого разрешения (HRM-анализ). Реакцию проводили в объеме 20 мкл, включающем в себя 5х реакционную смесь qPCRmix-HS («Евроген»; Россия), состоящую из высокопроцессивной Taq-ДНК полимеразы со специфичными моноклональными антителами, красителя SYBR Green I, смеси дНТФ, Mg₂⁺ и ПЦР буфера. ПЦР-РВ проводили с использованием амплификатора StepOnePlus Real-Time PCR System (Thermo Scientific; США). Температурный и временной режимы ПЦР-РВ: первая денатурация (95°, 5 мин), денатурация (95°, 30 с), отжиг (температура отжига для каждого гена представлена в табл. 2, 30 сек.) и элонгация (72°, 30 с) — 50 циклов; построение кривой плавления (95°, 10 с; 60°, 1 мин; 95°, 15 с; 60°, 15 с).

В качестве контролей для оценки метилирования исследуемых CpG-островков промоторных регионов генов использовали подвергнутые бисульфитной конверсии образцы коммерческой, полностью метилированной ДНК CpG Methylated Human Genomic DNA (Thermo Fisher Scientific; США) и неметилированной ДНК Human Genomic DNA: Male (Promega; США). Контроли смешивали в следующем соотношении: 0/100, 5/95, 10/90, 25/75, 50/50, 75/25 и 100/0 соответственно. Уровни метилирования для каждого контрольного образца составили: 0%, 5%, 10%, 25%, 50%, 75% и 100%. Анализ был проведен в программе HRM-Software (Applied Biosystems; США) и основан на сравнении профилей кривых плавления экспериментальных образцов ДНК со стандартами (образцы ДНК с известным уровнем метилирования). На основе стандартов выделяли следующие диапазоны уровня

Таблица 2. Характеристика используемых в работе олигонуклеотидов

Ген	Последовательности праймеров (5'-3')	Количество CpG-сайтов	Длина ампликона	Длина праймеров	Ta
<i>BAX</i>	F: GAGGGGTAGAAATTTTCGGAT R: ATAATACGAACGACAAACCCG	10	181	21 21	59
<i>MDM2</i>	F: TTTGTCCGGTTATTAGTGTGAAC R: CCTTTTACTACAATTCGAAACGTA	6	130	23 25	60
<i>TP53</i>	F: GTAGTTTGAACGTTTTTATTTTGGC R: CCTACTACGCCCTCTACAAACG	11	135	25 22	61
<i>NFκB1</i>	F: GTAGGAAGAGGAGGTTTCGTTATC R: ACCGATACTACGTACAAACCGA	14	122	24 23	60

Примечание: F — прямой праймер; R — обратный праймер; Ta — температура отжига.

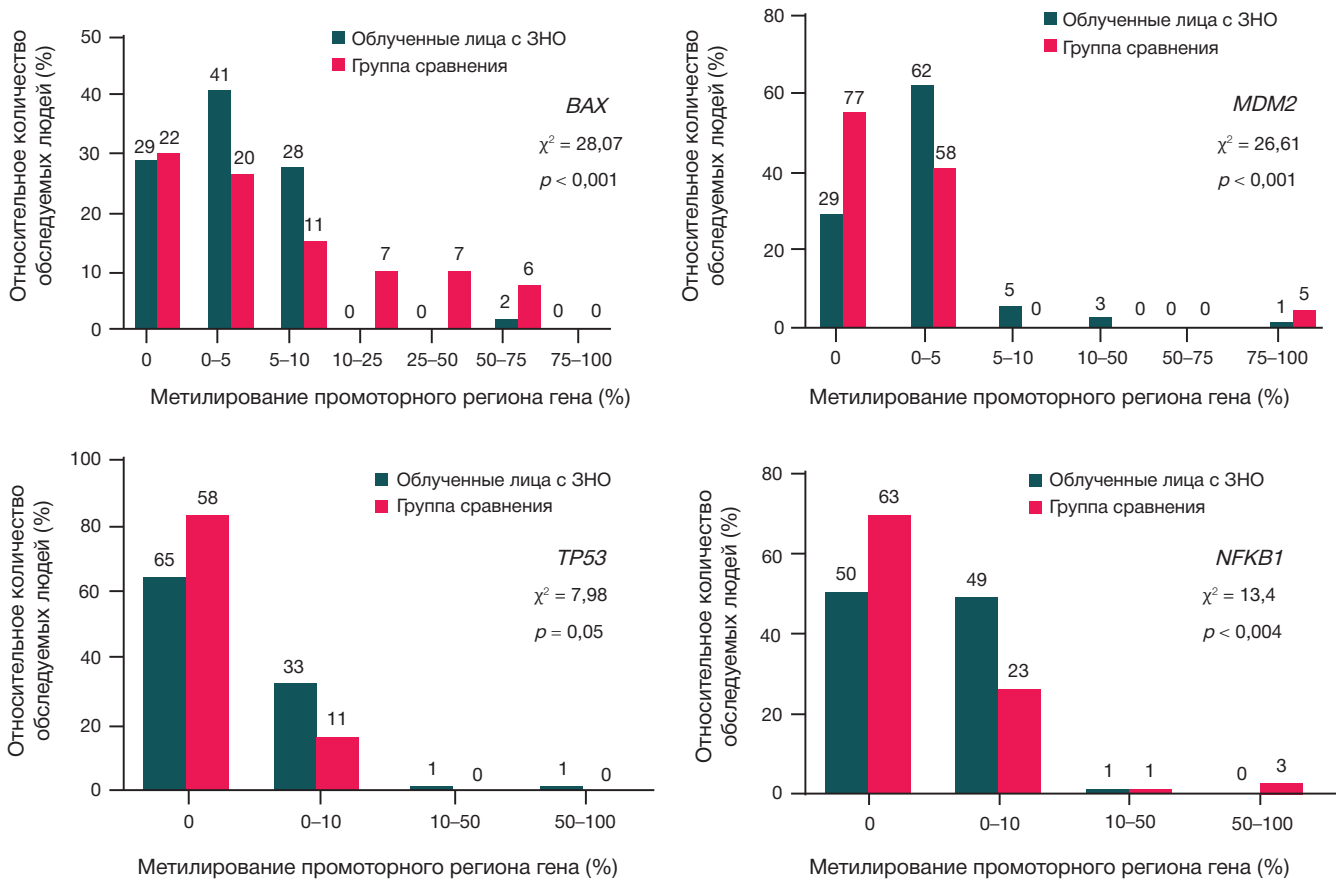


Рис. Распределение обследованных лиц по уровню метилирования CpG-динуклеотидов промоторных регионов исследуемых генов. Значение χ^2 указано с учетом поправки Йейтса

метилирования: 0%; 0–5%; 5–10%; 10–25%; 25–50%; 50–75%; 75–100%, в которые попадали экспериментальные образцы.

Статистический анализ данных

Статистическую обработку результатов осуществляли с использованием программного комплекса SPSS Statistics 17.0. Для сравнения распределений обследованных лиц по уровню метилирования использовали Хи-квадрат с поправкой Йетса (статистически значимыми считали различия при $p \leq 0,01$). Сравнение групп обследованных лиц по уровню метилирования от 0 до 10% и более 10% проводили с использованием точного критерия Фишера. Статистически значимыми считали различия при $p \leq 0,05$. Корреляционный анализ с целью оценки влияния дозы облучения ККМ и возраста на уровень метилирования проводили путем расчета коэффициентов ранговой корреляции (R) по Спирмену, статистически значимыми считали корреляции при доверительной вероятности $\leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Распределение облученных лиц в латентном периоде развития ЗНО по уровню метилирования промоторных регионов генов *BAX*, *MDM2* и *NFkB1* статистически значимо отличалось от группы сравнения (рис.). Стоит отметить, что у подавляющего большинства обследованных лиц, которые впоследствии заболели ЗНО, уровень метилирования промоторных участков генов *BAX*, *MDM2*, *TP53* и *NFkB1* не превышал 10%, и основные различия в распределении с группой сравнения были характерны для этого диапазона.

Так, доля облученных лиц в латентном периоде развития ЗНО, имеющих уровень метилирования промоторного региона гена *NFkB1* от 0 до 10%, составила 100% против 87% в группе сравнения. При этом количество лиц с гипометилированным промотором гена *NFkB1* (уровень метилирования 0%) и уровнем метилирования до 5% в группе облученных пациентов, впоследствии заболевших ЗНО, было примерно равным и составило 50% и 49% соответственно, в то время как в группе сравнения 63% имели гипометилированный промотор и только 23% — уровень метилирования от 0 до 5%. Для гена *MDM2* различия также находились в диапазоне от 0 до 5%, в основной группе облученных лиц 29% имели гипометилированные промоторы, а у 62% уровень метилирования составил от 0 до 5%, в то время как в группе сравнения распределение было примерно равным, 55% и 41% соответственно. Для гена *BAX* наблюдали сходную тенденцию, у 98% облученных лиц, находящихся в латентном периоде развития ЗНО, уровень метилирования не превышал 10%, а для 2% было отмечено гиперметилирование промотора гена *BAX* (уровень метилирования — от 50 до 75%). При этом обращает на себя внимание тот факт, что в группе сравнения регистрировались все диапазоны метилирования промотора гена *BAX*.

Учитывая небольшое количество случаев в разных диапазонах уровней метилирования, на следующем этапе работы все обследованные лица были разделены на две группы: 1) уровень метилирования до 10%; 2) уровень метилирования более 10% (табл. 3).

Согласно полученным результатам, статистически значимые различия наблюдались только для проапоптотического гена *BAX*. В группе облученных лиц,

Таблица 3. Случаи метилирования CpG-островков промоторных регионов генов *BAX*, *MDM2*, *TP53*, *NFKB1* у обследованных лиц

Ген	Уровень метилирования	Группа сравнения N (%)	Облученные лица с ЗНО в латентном периоде N (%)	p-значение
<i>BAX</i>	0–10%	53 (72,6)	98 (98)	$p < 0,00001$
	Более 10 %	20 (27,4)	2 (2)	
<i>TP53</i>	0–10%	69 (100)	98 (98)	$p = 0,51$
	Более 10 %	0 (0)	2 (2)	
<i>MDM2</i>	0–10%	135 (96,4)	96 (96)	$p = 0,99$
	Более 10 %	5 (3,6)	4 (4)	
<i>NFKB1</i>	0–10%	87 (96,6)	100 (100)	$p = 0,10$
	Более 10 %	3 (3,6)	0 (0)	

Примечание: p — уровень статистической значимости различий между группами по точному критерию Фишера.

которые впоследствии заболели ЗНО, количество человек с уровнем метилирования до 10% было статистически значимо больше по сравнению с контрольной группой ($p < 0,00001$).

Метилирование — динамический процесс, который может зависеть от ряда факторов, в том числе от возраста и дозы облучения. В связи с этим в обследованных группах был проведен корреляционный анализ связи уровня метилирования с дозой облучения ККМ и возрастом на время обследования. В результате анализа в группе облученных лиц с ЗНО в латентном периоде не было выявлено зависимости изменения паттерна метилирования от дозы облучения ККМ и возраста на момент обследования, при этом в группе сравнения наблюдали слабую отрицательную корреляционную связь уровня метилирования промоторов гена *BAX* и *TP53* и возраста обследованных лиц ($R = -0,35$; $p = 0,002$ и $R = -0,28$; $p = 0,02$ соответственно) (табл. 4).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В проведенном нами исследовании были изучены гены регуляции клеточного цикла (*MDM2*, *TP53*) и апоптоза (*BAX*, *NFKB1*). Распределение по уровню метилирования промоторных регионов генов *BAX*, *MDM2* и *NFKB1* у облученных лиц в латентном периоде развития ЗНО статистически значимо отличалось от группы сравнения. Однако при анализе частоты встречаемости обследованных лиц с уровнем метилирования промоторов изученных генов до 10% и более 10% статистически значимые различия наблюдали только для гена *BAX*. Доля лиц с уровнем метилирования от 0 до 10% в группе облученных пациентов, впоследствии заболевших ЗНО, составила 98%, в то время как в группе сравнения доля таких людей не превышала 73%.

Продукт гена *BAX* — член семейства белков bcl2, участвует в индукции апоптоза и считается потенциальным супрессором опухолей [23]. В норме в ответ на генотоксическое повреждение белок p53 изменяет уровень

экспрессии генов, участвующих в митохондриально-опосредованном апоптозе, в том числе активируя ген *BAX* [24]. В то же время в опухолевых клетках наблюдается подавление проапоптотических генов, что способствует выживанию и метастазированию опухоли. Важно отметить, что снижение концентрации белка *bax* связано с мутациями в гене *Trp53* [25]. По результатам проведенных нами исследований, у облученных людей в латентном периоде развития ЗНО наблюдается гипометилирование промотора гена *BAX* в клетках крови, что, вероятно, может отражаться на транскрипционной активности этого гена. Интересно отметить, что в ранее проведенных исследованиях экспрессии мРНК апоптотических генов у лиц, облученных на реке Тече с накопленными дозами облучения ККМ, превышающими 522 мГр, было обнаружено статистически значимое увеличение транскрипционной активности гена *BAX*. [21]. Кроме того, по результатам исследования гибели лимфоцитов периферической крови, у жителей прибрежных сел реки Течи наблюдали повышение частоты апоптоза лимфоцитов у облученных лиц с облигатными формами предраковых заболеваний по сравнению с облученными людьми без предраков [26].

В литературе встречается достаточно много работ, посвященных изучению профиля метилирования ДНК в раковых клетках, при этом наиболее часто рассматривают рак толстой кишки, молочной железы и легких [27]. При этом ретроспективных работ, посвященных изучению метилирования ДНК нормальной ткани (например, крови) до возникновения заболевания, с целью поиска предикторов риска развития рака, существенно меньше и в большинстве из них рассматривают гены, связанные с изменением хронологического возраста (эпигенетические часы) [13, 15, 17]. Однако есть единичные исследования протоонкогенов и генов-супрессоров опухолей. Так, в результате анализа паттерна метилирования 17-ти генов-кандидатов предрасположенности к раку молочной железы, включая гены регуляции клеточного цикла, было выявлено гиперметилирование внутригенного повторяющегося

Таблица 4. Коэффициенты ранговой корреляции Спирмена (R) процента метилирования промоторных регионов исследуемых генов от поглощенной дозы облучения ККМ и возраста пациента на момент исследования. В скобках указано p-значение для коэффициентов корреляции Спирмена

Ген	Группа сравнения		Облученные лица с ЗНО в латентном периоде	
	Доза облучения ККМ	Возраст на момент исследования	Доза облучения ККМ	Возраст на момент исследования
<i>MDM2</i>	-0,03 (0,69)	0,09 (0,31)	-0,06 (0,53)	-0,05 (0,64)
<i>BAX</i>	-0,55 (0,64)	-0,35 (0,002)	0,08 (0,44)	0,08 (0,45)
<i>TP53</i>	-0,08 (0,53)	-0,28 (0,02)	-0,01 (0,99)	0,07 (0,48)
<i>NFKB1</i>	0,14 (0,19)	0,10 (0,34)	0,04 (0,70)	-0,02 (0,86)

элемента гена *ATM* в крови женщин с раком молочной железы по сравнению с контрольной группой [28].

Таким образом, полученные в настоящем исследовании результаты демонстрируют потенциальную возможность использования эпигенетических модификаций (уровень метилирования) в ДНК периферической крови в качестве маркера радиационно-индуцированного канцерогенеза. Кроме того, выявление эпигенетических изменений в тканях и клетках, не вовлеченных в патологический процесс, позволяет прояснить причинно-следственную связь возникновения патологических состояний. Однако для установления эпигенетических маркеров канцерогенных эффектов облучения требуется проведение дополнительных исследований на расширенной выборке пациентов, с учетом анализа уровня метилирования генов в опухолевой ткани.

Литература

- Smith P, McGuffog L, Easton DF, Mann GJ, Pupo GM, Newman B, et al. A genome wide linkage search for breast cancer susceptibility genes. *Genes Chromosomes Cancer*. 2006; 45 (7): 646–55. DOI: 10.1002/gcc.20330.
- Barnoud T, Parris JLD, Murphy ME. Common genetic variants in the TP53 pathway and their impact on cancer. *J Mol Cell Biol*. 2019; 11 (7): 578–85. DOI: 10.1093/jmcb/mjz052.
- Hall MJ, Bernhisel R, Hughes E, Larson K, Rosenthal ET, Singh NA, et al. Germline Pathogenic Variants in the Ataxia Telangiectasia Mutated (*ATM*) Gene are Associated with High and Moderate Risks for Multiple Cancers. *Cancer Prev Res (Phila)*. 2021; 14 (4): 433–40. DOI: 10.1158/1940-6207.CAPR-20-0448.
- Verma M, Rogers S, Divi RL, Schully SD, Nelson S, Joseph Su, et al. Epigenetic research in cancer epidemiology: trends, opportunities, and challenges. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2014; 23 (2): 223–33. DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-13-0573.
- Esteller M, Corn PG, Baylin SB, Herman JG. A gene hypermethylation profile of human cancer. *Cancer Research*. 2001; 61 (8): 3225–9. PubMed PMID: 11309270.
- Belinsky SA. Gene-promoter hypermethylation as a biomarker in lung cancer. *Nat Rev Cancer*. 2004; 4 (9): 707–17. DOI: 10.1038/nrc1432.
- Park JY. Promoter hypermethylation in prostate cancer. *Cancer Control*. 2010; 17(4): 245–55. DOI: 10.1177/107327481001700405.
- Suzuki K, Suzuki I, Leodolter A, Alonso S, Horiuchi S, Yamashita K, et al. Global DNA demethylation in gastrointestinal cancer is age dependent and precedes genomic damage. *Cancer Cell*. 2006; 9(3): 199–207. DOI: 10.1016/j.ccr.2006.02.016.
- Ehrlich M. DNA hypomethylation in cancer cells. *Epigenomics*. 2009; 1 (2): 239–59. DOI: 10.2217/epi.09.33
- Wild CP, Scalbert A, Herceg Z. Measuring the exposome: a powerful basis for evaluating environmental exposures and cancer risk. *Environ Mol Mutagen*. 2013; 54 (7): 480–99. DOI: 10.1002/em.21777.
- Relton CL, Davey SG. Epigenetic epidemiology of common complex disease: prospects for prediction, prevention, and treatment. *PLoS Med*. 2010; 7 (10): e1000356. DOI: 10.1371/journal.pmed.1000356.
- Suter CM, Martin DI, Ward RL. Germline epimutation of *MLH1* in individuals with multiple cancers. *Nat Genet*. 2004; 36 (5): 497–501. DOI: 10.1038/ng1342.
- Zheng Y, Joyce BT, Colicino E, Liu L, Zhang W, Dai Q, et al. Blood epigenetic age may predict cancer incidence and mortality. *EBioMedicine*. 2016; 5: 68–73. DOI: 10.1016/j.ebiom.2016.02.008.
- Durso DF, Bacalini MG, Sala C, Pirazzini C, Marasco E, Bonafé M, et al. Acceleration of leukocytes' epigenetic age as an early tumor and sex-specific marker of breast and colorectal cancer. *Oncotarget*. 2017; 8 (14): 23237–45. DOI: 10.18632/oncotarget.15573.
- Kresovich JK, Xu Z, O'Brien KM, Weinberg CR, Sandler DP, Taylor JA. Methylation-based biological age and breast cancer risk. *J Natl Cancer Inst*. 2019; 111 (10): 1051–8. DOI: 10.1093/jnci/djz020.
- Dugué PA, Bassett JK, Wong EM, Joo JE, Li S, Yu C. Biological aging measures based on blood DNA methylation and risk of cancer: a prospective study. *JNCI Cancer Spectr*. 2020; 5 (1): pkaa109. DOI: 10.1093/jncics/pkaa109.
- Wang C, Ni W, Yao Y, Just A, Heiss J, Wei Y. DNA methylation-based biomarkers of age acceleration and all-cause death, myocardial infarction, stroke, and cancer in two cohorts: The NAS, and KORA F4. *EBioMedicine*. 2021; 63: 103151. DOI: 10.1016/j.ebiom.2020.103151.
- Li X, Schöttker B, Holleczeck B, Brenner H. Associations of DNA methylation algorithms of aging and cancer risk: Results from a prospective cohort study. *EBioMedicine*. 2022; 81: 104083. DOI: 10.1016/j.ebiom.2022.104083.
- Ennour-Idrissi K, Dragic D, Durocher F, Diorio C. Epigenome-wide DNA methylation and risk of breast cancer: a systematic review. *BMC Cancer*. 2020; 20 (1): 1048. DOI: 10.1186/s12885-020-07543-4.
- Дегтева М. О., Напье Б. А., Толстых Е. И., Шишкина Е. А., Бугров Н. Г., Крестинина Л. Ю. и др. Распределение индивидуальных доз в когорте людей, облученных в результате радиоактивного загрязнения реки Течи. Медицинская радиология и радиационная безопасность. 2019; 64 (3): 46–53. DOI: 10.12737/article_5cf2364cb49523.98590475.
- Никифоров В. С. Содержание матричной РНК генов, вовлеченных в клеточный гомеостаз человека, в отдаленные сроки после хронического облучения [диссертация]. Обнинск: 2021.
- Blinova EA, Nikiforov VS, Kotikova AI, Yanishevskaya MA, Akleyev AV. Methylation Status of Apoptosis Genes and Intensity of Apoptotic Death of Peripheral Blood Lymphocytes in Persons Chronically Exposed to Radiation. *Mol Biol (Mosk)*. 2022; 56 (6): 1072–82. DOI 10.1134/S002689332205003X.
- Oltvai ZN, Milliman CL, Korsmeyer SJ. Bcl-2 heterodimerizes in vivo with a conserved homolog, Bax, that accelerates programmed cell death. *Cell*. 1993; 74 (4): 609–19. DOI: 10.1016/0092-8674(93)90509-o.
- Gopisetty G, Ramachandran K, Singal R. DNA methylation and apoptosis. *Mol Immunol*. 2006; 43 (11): 1729–40. DOI: 10.1016/j.molimm.2005.11.010.
- Alipour M, Zargar SJ, Safarian S, Fouladdel S, Azizi E, Jafarholizadeh N. The study of DNA methylation of *BAX* gene promoter in breast and colorectal carcinoma cell lines. *Iran J Cancer Prev*. 2013; 6 (2): 59–64.
- Блинова Е. А., Котикова А. И., Аклев А. В. Интенсивность апоптоза лимфоцитов крови у облученных лиц с облигатными

Выводы


Распределение по уровню метилирования промоторных регионов генов *BAX*, *MDM2* и *NFkB1* у облученных лиц, подвергшихся аварийному хроническому низкоинтенсивному радиационному воздействию в диапазоне доз облучения ККМ от 10,1 до 3507 мГр и находящихся в латентном периоде до манифестации ЗНО, статистически значимо отличалось от группы сравнения. Доля лиц с уровнем метилирования промоторного региона гена *BAX* от 0 до 10% была статистически значимо больше и составила 98% относительно группы сравнения, в которой доля таких людей не превышала 73%. Не выявлено зависимости уровня метилирования промоторных регионов изученных генов от дозы облучения ККМ.

- формами предраковых заболеваний. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2023; 176 (8): 233–6.
27. Verma M, Rogers S, Divi RL, Schully SD, Nelson S, Joseph Su L, et al. Epigenetic research in cancer epidemiology: trends, opportunities, and challenges. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2014; 23 (2): 223–33. DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-13-0573.
 28. Flanagan JM, Munoz-Alegre M, Henderson S, Tang T, Sun P, Johnson N, et al. Gene-body hypermethylation of ATM in peripheral blood DNA of bilateral breast cancer patients. *Hum Mol Genet.* 2009; 18 (7): 1332–42. DOI: 10.1093/hmg/ddp033.

References

1. Smith P, McGuffog L, Easton DF, Mann GJ, Pupo GM, Newman B, et al. A genome wide linkage search for breast cancer susceptibility genes. *Genes Chromosomes Cancer.* 2006; 45 (7): 646–55. DOI: 10.1002/gcc.20330.
2. Barnoud T, Parris JLD, Murphy ME. Common genetic variants in the TP53 pathway and their impact on cancer. *J Mol Cell Biol.* 2019; 11 (7): 578–85. DOI: 10.1093/jmcb/mjz052.
3. Hall MJ, Bernhisel R, Hughes E, Larson K, Rosenthal ET, Singh NA, et al. Germline Pathogenic Variants in the Ataxia Telangiectasia Mutated (ATM) Gene are Associated with High and Moderate Risks for Multiple Cancers. *Cancer Prev Res (Phila).* 2021; 14 (4): 433–40. DOI: 10.1158/1940-6207.CAPR-20-0448.
4. Verma M, Rogers S, Divi RL, Schully SD, Nelson S, Joseph Su, et al. Epigenetic research in cancer epidemiology: trends, opportunities, and challenges. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2014; 23 (2): 223–33. DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-13-0573.
5. Esteller M, Corn PG, Baylin SB, Herman JG. A gene hypermethylation profile of human cancer. *Cancer Research.* 2001; 61 (8): 3225–9. PubMed PMID: 11309270.
6. Belinsky SA. Gene-promoter hypermethylation as a biomarker in lung cancer. *Nat Rev Cancer.* 2004; 4 (9): 707–17. DOI: 10.1038/nrc1432.
7. Park JY. Promoter hypermethylation in prostate cancer. *Cancer Control.* 2010; 17(4):245–55. DOI: 10.1177/107327481001700405.
8. Suzuki K, Suzuki I, Leodolter A, Alonso S, Horiuchi S, Yamashita K, et al. Global DNA demethylation in gastrointestinal cancer is age dependent and precedes genomic damage. *Cancer Cell.* 2006; 9(3): 199–207. DOI: 10.1016/j.ccr.2006.02.016.
9. Ehrlich M. DNA hypomethylation in cancer cells. *Epigenomics.* 2009; 1 (2): 239–59. DOI: 10.2217/epi.09.33
10. Wild CP, Scalbert A, Herceg Z. Measuring the exposome: a powerful basis for evaluating environmental exposures and cancer risk. *Environ Mol Mutagen.* 2013; 54 (7): 480–99. DOI: 10.1002/em.21777.
11. Relton CL, Davey SG. Epigenetic epidemiology of common complex disease: prospects for prediction, prevention, and treatment. *PLoS Med.* 2010; 7 (10): e1000356. DOI: 10.1371/journal.pmed.1000356.
12. Suter CM, Martin DI, Ward RL. Germline epimutation of MLH1 in individuals with multiple cancers. *Nat Genet.* 2004; 36 (5): 497–501. DOI: 10.1038/ng1342.
13. Zheng Y, Joyce BT, Colicino E, Liu L, Zhang W, Dai Q, et al. Blood epigenetic age may predict cancer incidence and mortality. *EBioMedicine.* 2016; 5: 68–73. DOI: 10.1016/j.ebiom.2016.02.008.
14. Durso DF, Bacalini MG, Sala C, Pirazzini C, Marasco E, Bonafé M, et al. Acceleration of leukocytes' epigenetic age as an early tumor and sex-specific marker of breast and colorectal cancer. *Oncotarget.* 2017; 8 (14): 23237–45. DOI: 10.18632/oncotarget.15573.
15. Kresovich JK, Xu Z, O'Brien KM, Weinberg CR, Sandler DP, Taylor JA. Methylation-based biological age and breast cancer risk. *J Natl Cancer Inst.* 2019; 111 (10): 1051–8. DOI: 10.1093/jnci/djz020.
16. Dugué PA, Bassett JK, Wong EM, Joo JE, Li S, Yu C. Biological aging measures based on blood DNA methylation and risk of cancer: a prospective study. *JNCI Cancer Spectr.* 2020; 5 (1): pkaa109. DOI: 10.1093/jncics/pkaa109.
17. Wang C, Ni W, Yao Y, Just A, Heiss J, Wei Y. DNA methylation-based biomarkers of age acceleration and all-cause death, myocardial infarction, stroke, and cancer in two cohorts: The NAS, and KORA F4. *EBioMedicine.* 2021; 63: 103151. DOI: 10.1016/j.ebiom.2020.103151.
18. Li X, Schöttker B, Holleczer B, Brenner H. Associations of DNA methylation algorithms of aging and cancer risk: Results from a prospective cohort study. *EBioMedicine.* 2022; 81: 104083. DOI: 10.1016/j.ebiom.2022.104083.
19. Ennour-Idrissi K, Dragic D, Durocher F, Diorio C. Epigenome-wide DNA methylation and risk of breast cancer: a systematic review. *BMC Cancer.* 2020; 20 (1): 1048. DOI: 10.1186/s12885-020-07543-4.
20. Degteva MO, Napier BA, Tolstykh EI, Shishkina EA, Bougrov NG, Krestinina LY, et al. Individual dose distribution in cohort of people exposed as a result of radioactive contamination of the Techa River. *Medical Radiology and Radiation Safety.* 2019; 64 (3): 46–53. Russian.
21. Nikiforov VS. Soderzhanie matrichnoy RNK genov, vovlechenykh v kletochnyy gomeostaz cheloveka, v otdalennyye sroki posle khronicheskogo oblucheniya [dissertation]. Obninsk; 2021. Russian.
22. Blinova EA, Nikiforov VS, Kotikova AI, Yanishevskaya MA, Akleyev AV. Methylation Status of Apoptosis Genes and Intensity of Apoptotic Death of Peripheral Blood Lymphocytes in Persons Chronically Exposed to Radiation. *Mol Biol (Mosk).* 2022; 56 (6): 1072–82. DOI 10.1134/S002689332205003X.
23. Oltvai ZN, Milliman CL, Korsmeyer SJ. Bcl-2 heterodimerizes in vivo with a conserved homolog, Bax, that accelerates programmed cell death. *Cell.* 1993; 74 (4): 609–19. DOI: 10.1016/0092-8674(93)90509-o.
24. Gopisetty G, Ramachandran K, Singal R. DNA methylation and apoptosis. *Mol Immunol.* 2006; 43 (11): 1729–40. DOI: 10.1016/j.molimm.2005.11.010.
25. Alipour M, Zargar SJ, Safarian S, Fouladdel S, Azizi E, Jafargholizadeh N. The study of DNA methylation of BAX gene promoter in breast and colorectal carcinoma cell lines. *Iran J Cancer Prev.* 2013; 6 (2): 59–64.
26. Blinova EA, Kotikova AI, Akleev AV. The intensity of blood lymphocytes apoptosis in exposed individuals with obligate forms of precancerous conditions. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine.* 2023; 176 (8): 233–6. Russian.
27. Verma M, Rogers S, Divi RL, Schully SD, Nelson S, Joseph Su L, et al. Epigenetic research in cancer epidemiology: trends, opportunities, and challenges. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2014; 23 (2): 223–33. DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-13-0573.
28. Flanagan JM, Munoz-Alegre M, Henderson S, Tang T, Sun P, Johnson N, et al. Gene-body hypermethylation of ATM in peripheral blood DNA of bilateral breast cancer patients. *Hum Mol Genet.* 2009; 18 (7): 1332–42. DOI: 10.1093/hmg/ddp033.

ЧАСТОТА ИНВЕРСИЙ В ХРОМОСОМАХ Т-ЛИМФОЦИТОВ У ОБЛУЧЕННЫХ ЖИТЕЛЕЙ ЮЖНОГО УРАЛА

Я. В. Кривошчапова , А. В. Возилова

Уральский научно-практический центр радиационной медицины Федерального медико-биологического агентства, Челябинск, Россия

Известно, что ионизирующее излучение — это один из факторов, повышающих частоту хромосомных перестроек. Распространенность инверсий была мало изучена из-за сложности их выявления общепринятым методом дифференциальной окраски. Комплексное изучение хроматина, его сложных перестроек стало возможно с применением высокотехнологичного молекулярно-генетического метода — флуоресцентной *in situ* гибридизации (FISH). Целью исследования было изучить частоту инверсий с вовлечением теломерных участков хромосом у 36 жителей Южного Урала, почти все из которых подверглись сочетанному хроническому облучению. Рассчитанные индивидуализированные суммарные дозы от внешнего и внутреннего облучения — от 0,0001 до 4,7 Гр. Инверсии выявляли методом флуоресцентной окраски теломерного участка хромосом. В результате обнаружили, что распространены преимущественно хроматидные инверсии по сравнению с хромосомными вариантами (9 : 0,3 на 100 клеток ($p < 0,001$)). Не выявлено зависимости исследованных показателей от дозы облучения, пола и возраста на момент обследования.

Ключевые слова: хромосомные aberrации, инверсии, теломерные районы хромосом, ионизирующее излучение, FISH, река Теча

Финансирование: работа была частично поддержана грантом Российского Фонда Фундаментальных исследований (РФФИ) совместно с Правительством Челябинской области, договор № 20-44-740007\20 от 28.01.2021, а также ФМБА РФ ФЦП «Модернизация высокотехнологичных методов, направленных на выявление медицинских последствий радиационных воздействий на персонал ПО «Маяк» и население Уральского региона» (шифр «Медицинские последствия-21»).

Благодарности: авторы выражают благодарность старшему лаборанту Н. Ф. Савковой за техническую и лабораторную поддержку.

Вклад авторов: А. В. Возилова — идея исследования, постановка научных задач, анализ литературы, написание статьи; Я. В. Кривошчапова — разработка критериев анализа, окраска и анализ стекол, статистика, анализ литературы, написание статьи.

Соблюдение этических стандартов: исследование одобрено этическим комитетом УНПЦ РМ (протокол № 7 от 20 октября 2023 г.), у лиц, участвующих в цитогенетических исследованиях, было получено информированное согласие на забор образцов крови и дальнейшие исследования.

✉ **Для корреспонденции:** Яна Владимировна Кривошчапова
ул. Воровского, д. 68А, г. Челябинск, 454141, Россия; yana_ho@mail.ru

Статья получена: 08.08.2023 **Статья принята к печати:** 15.10.2023 **Опубликована онлайн:** 21.11.2023

DOI: 10.47183/mes.2023.047

FREQUENCY OF INVERSIONS IN THE T-LYMPHOCYTE CHROMOSOMES OF EXPOSED RESIDENTS OF THE SOUTHERN URALS

Krivoshchapova YaV , Vozilova AV

Urals Research Center for Radiation Medicine of the Federal Medical Biological Agency, Chelyabinsk, Russia

It is well-known that ionizing radiation is among factors increasing the rate of chromosomal rearrangements. The inversion rate was poorly understood due to difficulty of inversion identification by the conventional differential staining method. A comprehensive study of chromatin and its complex rearrangements has become possible with the use of the high-tech molecular genetic method, fluorescence *in situ* hybridization (FISH). The study was aimed to assess frequency of inversions involving the chromosome telomeric regions in 36 residents of the South Urals, almost all of them were affected by combined chronic exposure. The calculated individualized cumulative external and internal doses were 0.0001–4.7 Gy. Inversions were identified by fluorescence staining of the chromosome telomeric region. It was found that chromatid inversions were more abundant than chromosomal variants (9 : 0.3 per 100 cells ($p < 0.001$)). No relationship between the studied parameters and the absorbed dose, sex and age at the time of the examination was revealed.

Keywords: chromosomal aberrations, inversions, telomeric regions of chromosomes, ionizing radiation, FISH, Techa River

Funding: the study was supported in part by the Russian Foundation for Basic Research (RFBR) grant together with the Government of the Chelyabinsk Region (Contract № 20-44-740007\20 of 28.01.2021), as well as by the Federal Target Program of FMBA of Russia “Modernization of Hightech Methods Aimed at Identifying Medical Consequences of Radiation Exposure in Personnel of the Mayak PA and the Population of the Ural Region” (code “Medical Consequences-21”).

Acknowledgments: the authors would like to express their gratitude to Savkova N.F., senior laboratory assistant, for technical and laboratory support.

Author contribution: Vozilova AV — study concept, research priority setting, literature review, manuscript writing; Krivoshchapova YaV — developing criteria for analysis, staining and slide assessment, statistics, manuscript writing.

Compliance with the ethical standards: the study was approved by the Ethics Committee of the Urals Research Center for Radiation Medicine (protocol № 7 dated 20 October 2023); individuals, who were through cytogenetic testing, submitted the informed consent to blood sampling and further assessment.

✉ **Correspondence should be addressed:** Yana V. Krivoshchapova
Vorovsky, 68A, Chelyabinsk, 454141, Russia; yana_ho@mail.ru

Received: 08.08.2023 **Accepted:** 15.10.2023 **Published online:** 21.11.2023

DOI: 10.47183/mes.2023.047

В Уральском научно-практическом центре радиационной медицины Федерального медико-биологического агентства России более 60 лет обследуются люди, которые подверглись хроническому облучению в результате сброса жидких радиоактивных отходов ПО «Маяк» в реку Течу на Южном Урале. Длительное наблюдение за когортами

облученных людей приводит исследователей к пониманию сложного взаимодействия факторов радиационной и нерадиационной природы и последующему их влиянию на здоровье человека. Изучение эффектов от воздействия хронического облучения на организм человека остается важной задачей для ученых и медиков, поскольку помогает

выявить механизмы действия радиации и предотвратить неблагоприятные последствия облучения [1].

Большой пласт научных работ посвящен изучению механизмов формирования хромосомных мутаций и установлению их роли в эволюции видов, реализации программ онтогенеза, влиянии на состояние органов и тканей в организме человека [2, 3]. Воздействие ионизирующего излучения может быть причиной реализации разных биологических эффектов, к которым относятся также и хромосомные aberrации [4, 5]. Наиболее изученные хромосомные aberrации — транслокации (стабильные aberrации), а также кольцевые и дицентрические хромосомы (нестабильные aberrации). При наблюдении за когортой облученных лиц, подвергшихся сочетанному хроническому облучению (далее — облучению) на Южном Урале, даже через 70 лет после начала воздействия обнаруживают повышенный фон транслокаций и нестабильных хромосомных aberrаций по отношению к фоновым значениям [6]. В настоящее время имеются единичные работы, которые указывают на прямую корреляцию между повышенной частотой хромосомных перестроек и наличием заболеваний у человека. В качестве эффекта в части работ рассматривают онкологические заболевания. Исследования показали, что до 70% опухолевых клеток содержат разные типы хромосомных перестроек [7].

В последние годы внимание исследователей направлено на изучение упаковки и поведения хроматина в ядре, так как расширился спектр методов для такого рода работ. На основе данных о частоте разных типов хромосомных перестроек и дифференцированном расположении хроматина внутри ядра клетки в 3D-формате ученые создают модели и прогнозируют влияние различных факторов и генетических мутаций на архитектуру хроматина [8].

Хроматин состоит из гетерохроматиновых и эухроматиновых участков, имеет сложную структуру и компактизацию. Известно, что хромосомные перестройки приводят к перераспределению этих структур по плечам хромосом или между разными хромосомами в ядре, либо к элиминации каких-то участков, что неминуемо сказывается на экспрессии онкогенов, генов-супрессоров и т. д. и на жизнедеятельности клеток.

Из стабильных хромосомных aberrаций наименее изучены инверсии вследствие трудоемкости их выявления. Инверсии представляют собой хромосомные перестройки, при которых изменение структуры хромосомы вызвано поворотом на 180° одного из ее участков, и делятся на два класса: перичентрические и парацентрические. Перичентрические инверсии включают центромеру и изменяют структуру хромосом, что позволяет легко их верифицировать при кариотипировании. Парацентрические инверсии обнаружить труднее, так как они не меняют соотношение хромосомных плеч. В основе образования инверсий лежит механизм «разрыв-слияние ДНК» [9].

Биологическая роль инверсий существенна. По данным литературы, инверсии в хромосомах чаще отмечают в клетках опухолевой трансформации, при генетических синдромах у человека, связанных с задержкой развития, аутизмом и эпилепсией [10, 11]. Известно, что инверсии влияют на возникновение кроссинговера между сестринскими хроматидами и сегрегацию хромосом в дочерние клетки, что может приводить к анеупloidии или гибели клеток [12].

Для выявления инверсий в хромосомах существуют различные методы. Среди цитогенетических подходов наиболее распространено и доступно дифференциальное G-окрашивание (метод GTG). Однако сложность и длительность анализа по времени не позволили широко использовать этот подход для оценки распространенности разных типов инверсий в клетках человека. Современный высокотехнологичный метод определения инверсий в хромосомах — это флуоресцентная *in situ* гибридизация, в частности, дифференциальное флуоресцентное многоцветное окрашивание хромосомных плеч M-Band [13–15]. Метод надежный, но весьма дорогой, чтобы изучать популяционные частоты распространенности инверсий в клетках человека. Для этих целей мы опробовали метод FISH с локуспецифичными теломерными зондами [16]. В ходе анализа длины теломерных районов метафазных хромосом периодически внутри хромосомных плеч обнаруживали флуоресцентные сигналы теломер, что свидетельствует об инверсии хроматина с вовлечением концевых районов хромосом. Пилотные результаты исследования частоты инверсий с вовлечением теломерных районов были представлены нами в предыдущей работе [16], однако для уверенности в полученных данных необходимо было расширить выборку, а затем оценить зависимость показателей от факторов радиационной и нерадиационной природы.

Цель исследования — оценить частоту инверсий с вовлечением теломерных районов метафазных хромосом Т-лимфоцитов у лиц, подвергшихся хроническому сочетанному облучению на реке Теча. Для этого была поставлена задача оценить зависимость частоты инверсий от суммарной дозы от внешнего и внутреннего облучения, а также от возраста на момент обследования и пола.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Характеристика обследованных лиц

В настоящее исследование включали жителей Южного Урала до 1960 года рождения, большинство из которых подверглось облучению в суммарной дозе на ККМ (красный костный мозг) в диапазоне от 0,0001 до 4,7 Гр (рассчитаны по системе TRDS-2016). Эти люди входят в когорту реки Течи либо в когорту внутриутробно облученных лиц. Информация о выборке и состоянии здоровья облученных лиц была предоставлена отделом «База данных «Человек»», индивидуализированные суммарные дозы от внешнего и внутреннего облучения (далее — дозы облучения) на ККМ были рассчитаны по системе TRDS-2016 в биофизической лаборатории, данные о наличии онкопатологии в анамнезе обследуемых лиц были предоставлены эпидемиологической лабораторией ФГБУН УНПЦ РМ [1].

Особенность хронического облучения жителей прибрежных сел реки Течи заключалась в том, что облучение было сочетанным — внутреннее β-облучение и внешнее γ-облучение в широком диапазоне доз. В ходе выполнения исследования было обследовано 29 женщин и 7 мужчин. Критерии включения: возраст от 61 до 81 года. 10 доноров имели высокие дозы на ККМ (от 1 до 4,7 Гр), 12 человек имели дозы на ККМ в диапазоне от 0,3 до 0,9 Гр. Группа сравнения включала двух необлученных человек и 12 облученных с дозами на ККМ от 0,0001 до 0,01 Гр.

Критерии исключения: дата рождения после 1961 г.; наличие в анамнезе аутоиммунных, онкологических,

Таблица 1. Характеристика обследованных групп

Дозовая группа, Гр	Число доноров (общее) Возраст, лет		Женщины		Мужчины	
	Число, <i>n</i>	Возраст, лет	Число, <i>n</i>	Возраст, лет	Число, <i>n</i>	Возраст, лет
0–0,01	14	62–72	10	62–72	4	62–70
0,3–0,9	12	69–81	11	69–81	1	72
1–4,7	10	70–76	8	70–76	2	71–72
Вся группа	36	62–81	29	62–81	7	62–72

хронических воспалительных заболеваний в фазе обострения; прием в анамнезе цитостатиков, антибиотиков. Характеристика обследованных групп представлена в табл. 1.

Получение препаратов метафазных хромосом Т-лимфоцитов периферической крови

Цитогенетическое исследование проводили на метафазах, стимулированных фитогемагглютинином (ФГА) Т-лимфоцитов периферической крови. Препараты хромосом получали согласно протоколу, который включает четыре последовательных этапа: культивирование клеток до стадии метафазы, гипотоническую обработку клеток, фиксацию метафазных пластинок и приготовление препаратов хромосом [17]. После раскапывания клеточной суспензии предметные стекла сушили при температуре 42 °С на термоплате, затем хранили в морозильной камере при температуре –20 °С до флуоресцентного окрашивания.

Окраска теломерных районов методом флуоресцентной *in situ* гибридизации с локуспецифичными зондами (FISH)

Инверсии хромосом с вовлечением теломерных районов были оценены с применением теломерных зондов Telomere FISH Kit/Су3 (Dako; Дания). Су3-конъюгированная пептидная нуклеиновая кислота, использованная при изготовлении зонда, представляет собой синтетический аналог ДНК, способный связываться с ДНК хромосом по правилам спаривания оснований. В пептидной нуклеиновой кислоте сахарофосфатный остов заменен нейтральным пептидно-полиамидным остовом, при этом расстояние

между основаниями остается точно таким же, как в ДНК. Важно отметить, что зонд этого комплекта не распознает субтеломерные последовательности хроматина и, следовательно, позволяет окрасить только теломерные районы хромосом [18]. Окрашивали хромосомы в соответствии с протоколом производителя зондов. Анализ флуоресцентно окрашенных препаратов проводили на микроскопе Axio Imager Z2 (Zeiss; Германия) с фильтрами DAPI и SpO (Spectrum Orange) с использованием ПО Isis. В анализ включали метафазы, содержащие 46 хромосом без наложений и артефактов. В каждой клетке на предмет поиска инверсий анализировали все хромосомы. Считали по 100 клеток на одного донора, в ходе исследования всего проанализировали 3600 клеток. Оценивали суммарный показатель инверсий по типам и в сумме в 100 клетках, а также среднюю величину по группе. Поскольку в предыдущей работе подробно представлены критерии деления инверсий на хроматидные и хромосомные [16], кратко напомним примеры механизма образования инверсий и их разные типы (рис. 1, 2).

Статистический анализ

Анализ результатов проводили с использованием пакета программ STATISTICA 10 (StatSoft; США). Для статистической обработки результатов пользовались непараметрическим критерием Манна–Уитни.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Частота встречаемости хромосомных инверсий в диапазоне от 0 до 2 — у 9 человек, а хроматидные инверсии отмечали у всех обследованных в диапазоне от 3 до 26.

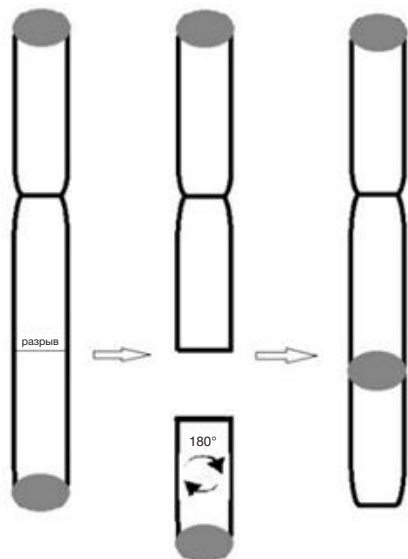


Рис. 1. Предполагаемый механизм образования инверсий с захватом теломерного участка хромосомы

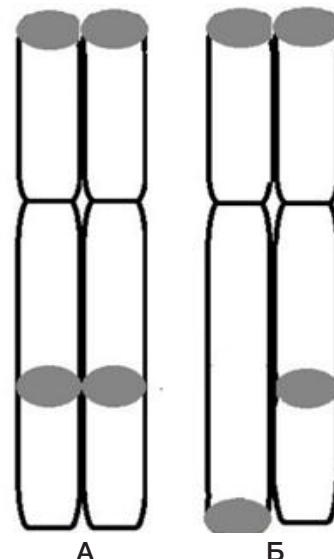


Рис. 2. Типы инверсий — хромосомная (А) и хроматидная (Б) (теломерный участок обозначен серым цветом)

Таблица 2. Частота инверсий (M ± SD) (медиана, 25 и 75%) с вовлечением теломерных районов в Т-клетках у жителей Южного Урала, подвергшихся облучению (на 100 клеток)

Дозовые группы, Гр (n)	Инверсии хроматидные M ± SD, Медиана, (25–75%)	Инверсии хромосомные M ± SD, Медиана, (25–75%)	Инверсии все M ± SD, Медиана, (25–75%)
Гр. сравнения (13)	9,2 ± 4,7 9 (6–11)	0,4 ± 0,7 0 (0–1)	9,6 ± 5,1 9,5 (6–12,5)
0,3–0,9 (11)	9,5 ± 6,0 8 (6,5–9)	0,4 ± 0,2 0 (0–0)	9,6 ± 6,0 8 (7,5–9)
1,00–4,7 (11)	8,7 ± 3,7 7 (6–10,5)	0,2 ± 0,4 0 (0–0)	8,3 ± 4,8 7 (6–10,5)
Вся группа (36)	9,1 ± 4,8 8,5 (6–11)	0,3 ± 0,5 0 (0–0,25)	9,4 ± 5,0 8,5 (6–11)

У необлученных лиц (таких было 2 человека) инверсии хроматидного типа были отмечены с частотой 6 и 19%, а хромосомные соответственно — 0 и 1%. Соотношение среднего показателя частот хроматидных и хромосомных инверсий соответственно 9:0,3 на 100 клеток ($p < 0,001$) (табл. 2).

Как видно из табл. 2, частота инверсий в исследуемых группах с ростом дозы облучения на ККМ статистически не отличалась. Низкие значения наблюдали у лиц с наиболее высокими дозами от 1 до 4,7 Гр. Максимальные показатели характерны для инверсий хроматидного типа (частота 9,2, 9,5 и 8,7 соответственно). Хромосомные инверсии встречались с частотой от 0,4 в первых двух дозовых подгруппах и 0,2 в подгруппе людей, подвергшихся облучению в высоких дозах.

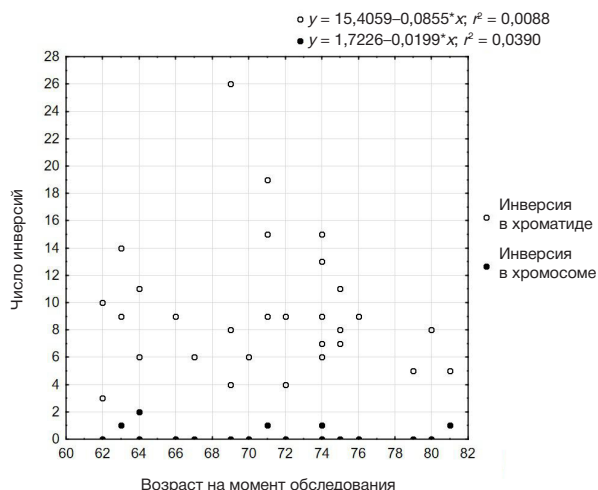
Зависимость частоты инверсий от возраста на момент обследования представлена на рис. 3.

Следовательно, зависимость частоты инверсий от возраста в исследуемом диапазоне от 60–80 лет не выявлена.

Не выявили также зависимости частоты инверсий от дозы облучения ККМ.

Поскольку мужчин в исследуемой выборке было мало, для оценки влияния пола на изучаемый показатель сформировали группу женщин, которых отобрали по типу «случай-контроль» для каждого обследованного мужчины с учетом дозы облучения на ККМ и возраста (табл. 3).

Таким образом, не было обнаружено зависимости частоты инверсий от пола обследуемых людей.

**Рис. 3.** График зависимости частоты инверсий от возраста

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Представленное в настоящей статье исследование продолжает пилотный проект, который начался более 2-х лет назад в лаборатории радиационной генетики УНПЦ РМ в рамках гранта РФФИ. В ходе упомянутого проекта мы оценивали частоту инверсий метафазных хромосом в культивированных Т-клетках периферической крови у облученных жителей Южного Урала [16]. Для этих целей был предложен и апробирован метод флуоресцентной окраски теломерных районов хромосом. В представленной статье была расширена выборка обследуемых лиц и проведен анализ влияния радиационных и нерадиационных факторов на хромосомные перестройки — инверсии с вовлечением теломерных районов хромосом. Оказалось, что расширение выборки подтвердило полученные ранее частоты распространенности инверсий — наиболее часто встречались инверсии хроматидного типа, и их соотношение с хромосомными инверсиями было равно 9 : 0,3.

Очевидно, что хроматидная инверсия образуется в одной из сестринских хроматид после прохождения клеткой синтетической стадии деления клетки, а хромосомная — это результат возникновения инверсии до синтетической стадии, что в итоге приводит к удвоению инвертированной хроматиды в данной стадии. При этом концы плеч сестринских хроматид остаются лишеными теломерных районов, что служит маркером гибели данной клетки. Данный тезис подтверждают более низкие частоты

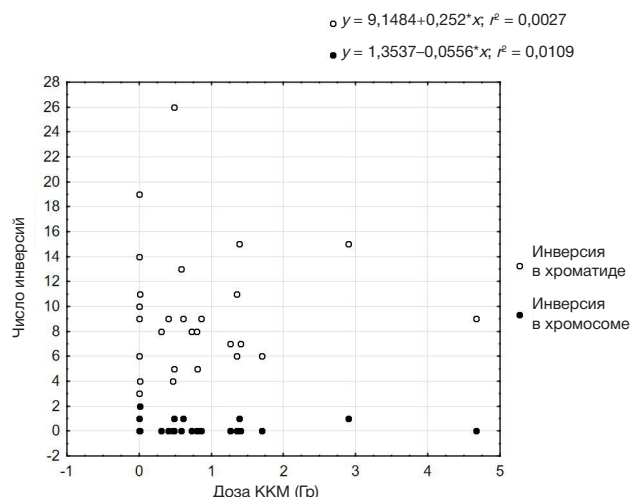
**Рис. 4.** Зависимость частоты инверсий от дозы облучения обследованных людей

Таблица 3. Зависимость частоты инверсий от пола ($M \pm SD$) на 100 клеток

Пол (<i>n</i>)	Возраст, лет	Доза, Гр	Инверсии хроматидные	Инверсии хромосомные	Инверсии все
М (7)	61–72	0,003–1,35	8,3 ± 4,3	0,1 ± 0,4	8,4 ± 4,6
Ж (7)	62–75	0,0001–1,35	7,7 ± 3,4	0,3 ± 0,5	8 ± 3,8

хромосомных инверсий. Если бы клетки могли выживать с такими перестройками, то мы бы видели высокие показатели частот хромосомных инверсий или других перестроек хромосом (например, транслокаций ди- или более центричных хромосом, кольцевых хромосом), чего не было отмечено при анализе препаратов.

Анализ литературы дает основание полагать, что в клетке существуют механизмы элиминации поврежденных хромосом или клеток, что позволяет сохранять целостность хромосом в клетке и генома во всех клетках организма.

Согласно полученным в нашем исследовании данным, большое количество инверсий содержит теломерные повторы. Анализ литературы позволил найти работы, в которых отмечается, что теломерные последовательности встречаются внутри хромосомного хроматина у многих организмов, в том числе и у человека, и известны как «внутренние теломерные последовательности» (ITS) [19, 20]. Эти участки считаются результатом перестроек генома в эволюции кариотипов, что подчеркивает важность их изучения. Есть предположения, объясняющие механизмы встраивания теломерных участков при репарации. Считается, что короткие теломерные повторы могут либо быть вставлены системами репарации двунитевых разрывов, в которые вовлечена теломераза [21], либо появиться в результате репликации, индуцированной двунитевыми разрывами, и таргетного встраивания теломерных последовательностей [22], в основе которого лежит механизм альтернативного удлинения теломер с вовлечением некоторых компонентов гомологичной рекомбинации [23]. Петли, образованные теломерными последовательностями, составляют важную компоненту трехмерной укладки хроматина в ядре, которая, в свою очередь, представляет собой значимый аспект регуляции функционирования всех процессов в геноме [24]. Таким образом, ИТЛ могут опосредовать теломерную регуляцию дистанцированных от теломер областей генома.

Учитывая, что механизм образования инверсий такой же, как и транслокаций — «разрыв-слияние ДНК», — можно предположить, что под действием регуляторных механизмов происходит делеция генов белков, обеспечивающих функцию стабилизации конца хромосомы (например, TRF2), в результате чего и возникает хромосомная перестройка. Вследствие этого хромосома может либо элиминироваться, либо стать кольцевой, либо «спастись» при помощи инверсии. Одноцепочечная теломерная последовательность, оказавшись внутри хромосомы, вероятно, достраивается теломеразой, которая начинает работать за счет взаимодействия РНК-матрицы с затравкой — одиночной цепью. Теломераза добавляет к затравке нуклеотиды в порядке, диктуемом структурой матрицы [25].

Ранее мы привели частоты хромосомных aberrаций, которые оценили в группе лиц, подвергшихся облучению в высоких дозах на Южном Урале [16]. Так, в ходе анализа препаратов хромосом чаще всего отмечались хроматидные инверсии — 9%, простые транслокации — 5%, комплексные — 0,6%, и самыми редкими aberrациями были хромосомные инверсии — 0,3%. Учитывая, что в ядре каждая хромосома занимает строго определенное пространство и в норме не пересекается с хроматином других хромосом, становится объяснимым тот факт, что наиболее частые преобразования будут отмечаться в пределах одной хроматиды (хромосомы) [8]. Так, известно, что в клетке человека образуется до 55 000 однонитевых разрывов ДНК, которые в большинстве своем репарируются. Однако если есть нарушения структуры петли хроматина, то при репарации происходит хроматидная инверсия, что подтверждено нами. Понятно, что если речь идет об обмене участками разных хромосом, то более вероятно образование простых транслокаций, чем комплексных перестроек, предполагающих разрывы одновременно в разных хромосомах и их близкое расположение для репарационных систем. Согласно полученным нами данным, такие перестройки будут встречаться в 10 раз реже, чем простые транслокации. Редкое обнаружение хромосомных инверсий косвенно подтверждает наше предположение, что эти aberrации летальны для клетки либо подобные хромосомы элиминируются в ходе деления. Данный тезис требует дальнейшего подтверждения.

Таким образом, считаем, что дальнейшее изучение структуры хроматина клеточного ядра, в частности, хромосомных инверсий, важно для понимания того, как гены взаимодействуют друг с другом и каковы биологические механизмы этого взаимодействия на хромосомном уровне.

ВЫВОДЫ

В выборке жителей Южного Урала, подвергшихся сочетанному хроническому облучению в диапазоне поглощенных доз на ККМ от 0,0001 до 4,7 Гр, частота инверсий с участием теломерных районов хромосом Т-лимфоцитов составила от 1 до 26 на 100 клеток. Частота инверсий хроматидного типа соотносится с инверсиями хромосомного типа как 9 : 0,3 на 100 клеток. Не выявлено зависимости частоты инверсий хроматидного и хромосомного типа от суммарной поглощенной дозы на ККМ. Не выявлено зависимости частоты инверсий хроматидного и хромосомного типа от возраста в диапазоне от 60 до 80 лет и пола.

Литература

1. Аклев А. В., редактор. Последствия радиоактивного загрязнения реки Теча. Челябинск: Книга, 2016; 400 с.
2. Venkatesan S, Natarajan AT, Hande MP. Chromosomal instability-mechanisms and consequences. *Mutat Res Gen Toxicol Environ Mutagen*. 2015; 793: 176–84.
3. Bailey SM, Bedford JS. Studies on chromosome aberration induction: What can they tell us about DNA repair? *DNA repair*. 2006; 5: 1171–81.
4. Cytogenetic analysis for radiation dose assessment: a manual. International Atomic Energy Agency Technical Reports Series. 2001; 405: 30–45.
5. Возилова А. В. Оценка влияния хронического облучения на преждевременное старение Т-лимфоцитов человека на основе нестабильных хромосомных aberrаций. *Медицина экстремальных ситуаций*. 2023; 2 (25): 50–5.
6. Vozilova AV, Shagina NB, Degteva MO, Akleyev AV. Chronic radioisotope effects on residents of the Techa river (Russia) region: cytogenetic analysis more than 50 years after onset of exposure *Mutation Research*. 2013; 756 (1–2): 115–8.
7. Bonassi S, Norppa H, Ceppi M, Strömberg U, Vermeulen R, Znaor A, et al. Chromosomal aberration frequency in lymphocytes predicts the risk of cancer: results from a pooled cohort study of 22 358 subjects in 11 countries. *Carcinogenesis*. 2008; 29 (6): 1178–83.
8. Eidelman YA, Salnikov IV, Slanina SV, Andreev SG. Chromosome folding promotes intrachromosomal aberrations under radiation- and nuclease-induced DNA breakage. *Int J Mol Sci*. 2021; 22 (22): 12186. DOI: 10.3390/ijms222212186.
9. Bunting SF, Nussenzweig A. End-joining, translocations and cancer. *Nat Rev Cancer*. 2013; 13 (7): 443–54.
10. Iourov IY, Vorsanova SG, et al. The Cytogenomic “Theory of Everything” chromohelikosis may underlie chromosomal instability and mosaicism in disease and aging. *Int. J. Sci*. 2020; 21: 8328.
11. Puig M, Casillas S, Villatoro S, et al. Human inversions and their functional consequences. *Briefings in Functional Genomics*. 2015; 14 (5): 369–79.
12. Hoffmann AA, Rieseberg LH. Revisiting the impact of inversions in evolution: from population genetic markers to drivers of adaptive shifts and speciation. *Annu Rev Ecol Evol Syst*. 2008; 39: 21–42.
13. Ray FA, Zimmerman E, et al. Directional genomic hybridization for chromosomal inversion discovery and detection. *Chromosome Res*. 2013; 21: 165–74.
14. Livingston GK, Ryan T, Smith TL, et al. Detection of simple, complex, and clonal chromosome translocations induced by internal radioiodine exposure: a cytogenetic follow-up case study after 25 years. *Cytogen Genome Res*. 2019; 159: 169–81.
15. Luxton J, McKenna M, Lewis A, et al. Telomere length dynamics and DNA damage responses associated with long-duration spaceflight. *Cell Rep*. 2020; 33 (10): 108457. DOI: 10.1016/j.celrep.2020.108457.
16. Возилова А. В., Кривошапова Я. В. Исследование частоты инверсий и комплексных транслокаций в Т-лимфоцитах у облученных жителей Южного Урала. *Радиационная биология. Радиоэкология*. 2022; 62 (4): 408–15.
17. Vozilova AV, Shagina NB, Degteva MO, et al. Chronic radioisotope effects on residents of the Techa river (Russia) region: cytogenetic analysis more than 50 years after onset of exposure *Mutation Research*. 2013; 756 (1–2): 115–8.
18. Nielsen PE, Egholm M, Berg RH, Buchardt O. Sequence-selective recognition of DNA by strand displacement with a thymine-substituted polyamide. *Sci*. 1991; 254 (5037): 1497–500.
19. Ruiz-Herrera A, Nergadze SG, Santagostino M, Giulotto E. Telomeric repeats far from the ends: Mechanisms of origin and role in evolution. *Cytogenetic and Genome Research*. 2009; 122 (3–4): 219–28.
20. Bolzán AD. Interstitial telomeric sequences in vertebrate chromosomes: Origin, function, instability and evolution. *Mutation Research*. 2017; 773: 51–65.
21. Nergadze SG, Santagostino MA, Salzano A, Mondello C, Giulotto E. Contribution of telomerase RNA retrotranscription to DNA double-strand break repair during mammalian genome evolution. *Genome Biology*. 2007; 8 (12): R260.
22. Marzec P, Armenise C, Pérot G, Roumelioti FM, Basyuk E, Gagos S, et al. Nuclear-receptor-mediated telomere insertion leads to genome instability in ALT cancers. *Cell*. 2015; 160 (5): 913–27.
23. Muntoni A, Reddel RR. The first molecular details of ALT in human tumor cells. *Human Molecular Genetics*. 2005; 14 (2): 191–6.
24. Gonzalez-Suarez I, Gonzalo S, Crosstalk between chromatin structure, nuclear compartmentalization, and telomere biology. *Cytogenetic and Genome Research*. 2009; 122 (3–4): 202–10.
25. Льюин Б. Гены. М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2011; 896 с.

References

1. Aklev AV, editor. Consequences of radioactive contamination of the river Techa. Chelyabinsk: The Book, 2016; p. 400. Russian.
2. Venkatesan S, Natarajan AT, Hande MP. Chromosomal instability-mechanisms and consequences *Mutat. Res Gen Toxicol Environ Mutagen*. 2015; 793: 176–84.
3. Bailey SM, Bedford JS. Studies on chromosome aberration induction: What can they tell us about DNA repair? *DNA repair*. 2006; 5: 1171–81.
4. Cytogenetic analysis for radiation dose assessment: a manual. International Atomic Energy Agency Technical Reports Series. 2001; 405: 30–45.
5. Vozilova AV. Assessment of the effect of chronic exposure on premature aging of human T-lymphocytes based on unstable chromosome aberrations. *Extreme medicine*. 2023; 2 (25): 50–5. Russian.
6. Vozilova AV, Shagina NB, Degteva MO, Akleyev AV. Chronic radioisotope effects on residents of the Techa river (Russia) region: cytogenetic analysis more than 50 years after onset of exposure *Mutation Research*. 2013; 756 (1–2): 115–8.
7. Bonassi S, Norppa H, Ceppi M, Strömberg U, Vermeulen R, Znaor A, et al. Chromosomal aberration frequency in lymphocytes predicts the risk of cancer: results from a pooled cohort study of 22 358 subjects in 11 countries. *Carcinogenesis*. 2008; 29 (6): 1178–83.
8. Eidelman YA, Salnikov IV, Slanina SV, Andreev SG. Chromosome folding promotes intrachromosomal aberrations under radiation- and nuclease-induced DNA breakage. *Int J Mol Sci*. 2021; 22 (22): 12186. DOI: 10.3390/ijms222212186.
9. Bunting SF, Nussenzweig A. End-joining, translocations and cancer. *Nat Rev Cancer*. 2013; 13 (7): 443–54.
10. Iourov IY, Vorsanova SG, et al. The Cytogenomic “Theory of Everything” chromohelikosis may underlie chromosomal instability and mosaicism in disease and aging. *Int. J. Sci*. 2020; 21: 8328.
11. Puig M, Casillas S, Villatoro S, et al. Human inversions and their functional consequences. *Briefings in Functional Genomics*. 2015; 14 (5): 369–79.
12. Hoffmann AA, Rieseberg LH. Revisiting the impact of inversions in evolution: from population genetic markers to drivers of adaptive shifts and speciation. *Annu Rev Ecol Evol Syst*. 2008; 39: 21–42.
13. Ray FA, Zimmerman E, et al. Directional genomic hybridization for chromosomal inversion discovery and detection. *Chromosome Res*. 2013; 21: 165–74.
14. Livingston GK, Ryan T, Smith TL, et al. Detection of simple, complex, and clonal chromosome translocations induced by internal radioiodine exposure: a cytogenetic follow-up case study after 25 years. *Cytogen Genome Res*. 2019; 159: 169–81.
15. Luxton J, McKenna M, Lewis A, et al. Telomere length dynamics and DNA damage responses associated with long-duration spaceflight. *Cell Rep*. 2020; 33 (10): 108457. DOI: 10.1016/j.celrep.2020.108457.

- celrep.2020.108457.
16. Vozilova AV, Krivoshchapova YaV. Investigation of the frequency of inversions and complex translocations in T-lymphocytes in irradiated residents of the Southern Urals. *Radiation Biology. Radioecology*. 2022; 62 (4): 408–15. Russian.
 17. Vozilova AV, Shagina NB, Degteva MO, et al. Chronic radioisotope effects on residents of the Techa river (Russia) region: cytogenetic analysis more than 50 years after onset of exposure *Mutation Research*. 2013; 756 (1–2): 115–8.
 18. Nielsen PE, Egholm M, Berg RH, Buchardt O. Sequence-selective recognition of DNA by strand displacement with a thymine-substituted polyamide. *Sci*. 1991; 254 (5037): 1497–500.
 19. Ruiz-Herrera A, Nergadze SG, Santagostino M, Giulotto E. Telomeric repeats far from the ends: Mechanisms of origin and role in evolution. *Cytogenetic and Genome Research*. 2009; 122 (3–4): 219–28.
 20. Bolzán AD. Interstitial telomeric sequences in vertebrate chromosomes: Origin, function, instability and evolution. *Mutation Research*. 2017; 773: 51–65.
 21. Nergadze SG, Santagostino MA, Salzano A, Mondello C, Giulotto E. Contribution of telomerase RNA retrotranscription to DNA double-strand break repair during mammalian genome evolution. *Genome Biology*. 2007; 8 (12): R260.
 22. Marzec P, Armenise C, Pérot G, Roumelioti FM, Basyuk E, Gagos S, et al. Nuclear-receptor-mediated telomere insertion leads to genome instability in ALT cancers. *Cell*. 2015; 160 (5): 913–27.
 23. Muntoni A, Reddel RR. The first molecular details of ALT in human tumor cells. *Human Molecular Genetics*. 2005; 14 (2): 191–6.
 24. Gonzalez-Suarez I, Gonzalo S. Crosstalk between chromatin structure, nuclear compartmentalization, and telomere biology. *Cytogenetic and Genome Research*. 2009; 122 (3–4): 202–10.
 25. Lewin B. *Genes*. М.: BINOM. Laboratoriya znaniy, 2011; 896 с. Russian.

ВЛИЯНИЕ ЦИСТАМИНА НА ПРОПУЛЬСИВНУЮ ФУНКЦИЮ ЖЕЛУДКА И ГАЗООБМЕН У КРЫС ПРИ ЛУЧЕВОЙ МИЕЛОАБЛЯЦИИ

О. А. Вакуненко¹, Ю. Ю. Ивницкий¹, О. А. Данилова², Т. В. Шефер²✉, В. Л. Рейнюк¹

¹ Научно-клинический центр токсикологии имени академика С. Н. Голикова Федерального медико-биологического агентства, Санкт-Петербург, Россия

² Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины Министерства обороны Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

Облучение реципиентов перед пересадкой стволовых кроветворных клеток способно вызвать желудочно-кишечный стаз (ЖКС). С ним связаны осложнения лучевой миелоабляционной терапии: поздняя рвота, избыточный бактериальный рост, эндотоксикоз, системное воспаление и сепсис. Целью работы было оценить возможность предупреждения ЖКС при лучевой миелоабляции профилактическим введением в желудок цистамина дигидрохлорида. У крыс определяли выраженность ЖКС, содержание маркеров энтероцитов в тканях тонкой кишки и показатель кишечного эндотоксикоза — экскрецию индикана с мочой — через 72 ч после общего однократного рентгеновского облучения в дозе 9,64 Гр (1,1 LD_{99/30}); ежедневно регистрировали потребление животными кислорода. Облучение вызывало ЖКС с преобладанием гастростаза, снижало активность холинэстеразы и щелочной фосфатазы в тканях тонкой кишки в 1,5–4,8 раза, вдвое повышало экскрецию индикана с мочой, на 17–32% снижало потребление кислорода организмом. Введение цистамина в основном предупреждало гастростаз, но не оказывало существенного влияния на показатели лучевой энтероцитопении, не предупреждало накопление химуса в слепой кишке, гипериндиканурию, лучевую гипотрофию селезенки и снижение интенсивности газообмена. Цистамин перспективен для апробации на крупных животных в качестве селективного средства экстренной профилактики гастростаза при лучевой миелоабляционной терапии.

Ключевые слова: крысы, лучевая миелоабляция, цистамин, желудочно-кишечный стаз, гастростаз, индикан, энтероцитопения, газообмен

Вклад авторов: О. А. Вакуненко — выполнение экспериментальной части работы; Ю. Ю. Ивницкий — научный замысел, разработка экспериментальной модели, интерпретация и обсуждение результатов; О. А. Данилова — биохимические исследования тканей; Т. В. Шефер — экспериментальная часть, обработка и визуализация данных, разработка экспериментальной модели; В. Л. Рейнюк — методическое руководство исследованиями газообмена. Все авторы участвовали в обсуждении результатов, подготовке и редактировании рукописи статьи.

Соблюдение этических стандартов: исследование выполняли с соблюдением правил биоэтики, утвержденных Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других целей.

✉ **Для корреспонденции:** Тимур Васильевич Шефер
Лесопарковая ул., д. 4, г. Санкт-Петербург, 195043, Россия; schafer@yandex.ru

Статья получена: 29.09.2023 **Статья принята к печати:** 20.11.2023 **Опубликована онлайн:** 07.12.2023

DOI: 10.47183/mes.2023.050

EFFECT OF CYSTAMINE ON GASTRIC PROPULSIVE FUNCTION AND GAS EXCHANGE IN THE RAT MODEL OF RADIATION-INDUCED MYELOABLATION

Vakunenkova OA¹, Ivnitsky JuJu¹, Danilova OA², Schäfer TV²✉, Rejniuk VL¹

¹ Golikov Research Clinical Center of Toxicology of the Federal Medical Biological Agency, Saint-Petersburg, Russia

² State Scientific Research Test Institute of the Military Medicine of Defense Ministry of the Russian Federation, Saint-Petersburg, Russia

Radiation exposure of recipients before hematopoietic stem cell transplantation can cause gastrointestinal (GI) stasis. It is associated with complications of myeloablative radiation therapy: delayed vomiting, excess bacterial growth, endotoxemia, systemic inflammation, and sepsis. The study was aimed to assess the possibility of GI stasis prevention by intragastric administration of cystamine dihydrochloride when using radiation-induced myeloablation. The severity of GI stasis, levels of enterocyte markers in the small intestinal tissues and the indicator of intestinal endotoxemia, urinary indican excretion, were assessed in rats 72 h after the single total-body X-ray exposure to the dose of 9.64 Gy (1.1 LD_{99/30}); the animals' whole body oxygen consumption was recorded daily. Irradiation caused GI stasis with predominant gastric stasis, the 1.5–4.8-fold decrease in the cholinesterase and alkaline phosphatase activity in the small intestinal tissues, doubled the urinary indican excretion, the whole body oxygen consumption reduction by 17–32%. Cystamine administration generally prevented gastric stasis, but had no significant effect on the characteristics of radiation-induced enterocytopenia and did not prevent accumulation of chyme in the caecum, hyperindicanuria, radiation-induced spleen hypotrophy, and decrease in gas exchange rate. Cystamine is promising for testing in large animals as a selective agent for emergency prevention of gastric stasis during myeloablative radiation therapy.

Keywords: rats, radiation myeloablation, cystamine, gastrointestinal stasis, gastric stasis, indican, enterocytopenia, gas exchange

Author contribution: Vakunenkova OA — experimental procedure; Ivnitsky JuJu — rationale, developing the experimental model, data interpretation and discussion; Danilova OA — tissue biochemistry studies; Schäfer TV — experimental procedure, data processing and visualization, developing the experimental model; Rejniuk VL — methodological guidance of gas exchange assessment. All authors contributed to discussion, manuscript writing and editing.

Compliance with the ethical standards: the study was carried out in accordance with the principles of bioethics, approved by the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and Other Scientific Purposes.

✉ **Correspondence should be addressed:** Timur V. Schäfer
Lesoparkovaya, 4, Saint-Petersburg, 195043, Russia; schafer@yandex.ru

Received: 29.09.2023 **Accepted:** 20.11.2023 **Published online:** 07.12.2023

DOI: 10.47183/mes.2023.050

Термин «миелоабляция» предложен в 1952 г. для обозначения необратимой панцитопении после общего однократного рентгеновского облучения тела в супралетальной дозе [1]. Лучевая миелоабляция нашла применение в клинике для подготовки реципиентов

к пересадке стволовых кроветворных клеток; такую подготовку обозначают термином «кондиционирование» [2]. Облучение в 1–3 фракции в суммарных дозах 8–12 Гр с пересадкой через 2–5 суток стволовых кроветворных клеток используют для радикального лечения гемобластозов,

ряда солидных опухолей, миелодиспластических и аутоиммунных заболеваний [3]. При острых лейкозах лучевую миелоабляцию применяют изолированно или в комбинации с химиотерапией. В последнем случае ее рассматривают как способ преодоления химиорезистентности опухолевых клеточных клонов [4]. Лучевая миелоабляция — основной метод лечения Т-клеточного острого лимфобластного лейкоза у детей и взрослых [5, 6]. Облучение в миелоабляционных дозах возможно и вне клиники: на первой стадии аварии энергетического ядерного реактора, при действии проникающей радиации ядерного взрыва, во время пребывания в зонах опасного или чрезвычайно опасного радиоактивного заражения местности продуктами ядерного взрыва [7].

Наиболее частые и тяжелые осложнения лучевой миелоабляционной терапии — расстройства, которые в зарубежных клинических исследованиях фигурируют под диагнозами “oral mucositis” (оральный мукозит) и “gastrointestinal toxicities” (желудочно-кишечные расстройства) [8, 9]. Их общая патогенетическая основа — нарушение регенерации эпителия слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта. Среди его органов наиболее значимо поражение эпителия тонкой кишки. Поэтому избирательная противолучевая защита слизистой оболочки тонкой кишки представляется перспективным подходом к профилактике желудочно-кишечных осложнений лучевой миелоабляционной терапии.

Одно из них — желудочно-кишечный стаз (ЖКС), обратимое дозозависимое торможение транзита желудочно-кишечного химуса. Публикации о таких клинических наблюдениях немногочисленны, но возможность воспроизведения ЖКС облучением в дозах, превышающих 1 Гр, крыс [10], морских свинок [11], собак [12] и обезьян [13] позволяет предположить, что он осложняет лучевую миелоабляционную терапию чаще, хотя и под «маской» других диагнозов. Он развивался у 26% реципиентов после завершения острой первичной реакции на облучение, проявлялся в виде тошноты, рвоты, вздутия и растяжения желудка и был подтвержден сцинтиграфически [14].

Клиническая значимость ЖКС определяется его влиянием на исход лучевого воздействия: он препятствует питанию пациентов, лишает смысла пероральное назначение им медикаментозных средств, способствует повреждению энтерогемаического барьера с поступлением в кровь липополисахаридов грамотрицательных бактерий и развитием сепсиса [15]. Сопровождающий его избыточный рост кишечной микрофлоры ведет к реализации кворум-эффекта, интенсификации образования ею токсичных веществ, формированию эндотоксемии и эндотоксикоза [16]. Некоторые из таких веществ обладают пульмонотоксическим действием, а переполненный химусом желудок может ограничивать экскурсию диафрагмы. Иногда у реципиентов после курса миелоабляционной терапии рентгенологическая тень желудка распространяется на значительную часть не только брюшной, но и грудной полости [17]. Поэтому возможные следствия формирования гастростаза — нарушение внешнего дыхания и газообмена.

Возможно, ЖКС представляет собой защитную реакцию на формирование острого лучевого мукозита, ведущее звено патогенеза которого — цитопения. В связи с этим можно предположить, что предотвращать ЖКС способны препараты, предупреждающие цитопению, — радиопротекторы. Наибольший интерес представляют

индралин, одно из современных табельных противолучевых средств [18], и цистамина дигидрохлорид, ранее использовавшийся в этом качестве. Последний в течение длительного времени был единственным серосодержащим радиопротектором, зарегистрированным в нашей стране, и в 1960–2012 гг. находился в составе аптек и комплектов медицинского имущества для войскового звена медицинской службы Вооруженных Сил Российской Федерации. Имеется и опыт его применения в клинике [19]. Несмотря на то что по состоянию на 20 ноября 2023 г. этот препарат не значится в Государственном реестре лекарственных средств, его апробация в качестве средства патогенетической профилактики ЖКС лучевой природы представляется оправданной. Целью настоящей работы была проверка гипотезы о том, что вводимый в желудок цистамина дигидрохлорид предупредит развитие ЖКС, эндотоксикоза и нарушений газообмена при моделировании на крысах лучевой миелоабляции.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Использовали самцов крыс линии Вистар (161–190 г), приобретенных в питомнике ФГУП «ПЛЖ «Рапполово»». Рацион состоял из стандартного корма для крыс и питьевой воды *ad libitum*. Животных случайным образом распределяли по экспериментальным группам. Для лишения корма их на заданное время помещали в клетки с решетчатым полом, исключавшим копрофагию и поедание элементов подстилки при доступе только к воде.

Продолжительность кондиционирования на порядок меньше периода пострадиационного полувосстановления, для человека составляющего 25–45 суток. Поэтому, несмотря на то что дозу миелоабляционного воздействия обычно фракционируют, ее эффективность значение существенно не отличается от значения суммы фракций. С учетом этого лучевую миелоабляцию моделировали общим однократным рентгеновским облучением в многофункциональной передвижной рентгеновской установке (ЗАО «ЭЛТЕХ-Мед»; Россия). Крыс помещали по восемь особей в пеналы из полиэтилентерефталата, которые устанавливали радиально головой к центру в круглый штатив из полиметилметакрилата. Параметры облучения: фокусное расстояние — 564 мм; анодное напряжение — 60 кВ; анодный ток — 13 мА; фильтр: 8 мм полиметилметакрилата + 0,4 мм полиэтилентерефталата; поглощенная доза в геометрическом центре тела — 9,64 Гр (1,1 ЛД_{99/30}). Данная доза идентифицирована по результатам предварительного изучения дозовой зависимости средней продолжительности жизни облученных крыс как максимальная доза, при которой продолжительность жизни всех животных была не менее трех суток после облучения, что для человека соответствует средней продолжительности миелоабляционного кондиционирования. Мощность дозы излучения составила 0,27 Гр/мин. Отношение минимальной и максимальной доз облучения тела составляло 0,9 в каудо-краниальном и 0,5 — в вентро-дорсальном направлении. Облучение, продолжавшееся 52 мин, выполняли в три фракции продолжительностью по 12 мин с двумя интервалами по 8 мин. В предварительных экспериментах такое облучение вело к формированию через трое суток панцитопенического синдрома, снижению относительной массы селезенки на 62% и костного мозга бедра на 41%, удельного содержания ДНК в этих тканях — в 2 и 1,9 раз соответственно, и гибели животных через 5,9 ± 1,5 суток ($M \pm m, n = 16$).

Лапаротомию, извлечение органов проводили под масочным фторотановым наркозом. Выраженность ЖКС оценивали по относительной массе желудочного и слепок кишечного химусов, которую рассчитывали как разность масс заполненного химусом и пустого органа (*gaster, caecum*), г, отнесенную к массе тела, кг.

На первом этапе работы изучали динамику формирования ЖКС после миелоабляционного воздействия. Для этого животных распределяли в восемь групп, из которых четыре были представлены особями, лишенными доступа к корму через 2, 24, 48 или 72 ч после облучения, остальные (контрольные) — лишенными корма в те же сроки, но не облученными, при свободном доступе к воде. Через 72 ч после облучения у животных оценивали выраженность ЖКС.

На втором этапе изучали влияние цистамина дигидрохлорида на выраженность ЖКС, интенсивность роста желудочно-кишечной микрофлоры и содержание маркеров энтероцитов в тканях тонкой кишки. Использовали крыс, имевших неограниченный доступ к воде, но лишенных доступа к корму с 24 по 72 ч после облучения. Животных распределяли в три группы, из которых первая была представлена интактными особями, не получавшими цистамина, а остальные — облученными. Крысы второй группы радиопротектор не получали. В желудок животным третьей группы вводили водный раствор цистамина дигидрохлорида (синтезирован в ГНИИИ ВМ МО РФ) в дозе 120 мг/кг в объеме 10 мл/кг за 30 мин до начала облучения. Эта доза с учетом отношения массы и площади поверхности тела для человека биоэквивалентна дозе 1,2 г, в которой препарат предписывалось принимать за 30–40 мин до облучения, т. е. содержанию пенициллина из аптек индивидуальных АИ-1, АИ-1М и АИ-2. Через 48 ч после облучения крыс помещали в метаболические камеры для сбора мочи. Через 72 ч после облучения животных лапаротомировали, оценивали выраженность ЖКС, извлекали проксимальные отрезки двенадцатиперстной, тощей и дистальные отрезки подвздошной кишок. Для оценки избирательности действия радиопротектора наряду с относительной массой химуса *gaster* и *caecum* определяли относительную массу селезенки в качестве показателя миелопротективного эффекта.

На третьем этапе изучали динамику показателей газообмена и внешнего дыхания в течение трех суток после облучения животных без защиты или на фоне введения им цистамина.

Интенсивность роста желудочно-кишечной микрофлоры оценивали по экскреции индикана с мочой. В собранной за сутки моче количественным колориметрическим методом [20] определяли индикан, экскрецию которого выражали в микрограммах на килограмм массы тела в час.

Энтероцитопению количественно оценивали по активности в тканях *duodenum*, *jejunum* и *ileum* маркеров плазмалеммы энтероцитов: холинэстеразы (ХЭ) и щелочной фосфатазы (ЩФ). Отрезки тонкой кишки длиной по 4 см взвешивали, гомогенизировали в 15-кратном объеме трис-НСI буфера (50 ммоль/л, pH 7,4), замораживали при -20°C , через 15 ч размораживали при 4°C и центрифугировали 10 мин при 2000 g. В супернатанте определяли содержание белка по Брэдфорду. Активность ХЭ определяли методом Элмана на биохимическом анализаторе ChemWell 2910 (Awareness Tech.; США) с ацетилтиохолина йодидом в качестве субстрата. Активность ЩФ определяли кинетическим методом с помощью набора реактивов (ООО «Ольвекс диагностика»; Россия) при 37°C на

биохимическом анализаторе ChemWell 2910 (Awareness Tech.; США).

Интенсивность потребления кислорода организмом определяли в аппарате Миропольского. В течение двух дней до начала исследования животных приучали к респирометрической камере. Интенсивность потребления кислорода организмом — Q_{O_2} , мл/(кг · мин) — находили из уравнения:

$$Q_{O_2} = V \cdot F / (m \cdot \Delta t),$$

где V — объем манометрической жидкости, поступившей в бюретку, мл; F — коэффициент для приведения объема кислорода к нормальным условиям; m — масса тела животного, кг; Δt — длительность пребывания крысы в герметизированной камере, мин.

Продолжительность измерения составляла 3 мин, его абсолютная погрешность — 0,1 мл ($\leq 2\%$ величины V), объем респирометрической камеры — 0,9 л. Животных не фиксировали, они свободно располагались в респирометрической камере и выглядели заторможенными. В это время у них подсчитывали частоту дыхательных движений (ЧДД, мин⁻¹), которую рассматривали как показатель интенсивности внешнего дыхания. Показателем эффективности внешнего дыхания служило среднее потребление кислорода организмом за один дыхательный цикл (мл/кг), которое рассчитывали как соотношение Q_{O_2} и ЧДД. Значения Q_{O_2} , ЧДД и $Q_{O_2}/\text{ЧДД}$, найденные после облучения, выражали в процентах от исходного уровня, который принимали за 100%.

Результаты представляли в виде среднего значения и его ошибки ($M \pm m$). Влияние радиопротектора на исследуемые количественные показатели оценивали с помощью дисперсионного анализа. При значимости полученных различий межгрупповое сравнение средних величин выполняли с помощью теста честной значимой разницы Тьюки. Связь между признаками выражали с помощью рангового коэффициента корреляции Спирмена r_s . Критический уровень значимости α приняли равным 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Через 72 ч после облучения расширенный и заполненный химусом желудок занимал большую часть объема брюшной полости крыс, лишенных корма в течение 48 ч до лапаротомии; у интактных животных он выглядел пустым. Объем слепой кишки после облучения был увеличен в меньшей степени (рис. 1). Корм, съеденный после облучения, в течение всего времени наблюдения накапливался в желудке, что вело к прогрессирующему увеличению относительной массы желудочного химуса. Накопление химуса в слепой кишке было более медленным, что увеличивало соотношение масс желудочного и слепок кишечного химусов в 2–6 раз в зависимости от продолжительности доступа к корму, в сравнении с соответствующими показателями у необлученных животных (рис. 2).

У облученных крыс, не получавших цистамина и лишенных корма через 24 ч после облучения, масса тела через 72 ч после облучения составляла $78,9 \pm 1,1\%$ от исходного значения. У голодавших в эти же сроки необлученных животных она составляла $84,6 \pm 0,7\%$ от исходной ($p < 0,05$). При этом значения относительной массы желудочного и слепок кишечного химусов облученных крыс превышали соответствующие значения у интактных

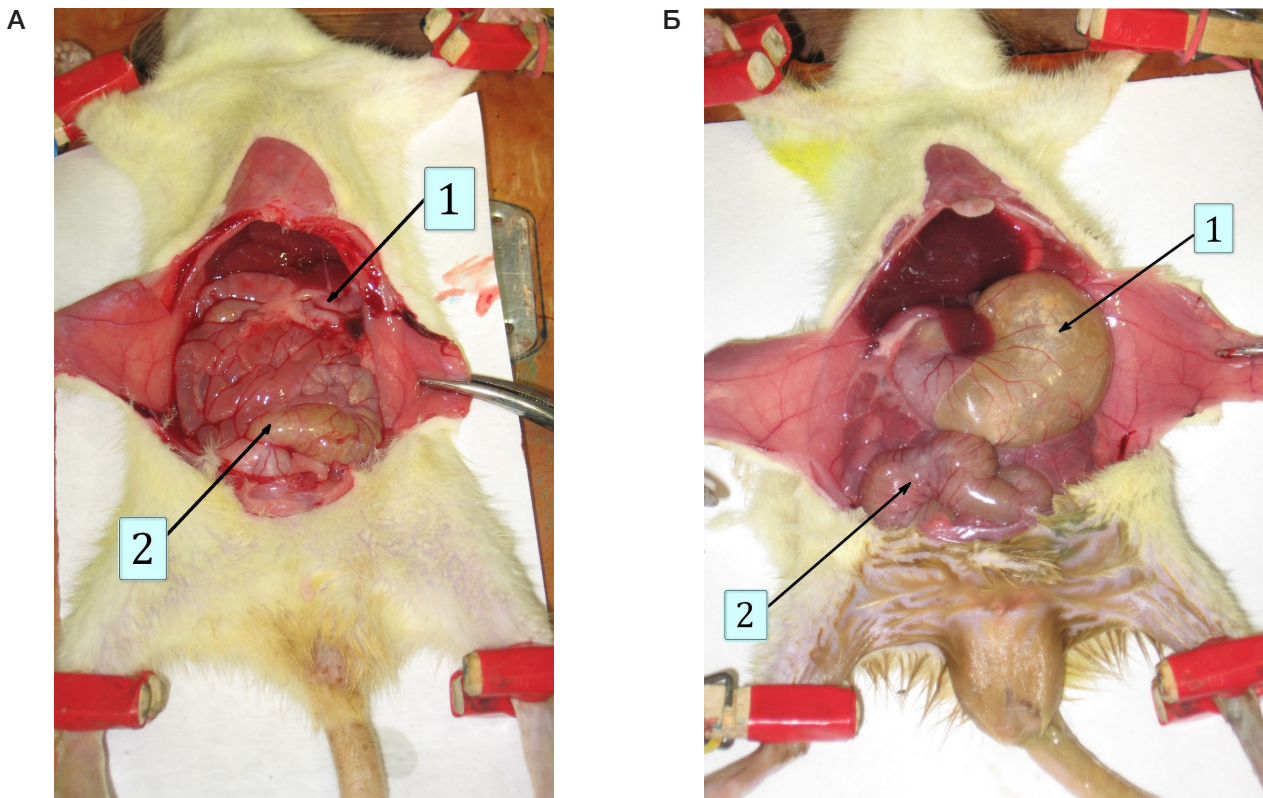


Рис. 1. Органы брюшной полости крыс, лишенных доступа к корму за 48 ч до лапаротомии: интактная (А); через 72 ч после общего однократного рентгеновского облучения в дозе 9,64 Гр (Б). Стрелками показаны: 1 — желудок; 2 — слепая кишка

животных в 5,9 и 2,3 раза соответственно. Введение перед облучением цистамина частично предотвращало гастростаз: относительная масса желудочного химуса была в среднем втрое меньше, чем у незащищенных животных. Применение цистамина возвращало соотношение масс желудочного и слепкишечного химусов от $1,1 \pm 0,2$ у незащищенных особей к значению $0,4 \pm 0,2$, свойственному интактным крысам при равной продолжительности доступа к корму ($p < 0,05$). Цистамин не оказывал существенного влияния на относительную массу слепкишечного химуса облученных крыс. Его введение мало влияло и на вызванную облучением гипотрофию селезенки (рис. 3А). Экскреция индикана с мочой через 72 ч после облучения была в среднем вдвое выше, чем у интактных крыс; цистамин не оказывал существенного влияния на индиканурию (рис. 3Б). Экскреция индикана облученными крысами, не получавшими радиопротектор, отрицательно коррелировала с относительной массой желудочного химуса, $r_s = -0,77$, и положительно — с относительной массой слепкишечного химуса, $r_s = 0,68$ ($p < 0,05$); на фоне введения цистамина корреляция была слабой. Облучение снижало активность маркеров энтероцитов — ХЭ и ЩФ — в тканях тонкой кишки. Наиболее существенно, в 4,8 раза, снижалась активность ХЭ в *ileum*. На фоне применения цистамина значения активности ХЭ во всех отделах тонкой кишки и активности ЩФ в *duodenum* и *ileum* имели тенденцию умеренно превышать эти показатели у незащищенных крыс. Наиболее выраженным, 2,5-кратным, было это превышение для ХЭ в *ileum*, однако оно было представлено лишь в виде тенденции (рис. 3В и Г).

Во все сроки после облучения потребление кислорода организмом было меньше, чем у интактных особей. На третьи сутки эта тенденция была значимой при расчете как на единицу времени, так и на дыхательный цикл; в последнем случае она была более выраженной. Межгрупповые

различия значений ЧДД были несущественными. Введение цистамина не оказывало значительного влияния на показатели газообмена и внешнего дыхания (рис. 4).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Моделирование на крысах лучевой миелоабляционной терапии сопровождалось глубоким торможением пропульсивной функции желудка, формировавшимся в ближайшие часы после облучения. Прохождение химуса через желудок длилось больше двух суток, в то время как у здорового человека в норме — не более 48 мин [21]. Экстраполяция этих данных на человека показывает, что гастростаз продолжается большую часть курса миелоабляционного кондиционирования. С ним могут быть связаны типичные для таких пациентов жалобы на потерю аппетита, тошноту, рвоту, боль, тяжесть и вздутие в эпигастральной области. Ввиду отсутствия у грызунов рвотной реакции, разгружающей желудок, его переполнение у крыс могло быть более выраженным, чем у человека при облучении в равных дозах.

Несмотря на развивающееся в результате гастростаза торможение поступления химуса в слепую кишку, относительная масса ее содержимого через трое суток после облучения была в 2,3 раза больше, чем у необлученных животных, отражая снижение пропульсивной функции толстой кишки. Суммарная относительная масса содержимого желудка и слепой кишки облученных крыс возрастала в 3,4 раза: в среднем до 29,5 против 8,8 г/кг в контроле. Несмотря на накопление химуса, масса тела после облучения была на 7% меньше, чем у необлученных животных при равной продолжительности голодания, что указывает на возможную вовлеченность ЖКС в ухудшение общего состояния организма. Одним из механизмов такого влияния мог быть кишечный эндотоксикоз, индикатором

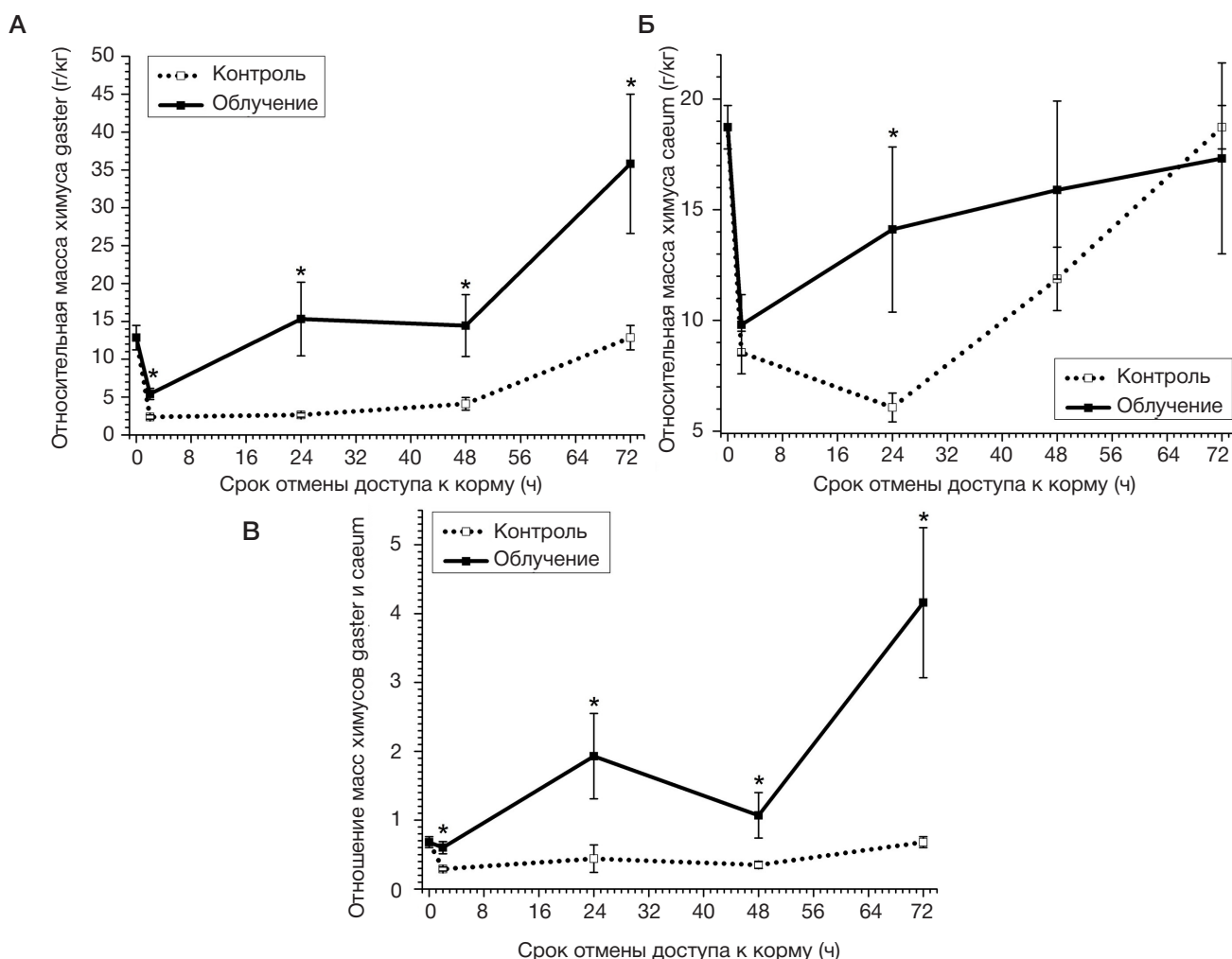


Рис. 2. Относительная масса желудочного (А), слепкишечного (Б) химусов и их соотношение (В) у крыс через 72 ч после общего однократного рентгеновского облучения в дозе 9,64 Гр, $M \pm m$, $n = 8$, в зависимости от продолжительности доступа к корму с момента облучения. Контроль — необлученные животные. В начале оси абсцисс — значения в группе необлученных крыс, имевших неограниченный доступ к корму. * — значимое различие с контролем, $p < 0,05$

которого было двукратное увеличение экскреции с мочой индикана (индоксилсульфата) — конечного продукта окисления индола в индоксил и его сульфирования в печени. Единственным источником индола в организме служит реакция, катализируемая триптофаназой кишечной микрофлоры. Токсичность проявляет как сам индоксилсульфат при содержании в крови, на два порядка превышающем физиологические значения [22], так и индол [23]. Гипериндиканурия указывает на интенсификацию образования в желудочно-кишечном тракте, наряду с индолом, другого токсичного продукта триптофаназной реакции — аммиака. В формирование эндотоксикоза могли быть вовлечены и иные токсиканты кишечного происхождения и продукты их биотрансформации: бактериальный эндотоксин, *p*-крезол, *p*-крезилсульфат, триметиламин, триметиламин-*N*-оксид, поступление которых в кровь возрастает в условиях ЖКС [22].

Содержание бактерий в химусе толстой кишки, 10^{11} мл⁻¹ — на восемь порядков больше, чем в просвете желудка, $\leq 10^3$ мл⁻¹ [24]. Поэтому накопление химуса в слепой кишке играло преобладающую роль в формировании кишечного эндотоксикоза. В этих условиях гастростаз, замедлявший поступление химуса в слепую кишку, мог ограничивать кишечный эндотоксикоз. На это указывает отрицательная корреляция между относительной массой желудочного химуса и экскрецией индикана с мочой, а также положительная корреляция

последней с относительной массой слепкишечного химуса у крыс, облученных без радиопротектора.

Защитная роль гастростаза могла быть обусловлена не только его тормозящим влиянием на образование токсичных веществ в кишечнике, но и предупреждением дополнительной травматизации эпителия тонкой кишки химусом, поступающим в нее из желудка, в условиях формирующейся энтероцитопении. Ее индикатором было снижение активности маркеров энтероцитов — ХЭ и ЦЦФ — в тканях тонкой кишки после облучения.

Более чем трехкратное снижение относительной массы желудочного химуса на фоне введения в желудок цистамина было результатом его местного противолучевого действия на слизистую оболочку желудка (рис. 3А). Это следует из отсутствия существенного влияния цистамина на лучевую гипотрофию селезенки — чувствительный показатель системного действия радиопротекторов. Такой результат согласуется с известной из литературы невозможностью воспроизвести системный противолучевой эффект цистамина его внутрижелудочным введением крысам [19]. Цистамин препятствовал гастростазу, несмотря на известную из литературы способность его тиоловой формы, цистеамина, обратимо тормозить эвакуацию желудочного химуса за счет повышения секреции соляной кислоты париетальными клетками желудка [25].

Предупреждение гастростаза не могло быть опосредовано местным противолучевым действием

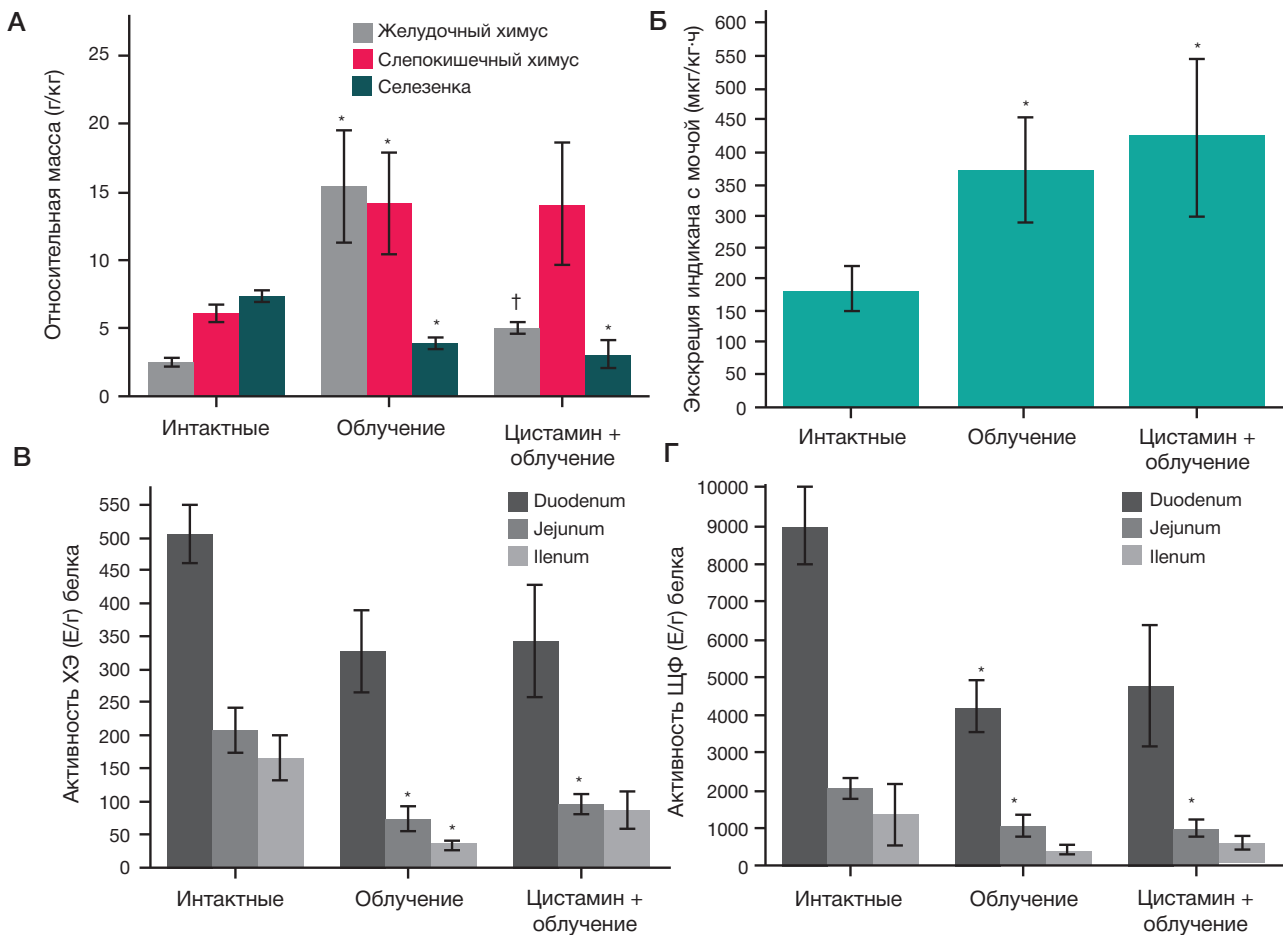


Рис. 3. Относительная масса желудочного, слепокишечного химусов и селезенки (А), экскреция индикана с мочой (Б), активность в тканях слепой кишки холинэстеразы (В) и щелочной фосфатазы (Г) у крыс через 72 ч после общего однократного рентгеновского облучения в дозе 9,64 Гр, $M \pm m$, $n = 8$, в зависимости от продолжительности доступа к корму с момента облучения. «Интактные»: необлученные крысы, не получавшие медикаментозных средств; «Облучение»: подвергнутые облучению без введения радиопротектора; «Цистамин + облучение»: введение в желудок цистамина дигидрохлорида в дозе 120 мг/кг за 30 мин до начала облучения. Все животные лишены доступа к корму через 24 ч после облучения. Значимое различие, $p < 0,05$: * — с интактной группой; † — с группой «Облучение»

цистамина на слизистую оболочку тонкой кишки: оно было слабым, что следует из отсутствия существенного влияния на показатели энтероцитопении — активность ХЭ и ЩФ в тканях тонкой кишки (рис. 3В и Г). Можно предположить, что из-за анатомических особенностей желудка крысы раствор радиопротектора до окончания облучения не успевал поступить в тонкую кишку и контактировал преимущественно со слизистой оболочкой желудка.

Гипотеза о предупреждении гастростаза как результате местного противолучевого действия цистамина на слизистую оболочку желудка согласуется с известным более 70 лет возникновением ЖКС у крыс после местного облучения живота, в то время как общее облучение в равных дозах при экранировании живота ЖКС не вызывает [10]. Полученные данные указывают на то, что триггеры ЖКС локализованы в слизистой оболочке соответствующих отделов желудочно-кишечного тракта и могут быть «отключены» местным воздействием цистамина.

При приеме внутрь цистамина дигидрохлорида человеком в эквивалентной дозе 1,2 г за 30–40 мин до облучения в дозе, вызывающей костномозговой синдром, номинальное значение фактора изменения дозы излучения составляет 1,4 [7]. Из этого следует, что при приеме внутрь цистамина в рекомендуемой дозе человеком предупреждение гастростаза будет сопровождаться системным противолучевым действием, нежелательным при подготовке пациентов к трансплантации стволовых

кроветворных клеток. Поэтому избирательность экстренной профилактики гастростаза цистамином при облучении крыс в миелоабляционной дозе не может быть безоговорочно экстраполирована на человека. Для использования цистамина при подготовке пациентов к трансплантации стволовых кроветворных клеток требуется выявление с использованием крупных животных условий реализации его способности предупреждать гастростаз, не оказывая миелопротективного действия.

В настоящей работе газообмен изучали в условиях, близких к условиям определения основного обмена, поэтому снижение потребления кислорода облученными животными не могло быть результатом их заторможенного состояния. Полученный результат согласуется со снижением потребления кислорода крысами, ранее наблюдавшимся в течение трех суток после их рентгеновского облучения в дозах 300–1000 Р [26]. Угнетение газообмена не могло быть обусловлено уменьшением дыхательного объема в результате ограничения растянутым желудком экскурсии диафрагмы: это следует из отсутствия существенного влияния облучения на ЧДД (рис. 4, Б). Оно не могло быть и результатом прямого повреждающего действия излучения в примененной дозе на тканевой энергетический обмен: в литературе отсутствуют данные о таком эффекте. Снижение потребления кислорода организмом могло быть проявлением кишечного эндотоксикоза, индикатором которого стало повышение экскреции

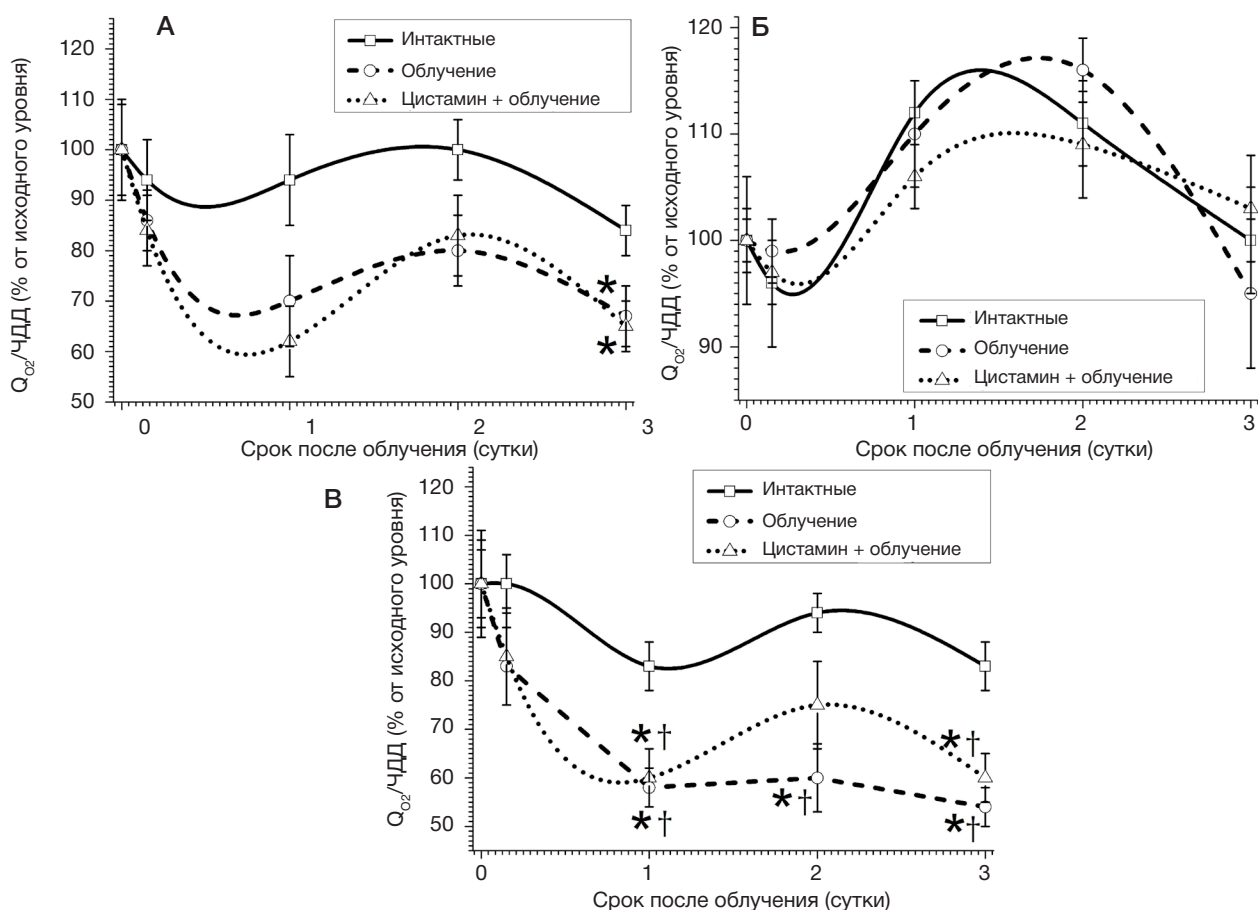


Рис. 4. Потребление кислорода организмом (А), частота дыхательных движений (Б) и потребление кислорода за один дыхательный цикл (В) у крыс через 72 ч после общего однократного рентгеновского облучения в дозе 9,64 Гр, $M \pm m$, $n = 8$. « Q_{O_2} »: потребление кислорода организмом; «ЧДД»: частота дыхательных движений. За 100% приняты значения показателей, определенных за 4 ч до облучения. * — значимое различие с исходным уровнем, $p < 0,05$; † — значимое различие с интактной группой, $p < 0,05$

облученными животными индикана (рис. 3Б). Таким продуктам жизнедеятельности кишечной микрофлоры, как бактериальный эндотоксин и п-крезилсульфат, присуща способность повреждать альвеолярно-капиллярный барьер с формированием отека легких [27, 28]. Индоксилсульфат и бактериальный эндотоксин повреждают митохондрии, нарушая утилизацию кислорода на клеточном уровне [29, 30]. Гипотеза о вовлеченности кишечного эндотоксикоза в эффект пострадиационного снижения газообмена подкрепляется отсутствием влияния на последний цистамина, профилактическое введение которого не предотвращало гипериндиканурию.

Полученные данные указывают на перспективность патогенетического подхода к профилактике гастростаза, вызываемого лучевым миелоабляционным воздействием, и применения радиопротекторов. Данный подход не альтернативен применению симптоматических лекарственных средств купирования общей первичной реакции на облучение — в частности, антагонистов 5-НТ₃-рецепторов.

Выводы

Общее однократное рентгеновское облучение крыс в дозе 9,64 Гр, соответствующей применяемым при

миелоабляционном кондиционировании, ведет к снижению через трое суток содержания энтероцитов в слизистой оболочке тонкой кишки, формированию желудочно-кишечного стаза с преобладанием гастростаза и гипериндиканурии — показателю избыточного роста кишечной микрофлоры, продуцирующей индол. Введение за 30 мин до облучения в желудок крыс цистамина дигидрохлорида в дозе, эквивалентной рекомендуемой для однократного приема человеком, частично предупреждает формирование гастростаза, не оказывая существенного влияния на показатели энтероцитопении, слепокишечного стаза и выраженность гипериндиканурии.

Моделирование на крысах лучевой миелоабляции сопровождается в ближайшие трое суток после облучения снижением потребления животными кислорода, обусловленным влиянием гастростаза на экскурсию диафрагмы. Введение перед облучением цистамина в желудок не предупреждает этот эффект. У крыс местное противолучевое действие цистамина дигидрохлорида, введенного в желудок, не сопровождается признаками системного противолучевого действия, что, в случае воспроизведения на крупных лабораторных животных, делает этот препарат перспективным средством профилактики гастростаза при лучевой миелоабляционной терапии.

Литература

- Lorenz E, Congdon C, Uphoff D. Modification of acute irradiation injury in mice and guinea-pigs by bone marrow injections. *Radiology*. 1952; 58 (6): 863–77.
- Савченко В. Г., редактор. Протоколы трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток. М.: Практика, 2020; 320 с.
- Поп В. П., Рукавицын О. А. Аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток: перспективы и альтернативы, собственный опыт. *Рос. журн. детск. гематол. онкол.* 2017; 4 (2): 46–69.
- Keit E, Liveringhouse C, Figura N, Weigand J, Sandoval M, Garcia G, et al. Feasibility and toxicity of full-body volumetric modulated arc-therapy technique for high-dose total body irradiation. *Technol Cancer Res Treat.* 2023; 22: 15330338231180779.
- Battipaglia G, Labopin M, Mielke S, Ruggeri A, Zubeyde Nur Ozkurt, Bourhis J, et al. Thiotepa-based regimens are valid alternatives to total-body irradiation-based reduced-intensity conditioning regimens in patients with acute lymphoblastic leukemia: a retrospective study on behalf of the acute leukemia working party of the European society for blood and marrow transplantation. *Transplant Cell Ther.* 2023; Oct 8: S2666-6367(23)01582-8. Online ahead of print.
- Cahu X, Labopin M, Giebel S, Aljurf M, Kyrzc-Krzemien S, Socié G, et al. Impact of conditioning with TBI in adult patients with T-cell ALL who receive a myeloablative allogenic stem cell transplantation: a report from the acute leukemia working party of EBMT. *Bone marrow Transplantation.* 2016; 51 (3): 351–7.
- Драчёв И. С., Зацепин В. В., Иванченко А. В., Ивницкий Ю. Ю., Крюков Е. В., Селезнёв А. Б. Острые поражения, возникающие в результате внешнего облучения организма человека. В книге: Софронов Г. А., Крюков Е. В., редакторы. Военная токсикология, радиология и медицинская защита. СПб.: ВМедА, 2023; с. 507–39.
- Konishi T, Ogawa H, Najima Y, Hashimoto S, Wada A, Adachi H, et al. Safety of total body irradiation using intensity-modulated radiation therapy by helical tomotherapy in allogenic hematopoietic stem cell transplantation: a prospective pilot study. *J Radiat Res.* 2020; 61 (6): 969–76.
- Nakagaki M, Kennedy G, Gavin N, Clavarito A, Whitfield K. The incidence of severe oral mucositis in patients undergoing different conditioning regimens in haematopoietic stem cell transplantation. *Support Care Cancer.* 2022; 30 (11): 9141–9.
- Conard RA. Effect of X-irradiation on intestinal motility of the rat. *Am J Physiol.* 1951; 165 (2): 375–85.
- Krantis A, Rana K, Harding R. The effects of γ -radiation on intestinal motor activity and faecal pellet expulsion in the guinea pig. *Dig Dis Sci.* 1996; 41 (12): 2307–16.
- Erickson BA, Otterson MF, Moulder JE, Sarna SK. Altered motility causes the early gastrointestinal toxicity of irradiation. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1994; 28 (4): 905–12.
- Dorval ED, Mueller GP, Eng RR, Durakovic A, Conclin JJ, Dubois A. Effect of ionizing radiation on gastric secretion and gastric motility in monkeys. *Gastroenterology.* 1985; 89 (2): 374–80.
- Eagle D, Gian V, Lauwers G, Manivel J, Moreb J, Wingard J. Post-transplant complications. Gastroparesis following bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplantation.* 2001; 28: 59–62.
- Chapman MJ, Nguyen NQ, Deane AM. Gastrointestinal dysmotility: clinical consequences and management of the critically ill patient. *Gastroenterol Clin North Am.* 2011; 40 (4): 725–39.
- Patel R, Soni M, Soyantar B, Shivangi S, Satarija S, Saraf M, et al. A clash of quorum sensing vs quorum sensing inhibitors: an overview and risk of resistance. *Arch Microbiol.* 2023. 205 (4): 107.
- Annedé P, Prioux-Klotz C, Dubergé T, Chargari C, Gisserot O, de Jaureguiberry J-P. Radiation induced gastroparesis – case report and literature review. *J Gastrointest Oncol.* 2017; 8 (4): E52–5.
- Васин М. В. Препарат Б-190 (индралин) в свете истории формирования представлений о механизме действия радиопротекторов. *Рад Биол Радиоэкол.* 2020; 60 (4): 378–95.
- Куна П. Химическая радиозащита: пер. с чешск. М.: Медицина, 1989; 192 с.
- Балаховский С. Д., Балаховский И. С. Методы химического анализа крови. 3-е изд. М.: Медгиз, 1953; 746 с.
- O’Grady J, Murphy CL, Burry L, Shanahan F, Buckley M. Defining gastrointestinal transit time using video capsule endoscopy: a study of healthy subjects. *Endosc Int Open.* 2020; 8 (3): E396–E400.
- Ivniisky JuJu, Schäfer TV, Rejniuk VL, Golovko AI. Endogenous humoral determinants of vascular endothelial dysfunction as triggers of acute poisoning complications. *J Appl Toxicol.* 2023; 43 (1): 47–65.
- Мартынова Н. А., Горохова Л. Г. Токсикологическая оценка индола. *Бюл. ВЦНЦ СО РАМН.* 2006; 65 (1): 248–51.
- Sender R, Fuchs S. Revised estimates for the number of human and bacteria cells in the body. *PLoS Biol.* 2016; 14 (8): e1002533.
- Tanaka H, Takeuchi K, Okabe S. Role of accumulated gastric content in the pathogenesis of cysteamine- and mepirizole-induced duodenal ulcers in the rat. *J Intern Med Suppl.* 1990; 732: 69–75.
- Mole RH. The effect of X-irradiation on the basal oxygen consumption of the rat. *Q J Exp Physiol Cogn Med Sci.* 1953; 38 (2): 69–74.
- Russ M, Boerger E, von Platen P, Francis R, Taher M, Boemke W, et al. Surfactant depletion combined with injurious ventilation results in a reproducible model of the acute respiratory distress syndrome (ARDS). *J Vis Exp.* 2021; 170: e62327.
- Chang J, Liang S, Thanasekaran P, Chang H, Wen L-L, Chen C, et al. Translational medicine in pulmonary-renal crosstalk: therapeutic targeting of p-Cresyl sulfate triggered nonspecific ROS and chemoattractants in dyspneic patients with uremic lung injury. *J Clin Med.* 2018; 7 (9): 266.
- Thome T, Salyers Z, Kumar R, Hang D, Berru F, Ferreira L, et al. Uremic metabolites impair skeletal muscle mitochondrial energetics through disruption of the electron transport system and matrix dehydrogenase activity. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2019; 317 (4): C701–13.
- Kim Y-S, Lee H, Lee M, Park Ye, Sehwan M, et al. The effect of mitochondrial transplantation on sepsis depend on the type of cell from which they are isolated. *Int J Mol Sci.* 2023; 24 (12): 10113.

References

- Lorenz E, Congdon C, Uphoff D. Modification of acute irradiation injury in mice and guinea-pigs by bone marrow injections. *Radiology.* 1952; 58 (6): 863–77.
- Savchenko VG, redaktor. Protocoly transplantacii allogennyh gemopoeticheskikh stvolovyh cletok. M.: Praktika, 2020; 320 s.
- Pop VP, Rukavicyn OA. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: prospects and alternatives, own experience. *Ros zhurn detsk gematol onkol.* 2017; 4 (2): 46–69. Russian.
- Keit E, Liveringhouse C, Figura N, Weigand J, Sandoval M, Garcia G, et al. Feasibility and toxicity of full-body volumetric modulated arc-therapy technique for high-dose total body irradiation. *Technol Cancer Res Treat.* 2023; 22: 15330338231180779.
- Battipaglia G, Labopin M, Mielke S, Ruggeri A, Zubeyde Nur Ozkurt, Bourhis J, et al. Thiotepa-based regimens are valid alternatives to total-body irradiation-based reduced-intensity conditioning regimens in patients with acute lymphoblastic leukemia: a retrospective study on behalf of the acute leukemia working party of the European society for blood and marrow transplantation. *Transplant Cell Ther.* 2023; Oct 8: S2666-6367(23)01582-8. Online ahead of print.
- Cahu X, Labopin M, Giebel S, Aljurf M, Kyrzc-Krzemien S, Socié G, et al. Impact of conditioning with TBI in adult patients with T-cell ALL who receive a myeloablative allogenic stem cell transplantation: a report from the acute leukemia working party of

- EBMT. Bone marrow Transplantation. 2016; 51 (3): 351–7.
7. Drachyov IS, Zacepin VV, Ivanchenko AV, Ivnitsky JuJu, Kryukov EV, Seleznyov AB. Acute lesions resulting from external irradiation of the human body. In book: Sofronov GA, Kryukov EV, ed. Military toxicology, radiology and medical protection. Saint Petersburg: VMedA, 2023; p. 507–39. Russian.
 8. Konishi T, Ogawa H, Najima Y, Hashimoto S, Wada A, Adachi H, et al. Safety of total body irradiation using intensity-modulated radiation therapy by helical tomotherapy in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: a prospective pilot study. *J Radiat Res.* 2020; 61 (6): 969–76.
 9. Nakagaki M, Kennedy G, Gavin N, Clavario A, Whitfield K. The incidence of severe oral mucositis in patients undergoing different conditioning regimens in haematopoietic stem cell transplantation. *Support Care Cancer.* 2022; 30 (11): 9141–9.
 10. Conard RA. Effect of X-irradiation on intestinal motility of the rat. *Am J Physiol.* 1951; 165 (2): 375–85.
 11. Krantis A, Rana K, Harding R. The effects of γ -radiation on intestinal motor activity and faecal pellet expulsion in the guinea pig. *Dig Dis Sci.* 1996; 41 (12): 2307–16.
 12. Erickson BA, Otterson MF, Moulder JE, Sarna SK. Altered motility causes the early gastrointestinal toxicity of irradiation. *Int J Radiat Oncol. Biol. Phys.* 1994; 28 (4): 905–12.
 13. Dorval ED, Mueller GP, Eng RR, Durakovic A, Conclin JJ, Dubois A. Effect of ionizing radiation on gastric secretion and gastric motility in monkeys. *Gastroenterology.* 1985; 89 (2): 374–80.
 14. Eagle D, Gian V, Lauwers G, Manivel J, Moreb J, Wingard J. Post-transplant complications. Gastroparesis following bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplantation.* 2001; 28: 59–62.
 15. Chapman MJ, Nguyen NQ, Deane AM. Gastrointestinal dysmotility: clinical consequences and management of the critically ill patient. *Gastroenterol Clin North Am.* 2011; 40 (4): 725–39.
 16. Patel R, Soni M, Soyantar B, Shivangi S, Satarija S, Saraf M, et al. A clash of quorum sensing vs quorum sensing inhibitors: an overview and risk of resistance. *Arch Microbiol.* 2023. 205 (4): 107.
 17. Annede P, Prieux-Klotz C, Dubergé T, Chargari C, Gisserot O, de Jaureguiberry J-P. Radiation induced gastroparesis – case report and literature review. *J Gastrointest Oncol.* 2017; 8 (4): E52–5.
 18. Vasin MV. The drug B-190 (indralin) in the light of the history of the formation of ideas about the mechanism of action of radioprotectors. *Rad Biol Radioecol.* 2020; 60 (4): 378–95. Russian.
 19. Kuna P. Chemical radioprotection: Transl. from Czech. M.: Medicina, 1989; p. 192. Russian.
 20. Balahovskij SD, Balahovskij IS. Methods of chemical analysis of blood. 3th ed. M.: Medgiz, 1953; p. 746. Russian.
 21. O'Grady J, Murphy CL, Burry L, Shanahan F, Buckley M. Defining gastrointestinal transit time using video capsule endoscopy: a study of healthy subjects. *Endosc Int Open.* 2020; 8 (3): E396–E400.
 22. Ivnitsky JuJu, Schäfer TV, Rejniuk VL, Golovko AI. Endogenous humoral determinants of vascular endothelial dysfunction as triggers of acute poisoning complications. *J Appl Toxicol.* 2023; 43 (1): 47–65.
 23. Martynova NA, Gorohova LG. Toxicological evaluation of indole. *Bjul. VSNC SO RAMN.* 2006; 65 (1): 248–51. Russian.
 24. Sender R, Fuchs S. Revised estimates for the number of human and bacteria cells in the body. *PLoS Biol.* 2016; 14 (8): e1002533.
 25. Tanaka H, Takeuchi K, Okabe S. Role of accumulated gastric content in the pathogenesis of cysteamine- and mepirizole-induced duodenal ulcers in the rat. *J Intern Med Suppl.* 1990; 732: 69–75.
 26. Mole RH. The effect of X-irradiation on the basal oxygen consumption of the rat. *Q J Exp Physiol Cogn Med. Sci.* 1953; 38 (2): 69–74.
 27. Russ M, Boerger E, von Platen P, Francis R, Taher M, Boemke W, et al. Surfactant depletion combined with injurious ventilation results in a reproducible model of the acute respiratory distress syndrome (ARDS). *J Vis Exp.* 2021; 170: e62327.
 28. Chang J, Liang S, Thanasekaran P, Chang H, Wen L-L, Chen C, et al. Translational medicine in pulmonary-renal crosstalk: therapeutic targeting of p-Cresyl sulfate triggered nonspecific ROS and chemoattractants in dyspneic patients with uremic lung injury. *J Clin Med.* 2018; 7 (9): 266.
 29. Thome T, Salyers Z, Kumar R, Hang D, Berru F, Ferreira L, et al. Uremic metabolites impair skeletal muscle mitochondrial energetics through disruption of the electron transport system and matrix dehydrogenase activity. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2019; 317 (4): C701–13.
 30. Kim Y-S, Lee H, Lee M, Park Ye, Sehwan M, et al. The effect of mitochondrial transplantation on sepsis depend on the type of cell from which they are isolated. *Int J Mol Sci.* 2023; 24 (12): 10113.

ВЫЧИСЛИТЕЛЬНЫЙ ФАНТОМ ДЛЯ ДОЗИМЕТРИИ КРАСНОГО КОСТНОГО МОЗГА ПЯТИЛЕТНЕГО РЕБЕНКА ОТ ИНКОРПОРИРОВАННЫХ БЕТА-ИЗЛУЧАТЕЛЕЙ

П. А. Шарагин¹ ✉, Е. И. Толстых¹, Е. А. Шишкина^{1,2}

¹ Уральский научно-практический центр радиационной медицины Федерального медико-биологического агентства России, Челябинск, Россия

² Челябинский государственный университет, Челябинск, Россия

Облучение ККМ (красного костного мозга) остеотропными радионуклидами может приводить к серьезным медицинским последствиям. В частности, увеличение риска развития лейкозов у людей, подвергшихся радиационному воздействию в результате загрязнения реки Течи в 1950-е гг., связано с облучением ККМ от ^{89,90}Sr. Совершенствование методов внутренней дозиметрии ККМ включает разработку вычислительных фантомов, которые представляют собой трехмерные модели участков скелета. Моделирование переноса излучений внутри таких фантомов позволяет оценить коэффициенты перехода от активности радионуклида в кости к мощности дозы в ККМ. Настоящая статья — продолжение работы по созданию набора вычислительных фантомов скелета для людей разного возраста. Цель: разработать вычислительный фантом скелета пятилетнего ребенка для внутренней дозиметрии ККМ от инкорпорированных бета-излучателей. Фантомы участков скелета с активным гемопоэзом создавали с использованием оригинальной методики SPSD (stochastic parametric skeletal dosimetry). В рамках этой методики каждый такой участок представлял собой набор меньших фантомов простой геометрической формы. Распределение ККМ в скелете, размеры костей, характеристики костной микроархитектуры, а также плотность и химический состав моделируемых сред (ККМ, кость) определяли на основе опубликованных данных. В результате был сгенерирован вычислительный фантом основных участков скелета с активным гемопоэзом для пятилетнего ребенка, включающий 43 фантома участков костей. Линейные размеры фантомов были в пределах от 3 мм до 75 мм. Параметры микроархитектуры варьировали в широких пределах: отношение BV/TV — от 13% до 52%, $Tb. Th.$ — от 0,09 мм до 0,29 мм, $Tb. Sp.$ — от 0,48 мм до 0,98 мм.

Ключевые слова: трабекулярная кость, кортикальная кость, дозиметрия костного мозга, вычислительные фантомы, Sr

Финансирование: работа выполнена в рамках реализации Федеральной целевой программы «Обеспечение ядерной и радиационной безопасности на 2016–2020 годы и на период до 2035 года» и при финансовой поддержке Федерального медико-биологического агентства России.

Вклад авторов: П. А. Шарагин — получение, анализ и интерпретация данных, написание и редактирование статьи; Е. И. Толстых — разработка методики исследования, редактирование статьи; Е. А. Шишкина — разработка концепции, редактирование статьи.

✉ **Для корреспонденции:** Павел Алексеевич Шарагин
ул. Воровского, д. 68-а, г. Челябинск, 454141, Россия; sharagin@urcrm.ru

Статья получена: 23.10.2023 **Статья принята к печати:** 05.12.2023 **Опубликована онлайн:** 31.12.2023

DOI: 10.47183/mes.2023.061

COMPUTATIONAL PHANTOM FOR A 5-YEAR OLD CHILD RED BONE MARROW DOSIMETRY DUE TO INCORPORATED BETA EMITTERS

Sharagin PA¹ ✉, Tolstykh EI¹, Shishkina EA^{1,2}

¹ Urals Research Center for Radiation Medicine of the Federal Medical-Biological Agency, Chelyabinsk, Russia

² Chelyabinsk State University, Chelyabinsk, Russia

The red bone marrow (RBM) exposure due to bone-seeking radionuclides can lead to grave medical consequences. In particular, the increased risk of leukemia in people exposed due to contamination of the Techa River in 1950s is associated with the RBM exposure due to ^{89,90}Sr. Improvement of the internal RBM dosimetry methods includes the development of computational phantoms that represent 3D models of the skeletal sites. Modeling radiation transport within such phantoms enables estimation of conversion factors from the radionuclide activity in the bone to the RBM dose rate. This paper is an extension study focused on generating a set of computational phantoms representing skeletons of individuals of different ages. The aim was to develop a computational phantom representing a 5-year-old child for internal RBM dosimetry from incorporated beta emitters. The phantoms of the skeletal sites with active hematopoiesis were created using the original Stochastic Parametric Skeletal Dosimetry (SPSD) method. With this method, every such site represented a set of smaller phantoms of simple geometric shape. RBM distribution across the skeleton, bone size, characteristics of bone micro-architecture, as well as density and chemical composition of the simulated media (RBM, bone) were determined based on the published data. As a result, a computational phantom of the major skeletal sites with active hematopoiesis representing a 5-year-old child was generated that included 43 phantoms of bone fragments. Linear dimensions of phantoms were within 3–75 mm. Micro-architecture parameters varied greatly: BV/TV ratio —13–52%, $Tb. Th.$ —0.09–0.29 mm, $Tb. Sp.$ —0.48–0.98 mm.

Keywords: trabecular bone, cortical bone, bone marrow dosimetry, computational phantoms, Sr

Funding: the study was performed within the framework of the Federal Targeted Program "Ensuring Nuclear and Radiation Safety for 2016–2020 and for the Period up to 2035" and supported by the Federal Medical Biological Agency of Russia.

Author contribution: Sharagin PA — data acquisition, analysis and interpretation, manuscript writing and editing; Tolstykh EI — developing the research method; Shishkina EA — developing the concept, manuscript editing.

✉ **Correspondence should be addressed:** Pavel A. Sharagin
Vorovskogo, 68-a, Chelyabinsk, 454141, Russia; sharagin@urcrm.ru

Received: 23.10.2023 **Accepted:** 05.12.2023 **Published online:** 31.12.2023

DOI: 10.47183/mes.2023.061

При попадании в организм остеотропные радионуклиды накапливаются в минерализованной костной ткани и локально облучают красный костный мозг (ККМ), что может приводить к серьезным медицинским последствиям. Так, например,

увеличение риска развития лейкозов и возникновение хронического лучевого синдрома у лиц в составе когорты реки Течи, загрязненной радионуклидами в 1950-е гг., во многом связывают с попаданием изотопов стронция

($^{89,90}\text{Sr}$) в организм [1–4]. Именно изотопы стронция были основными источниками внутреннего облучения ККМ для этих людей. Таким образом, совершенствование методов дозиметрии остеотропных радионуклидов может помочь подготовиться к потенциальным экстремальным ситуациям, связанным с радиоактивным загрязнением внешней среды, и представляет собой важную задачу радиобиологии и радиационной защиты. Для оценок доз на ККМ используют биокинетические и дозиметрические модели. Биокинетические — чтобы оценить удельную активность радионуклида в ткани-источнике (кости). Такие модели имитируют процессы обмена внутри организма, позволяя оценить долю поступившего радионуклида в различных органах, в частности, в костях скелета, в зависимости от его количества и времени после поступления [5]. Для расчета дозы на ККМ используют коэффициенты перехода (DF) от удельной активности радионуклида в ткани-источнике (скелете) к мощности поглощенной дозы в ткани-мишени (ККМ). DF — результат дозиметрического моделирования. Для имитации геометрии облучения используют вычислительные дозиметрические фантомы скелета, представляющие собой суррогат реальных тканей организма и репрезентативно описывающие взаимное расположение тканей-источников (кости) и мишеней (ККМ), в которых проводят имитацию переноса излучений. Существующие сегодня вычислительные фантомы для дозиметрии ККМ основаны на анализе ограниченного количества посмертных изображений компьютерной томографии (КТ) костей [6–12]. Использование таких фантомов не позволяет учесть индивидуальную вариабельность размеров костей и их микроструктуры и связанные с этим неопределенности оценок DFs. В качестве альтернативы в ФГБУН УНПЦ РМ был разработан оригинальный параметрический метод стохастического моделирования костных структур — SPSPD-моделирование (Stochastic parametric skeletal dosimetry) [13, 14]. Параметры SPSPD-фантомов основаны на многочисленных опубликованных результатах измерений реальных костей людей различного возраста. Большая статистика в используемых публикациях позволяет оценить неопределенности, связанные с индивидуальной вариабельностью параметров скелета. Фантом представляет собой виртуальную модель простой геометрической формы. Внутри вычислительный фантом кости заполнен спонгиозой (совокупностью трабекулярной кости и ККМ), а снаружи покрыт плотным слоем кортикальной кости. ККМ, трабекулярная и кортикальная кость моделировали как отдельные среды в составе фантома. Такая комплексная модель — упрощенное представление реальной кости, хорошо подходящее для внутренней дозиметрии остеотропных бета-излучателей [13, 14]. Адекватность модели продемонстрирована в опубликованных численных экспериментах [13, 15, 16], в результате которых были получены энергетические зависимости для SPSPD-фантомов, сопоставленные с опубликованными данными.

В случае загрязнения окружающей среды остеотропными радионуклидами возможно их попадание в организм человека различного возраста. В частности, в случае радиационного загрязнения реки Течи облучению подверглись лица в возрасте от новорожденного до взрослого [1–3, 17]. Поэтому важно разработать фантомы для различных возрастных групп. В рамках SPSPD-подхода нами уже были созданы вычислительные фантомы скелета для новорожденного [18] и годовалого ребенка [19].

Цель настоящего исследования — разработка вычислительного фантома скелета пятилетнего ребенка

для оценки доз в ККМ от инкорпорированных в кости бета-излучающих радионуклидов. Данное исследование представляет собой очередной этап работы по созданию набора вычислительных фантомов стандартного человека для различных возрастных групп.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Создание фантомов осуществляли с помощью оригинальной SPSPD-методики, которую ранее использовали для создания фантомов новорожденного [17] и годовалого [18].

В рамках методологии SPSPD моделировали только участки костей, содержащие ККМ, т. е. участки скелета с активным гемопоэзом (гемопоэтические сайты), определенные согласно опубликованным данным о распределении ККМ внутри скелета [20].

SPSPD-фантом гемопоэтических сайтов скелета состоит из набора меньших фантомов — базовых фантомов сегментов кости (БФСК) простой геометрической формы, с гомогенной микроархитектурой костной ткани и толщиной кортикального слоя, описывающих отдельные участки костей скелета. Такая сегментация упрощает процесс моделирования, а также позволяет оценить неоднородность костной микроархитектуры внутри отдельно взятого гемопоэтического сайта. Параметры БФСК основаны на данных литературы. Процесс сегментации подробно описан в ранних работах [13, 21].

Параметры фантомов включали химический состав и плотность минерализованной костной ткани и костного мозга (моделируемые среды), а также геометрию тканей источников и мишеней в составе моделируемого участка кости.

Химический состав и плотность моделируемых сред определены согласно опубликованным данным, и их применяли для всех фантомов пятилетнего ребенка [22, 23].

Для описания взаимного расположения и геометрии тканей внутри кости оценивали линейные размеры, толщину кортикального слоя (*Ct. Th.*) и характеристики микроархитектуры для каждого моделируемого участка кости.

Для оценки морфометрических параметров фантомов пятилетнего ребенка рассматривали статьи в рецензируемых изданиях, атласы, руководства, монографии и диссертации. Изучали также электронные ресурсы, содержащие коллекции рентгеновских снимков. Для анализа собирали результаты измерений людей/образцов, определенных авторами как здоровые и не имеющие заболеваний, приводящих к деформации кости. Этническая принадлежность — европеоиды и монголоиды, так как эти группы характерны для Уральского региона. Возраст субъектов: от трех до семи лет.

В рамках данной работы по данным литературы оценивали следующие характеристики костной микроархитектуры: толщину трабекул (*Tb. Th.*), размер межтрабекулярного пространства (*Tb. Sp.*), долю костной ткани в объеме спонгиозы (*BV/TV*). В рассмотрение принимали данные измерений линейных размеров костей скелета с помощью различных техник: микрометров, анатомических боксов, ультразвуковых и рентгенологических исследований, а также компьютерной томографии (КТ). Данные гистоморфометрии и микро-КТ использовали для оценки параметров трабекулярной кости (*Tb. Th.*, *Tb. Sp.*, *BV/TV*) и толщины кортикального слоя.

В качестве параметров вычислительных фантомов принимали усредненные значения характеристик костей. Если были доступны опубликованные данные

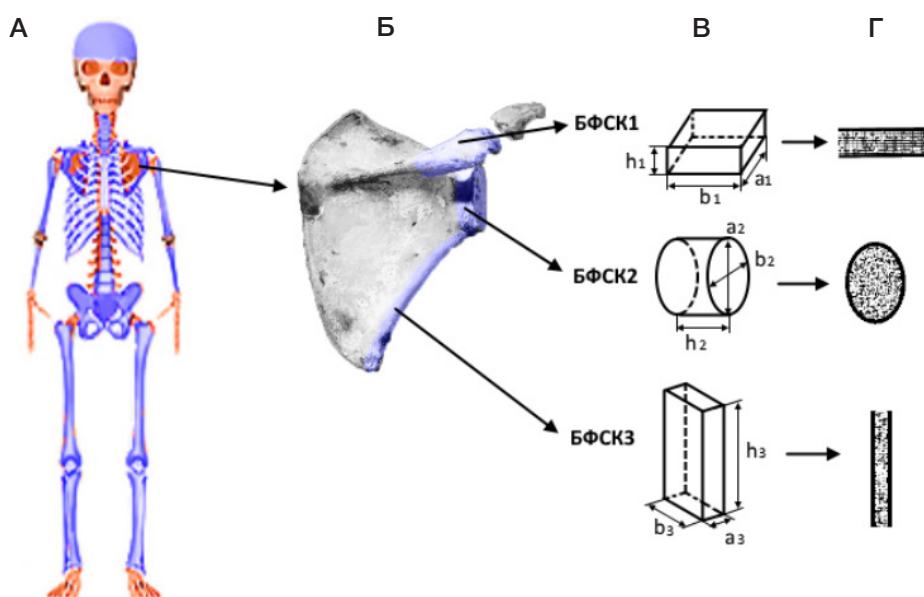


Рис. Сегментация гемопоэтического сайта скелета пятилетнего ребенка на примере лопатки. **А.** Скелет пятилетнего ребенка (синим цветом выделены участки скелета с активным гемопоэзом). **Б.** Лопатка. **В.** Схема разделения кости на БФСК и их размерные характеристики. **Г.** БФСК лопатки в воксельном представлении, в разрезе (черным цветом показаны воксели, имитирующие кость, белым — ККМ)

по индивидуальным измерениям, мы объединяли их и рассчитывали арифметические средние и стандартные отклонения (SD). В случае усреднения результатов исследований групп людей для каждой группы вводили взвешивающий коэффициент (WN), который учитывал количество (N) исследуемых субъектов: $WN = 1$, если $N \geq 25$; $WN = N/25$, если $N < 25$. Методы отбора и анализа литературных данных подробно описаны ранее [24–26].

Для каждого сегмента в оригинальной программе Trabecula был сгенерирован БФСК в воксельной форме [27]. Воксели в составе БФСК имитируют либо минерализованную кость, либо костный мозг (КМ), в зависимости от положения центра вокселя в фантоме.

В качестве тканей источников рассматривали трабекулярную (ТК) и кортикальную (КК) кость, а костный мозг (КМ) — в качестве ткани-детектора. КМ был равномерно распределен между трабекулами внутри БФСК. Размер вокселя выбирался индивидуально для каждого фантома, не превышал 70% от толщины трабекулы и в смоделированных фантомах варьировал от 50 до 200 мкм [27, 28]. Объемы тканей-источников и ткани-

детектора были автоматически рассчитаны в программе Trabecula для каждого БФСК.

Гемопоэтические сайты пятилетнего ребенка, процесс сегментации, а также смоделированные БФСК представлены на рисунке на примере лопатки.

Для имитации популяционной вариабельности размеров и характеристик микроструктуры для каждого БФСК, сгенерированного со средними значениями параметров, было создано 12 дополнительных фантомов сегментов кости (ДФСК) с параметрами микро- и макроструктуры кости, случайно разыгранными в пределах их индивидуальной вариабельности (в границах минимальных и максимальных измеренных значений).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Основные гемопоэтические сайты скелета ребенка в возрасте 5 лет и массовая доля ККМ в них были определены согласно данным МРТ-исследований (табл. 1) [20].

Скелет пятилетнего ребенка включает в себя 14 гемопоэтических сайтов для моделирования (табл. 1). Доля

Таблица 1. Массовая доля ККМ (% от общей массы ККМ в скелете) в основных гемопоэтических сайтах скелета ребенка в возрасте 5 лет

№	Гемопоэтический сайт	Массовая доля ККМ, %
1	Бедро	13,5
2	Плечо	4,8
3	Крестец	5,7
4	Берцовые кости	9,3
5	Тазовые кости	13,5
6	Череп	18
7	Ключица	0,9
8	Лопатка	2,8
9	Грудина	1,7
10	Рёбра	9
11	Лучевая и локтевая кость	2,1
12	Шейные позвонки	2,3
13	Грудные позвонки	9,2
14	Поясничные позвонки	7

Таблица 2. Химический состав моделируемых сред, принятый для всех БФСК

Химический элемент	Химический состав, отн. ед.	
	Кость	Костный мозг
H	0,035	0,105
C	0,16	0,414
N	0,042	0,034
O	0,445	0,439
Na	0,003	0,001
Mg	0,002	0,002
P	0,095	0,002
S	0,003	0,002
Ca	0,215	–

ККМ от общего содержания в скелете в них варьирует от 0,9% до 18,1%. Распределение ККМ внутри каждого гемопозитического сайта также было определено согласно опубликованным данным МРТ [29–33].

Химический состав моделируемых сред был выбран на основе данных МКРЗ для взрослых (табл. 2) [22].

Плотность минерализованной костной ткани оценена на основе результатов измерений плотности кортикальной кости детей в возрасте 5 лет и равна 1,80 г/см³ [23]. Плотность красного костного мозга принимали равной плотности воды (1 г/см³) [22].

Параметры спонгиозы были оценены на основе опубликованных данных, их анализ и расчет среднепопуляционных значений параметров спонгиозы подробно описаны [26]. Значения параметров микроархитектуры БФСК пятилетнего ребенка представлены в табл. 3.

Линейные размеры и толщина кортикального слоя, принятые для БФСК пятилетнего ребенка, представлены в табл. 4.

Фантом гемопозитических сайтов скелета пятилетнего ребенка состоит из 43-х БФСК (табл. 4). В зависимости от формы моделируемого гемопозитического сайта, для их описания было использовано разное число БФСК: от 1 (ребра) до 9 (крестец).

Как и для фантомов скелетов других возрастов, большая часть БФСК пятилетнего ребенка представляет собой

цилиндры и прямоугольные параллелепипеды, размеры БФСК были в пределах от 3 мм до 75 мм. Минимальное значение *Ct. Th.* определено для БФСК грудины (0,1 мм), а максимальное — для диафиза бедренной кости (3,7 мм). Параметры спонгиозы варьировали в широких пределах. Отношение *BV/TV* в БФСК варьирует от 13% до 52%, *Tb. Th.* — от 0,09 мм до 0,29 мм, *Tb. Sp.* — от 0,48 мм до 0,98 мм (табл. 3).

Индивидуальная варибельность размерных параметров БФСК в среднем составила 14%, наибольшее значение варибельности оценено для ребер (35%), а наименьшее — для дистальной части плечевой кости (3%). Варибельность толщины кортикального слоя в среднем равна 26%, с максимальным значением 35% — для сегментов крестца и минимальным значением 7% — для тел шейных позвонков. Варибельность параметров спонгиозы в среднем составила 18% при минимальном значении, равном 2%, и максимальном — 70%.

Значения варибельности были использованы для моделирования ДФСК. Объемы ДФСК варьируют в широких пределах и могут отличаться от объема БФСК более чем в 3 раза как в меньшую, так и в большую сторону. В дальнейшей работе как для БФСК, так и для ДФСК будет рассчитано *DF*. Среднеквадратическое отклонение *DF*, рассчитанных для ДФСК, от *DF*, рассчитанных для БФСК, будет характеризовать популяционную варибельность *DF*.

Таблица 3. Параметры спонгиозы, принятые для БФСК пятилетнего ребенка [11, 34–55] (в скобках дан коэффициент вариации (CV), %)

Гемопозитический сайт	<i>BV/TV</i> , %	<i>Tb. Th.</i> , мм	<i>Tb. Sp.</i> , мм
Бедро (проксимальная часть)	35 (6)	0,24 (22)	0,77 (70)
Бедро (центральная и дистальная части)	26 (6)		
Плечевая кость	22 (7)	0,21 (13)	0,58 (47)
Ребра	20 (6)	0,23 (34)	0,51 (14)
Берцовые кости*	25 (3)	0,13 (13)	0,74 (11)
Тазовые кости	25 (2)	0,15 (11)	0,48 (23)
Череп*	52 (5)	0,29 (31)	0,57 (35)
Ключица*	15 (3) 29 (9)	0,2 (32) 0,15 (13)	0,80 (25)
Локтевая, лучевая кости	16 (5)	0,16 (13)	0,77 (16)
Лопатка*	22 (8)	0,24 (42)	0,96 (23)
Грудина*	15 (27)	0,14 (33)	1,0 (6)
Шейные позвонки	21 (5)	0,14 (14)	0,60 (20)
Грудные позвонки+ поясничные позвонки + крестец	13 (4)	0,09 (40)	0,60 (20)

Примечания: * — параметры спонгиозы рассчитаны по результатам измерений схожих костей или по данным для других возрастов, способ расчета описан ранее [25].

Таблица 4. Линейные размеры и толщина кортикального слоя, принятые для БФСК пятилетнего ребенка

Гемопозитический сайт	Сегмент	Форма ¹	Параметры фантома, мм (в скобках дан CV, %) ²						Источники данных
			<i>h</i>	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>c</i>	<i>d</i>	<i>Ct.Th.</i>	
Бедро	Трубка диафиза ⁴	ц	30	17 (6)	17 (6)			3,7 (8)	[56–64]
	Проксимальный конец (верхняя часть)	ц	25 (4)	23 (30)	23 (30)			1,3 (14)	
	Проксимальный конец (нижняя часть)	ц	25 (4)	23 (30)	23 (30)			1,2 (14)	
	Дистальный конец	дц	49 (4)	68 (6)	25 (7)	17 (6)	17 (6)	1,1 (7)	
Плечо	Трубка диафиза ⁴	ц	30	15 (3)	15 (3)			2,5 (20)	[56–59, 65]
	Проксимальный конец	дц	20 (4)	32 (5)	32 (5)	15 (5)	15 (5)	0,9 (18)	
	Дистальный конец	дц	27 (4)	46 (7)	15 (3)	15 (3)	15 (3)	0,8 (19)	
Ребра	Ребра ⁴	п	9,4 (32)	30	4,4 (35)			0,5 (33)	[66–68]
Крестец	Тело 1-го позвонка	п	17 (20)	75 (20)	21 (6)			0,7 (35)	[69–72]
	Тело 2-го позвонка	п	16 (20)	60 (20)	15 (10)			0,7 (35)	
	Тело 3-го позвонка	п	14 (20)	52 (20)	11 (10)			0,7 (35)	
	Тело 4-го позвонка	п	10 (20)	45 (20)	6,4 (9)			0,7 (35)	
	Тело 5-го позвонка	п	10 (20)	22 (20)	6,4 (9)			0,7 (35)	
Берцовые	Малая берцовая кость ⁴	ц	30	8,1 (6)	8,1 (6)			1,5 (20)	[56, 73, 74]
	Трубка диафиза б. б. ⁴	ц	30	15(4)	15 (4)			2,9 (17)	[55, 56, 60, 75–77]
	Проксимальный конец б. б.	дц	34 (5)	55 (6)	22 (20)	15 (4)	15 (4)	0,7 (18)	
	Дистальный конец б. б.	дц	34 (5)	24 (22)	24 (23)	15 (4)	15 (4)	0,7 (18)	
Тазовые кости	Подвздошная кость часть 1	п	7,9 (13)	30	30			1,6 (33) 0,8 (20) ³	[78–85]
	Подвздошная кость часть 2	п	7,9 (13)	30	30			0,8 (20)	
	Подвздошная кость вертлужная часть	дц	20 (8)	35 (10)	16 (30)	34 (30)	27 (30)	0,8 (20)	
	Вертлужная часть лобковой кости	дц	7,3 (15)	22 (20)	18 (20)	13 (11)	8,8 (20)	0,5 (30)	
	Лобковая кость (верхняя ветвь)	ц	29 (15)	13 (11)	8,8 (20)			0,5 (30)	
	Лобковая кость (нижняя ветвь)	ц	19 (15)	8,8 (20)	8,8 (20)			0,5 (30)	
	Вертлужная часть седалищной кости	п	21 (15)	21 (15)	27 (15)	21 (15)		0,5 (30)	
	Бугристость седалищной кости	ц	25 (15)	18 (15)	14 (15)			0,5 (30)	
	Нижняя ветвь седалищной кости	ц	19 (15)	8,8 (20)	8,8 (20)			0,5 (30)	
Череп	Плоские кости свода ⁴	п	4,2 (26)	30	30			1,1 (26)	[86–88]
Ключица	Тело ⁴	ц	30	8,7 (9)	6,8 (10)			1,1 (9)	[89–92]
	Грудинный конец	дц	12 (13)	18 (10)	16 (9)	8,7 (9)	6,8 (10)	0,5 (10)	
	Акромиальный конец	дц	12 (13)	15 (11)	8,7 (18)	8,7 (9)	6,8 (10)	0,5 (10)	
Локтевая, лучевая	Трубка диафиза ⁴	ц	30	8,3 (25)	8,3 (17)			1,5 (12)	[56, 58, 73]
	Конец	дц	26 (5)	13 (6)	8,3 (5)	8,3 (5)	8,3 (5)	0,5 (29)	
Лопатка	Гленоид	ц	12 (8)	25 (11)	18 (7)			0,9 (28)	[93–96]
	Акромион	п	7,6 (18)	20 (12)	16 (12)			0,8 (13)	
	Латеральный край	п	30	3,2 (6)	10 (12)			0,8 (13)	
Грудина	Грудина	п	6,9 (13)	30	30			0,1 (19)	[37, 97, 98]
Шейные позвонки	Тело позвонка	ц	7,3 (8)	11,3 (12)	18,1 (12)			0,2 (7)	[51, 99–102]
Грудные позвонки	Тело позвонка	ц	12 (17)	17 (17)	21 (20)			0,2 (25)	[51, 100–103, 104]
	Поперечный отросток	п	7,3 (19)	11 (19)	5,3 (19)			0,2 (25)	
	Остистый отросток	п	5,9 (21)	17 (21)	3 (21)			0,2 (25)	
Поясничные позвонки	Тело позвонка	ц	16 (11)	23 (12)	34 (13)			0,2 (25)	[51, 71, 100–103, 105]
	Поперечный отросток	п	6,4 (13)	12 (12)	5 (12)			0,2 (25)	
	Остистый отросток	п	15 (20)	13 (20)	5 (20)			0,2 (25)	

Примечания: ¹ — форму фантома обозначали следующим образом: ц — цилиндр, дц — деформированный цилиндр, п — прямоугольный параллелепипед, э — эллипсоид; ² — размеры БФСК обозначали следующим образом: *h* — высота; *a* — большая ось (ц), большая ось для большего основания (дц) или сторона *a* (п); *b* — малая ось (ц), малая ось для большего основания (дц) или сторона *b* (п); *c* — большая ось для меньшей основания (дц); *d* — малая ось для меньшего основания (дц); ³ — толщину кортикального слоя принимали разной для внутренней (медиальной) и внешней (ягодичной) поверхностей данного сегмента подвздошной кости; ⁴ — БФСК имитировал лишь часть моделируемого сегмента кости в случае, если размеры сегмента кости значительно превышали 30 мм, так как в таких случаях, с точки зрения дозиметрии, не имеет смысла моделировать весь участок кости целиком [14, 21].

Таблица 5. Сравнение объемов БФСК годовалого и пятилетнего ребенка

БФСК	Моделируемая среда	Объем моделируемой структуры, см ³		
		1 год	5 лет	1 год / 5 лет
Дистальный конец бедренной кости	КМ	6,53	22,9	3,51
	ТК	1,88	7,56	4,02
	КК	1,41	5,21	3,7
	Весь БФСК	9,82	35,67	3,63
Ключица, грудинный конец	КМ	0,35	0,89	2,54
	ТК	0,14	0,36	2,57
	КК	0,09	0,22	2,44
	Весь БФСК	0,58	1,47	2,53
Тело поясничного позвонка	КМ	1,32	8,51	6,45
	ТК	0,2	1,34	6,7
	КК	–	0,3	–
	Весь БФСК	1,52	10,15	6,68
Тело шейного позвонка	КМ	0,45	0,89	1,98
	ТК	0,11	0,24	2,18
	КК	–	0,05	–
	Весь БФСК	0,56	1,18	2,11

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Для новорожденного было проведено сравнение результатов моделирования с массами реальных костей с целью подтверждения правильности методологического подхода. Нами не было найдено результатов измерений масс или объемов сырых костей пятилетнего ребенка, поэтому у нас нет возможности сравнить результаты моделирования и реальные кости. Существующие сегодня вычислительные фантомы получены путем сканирования аутопсийного материала и не являются параметрическими, поэтому нет возможности сравнить параметры этих фантомов с параметрами SPSPD-фантомов. Для большинства костей также не представляется возможным сравнить характеристики фантомов, полученные в результате их генерирования (массы моделируемых сред), с опубликованными массами фантомов, так как в рамках SPSPD-подхода моделируются только участки скелета с активным гемопоэзом, а не весь скелет целиком. Было проведено сравнение масс SPSPD-фантомов (как суммы масс всех сегментов в составе фантома) с опубликованными данными для костей, которые моделируются целиком: костей таза и ключицы пятилетнего ребенка [7, 12]. В результате сравнения разница между массами фантомов, представленных в литературе, и SPSPD-фантомов не превышала 20%.

Имеет смысл оценить возрастную динамику характеристик фантомов: новорожденного, годовалого и пятилетнего. Фантом скелета пятилетнего ребенка состоит из большего количества БФСК, чем фантомы скелета для младших возрастных групп. Это связано с процессами минерализации хрящевых участков, которые интенсивно идут в первые 5 лет жизни, в частности, к 5 годам значительной минерализации подвергаются отростки позвонков и грудина. Помимо этого, в данном возрасте еще не завершен процесс замещения ККМ жировой тканью в диафизах трубчатых костей, поэтому для данных участков были смоделированы БФСК. К 5 годам значительно изменяется распределение ККМ внутри скелета. Так, в этом возрасте существенно

уменьшается массовая доля ККМ в черепе по сравнению с годовалым ребенком: с 28,7% до 18,1%, при этом увеличивается доля ККМ в остальных участках скелета. Параметры микроструктуры БФСК изменяются слабо. Толщина кортикального слоя существенно увеличивается за этот период, и к 5 годам все моделируемые участки скелета покрыты кортикальным слоем, в отличие от фантомов для новорожденного и годовалого. В период от года до пяти лет происходит значительное увеличение размеров всех участков скелета. Сравнение объемов фантомов участков скелета годовалого и пятилетнего ребенка на примере дистального участка бедренной кости, ключицы, тел шейного и поясничного позвонков представлено в табл. 5.

Как показано в табл. 5, объемы моделируемых сред пятилетнего ребенка во многом превышают таковые для годовалого. Увеличение объемов тканей источников за этот период составляет 3,26 и 2,78 раза для ТК и КК соответственно. Объем КК увеличился в 3,03 раза. Общий объем БФСК для ребенка в возрасте 5 лет в среднем больше объема фантома годовалого ребенка в 2,8 раза.

Мы ожидаем, что такие возрастные изменения окажут существенное влияние на средний по скелету DF и, как следствие, на мощность дозы. Наибольшее влияние на DF для стронция, инкорпорированного в трабекулярной кости, может оказать увеличение линейных размеров БФСК. В предыдущих исследованиях было показано, что, чем больше размеры БФСК, тем выше вероятность поглощения энергии от источника, инкорпорированного в наружном кортикальном слое, к мишени (ККМ) уменьшается. Таким образом, с увеличением размеров БФСК можно ожидать роста DF для ^{89,90}Sr в трабекулярной кости и уменьшения DF для Sr в кортикальной кости.

Представленные параметры (табл. 3, 4) фантомов могут быть введены в программу Trabecula для генерирования воксельных фантомов, моделирование переноса излучения

в которых позволит оценить DF для остеотропных бета-излучателей, что даст возможность определить мощность поглощенной дозы в ККМ.

ВЫВОДЫ

В результате данного исследования были разработаны вычислительные фантомы основных участков скелета с активным гемопоэзом для ребенка в возрасте 5 лет. Разработку данных фантомов проводили по той же методологии, что и для новорожденного и годовалого ребенка. Смоделированные фантомы имитируют структуру костной ткани, а их наборы — популяционную вариабельность размеров структур отдельных костей. Представленный фантом для пятилетнего ребенка

в дальнейшем будет использован для расчетов DF для $^{89,90}\text{Sr}$, которые, в свою очередь, необходимы для оценки уточненных коэффициентов, связывающих индивидуальное поступление радионуклида и дозу на ККМ, что поможет усовершенствовать дозовые оценки для жителей Уральского региона. В качестве направления дальнейшей работы мы также планируем создать SPSPD-фантомы скелета для других возрастных групп: 10 лет, 15 лет и взрослых. SPSPD-фантомы могут быть использованы для дозиметрии инкорпорированных остеотропных бета-излучателей у населения, при попадании радионуклидов в окружающую среду, а также для дозиметрии других остеотропных бета-излучателей, в том числе применяемых в радионуклидной терапии, таких как ^{89}Sr , ^{32}P , ^{186}Re , ^{188}Re , ^{117}mSn .

Литература

- Degteva MO, Shagina NB, Vorobiova MI, Shishkina EA, Tolstykh EI, Akleyev AV. Contemporary Understanding of Radioactive Contamination of the Techa River in 1949–1956. *Radiat Biol Radioecol*. 2016; 56 (5): 523–34. PMID: 30703313.
- Krestinina LY, Epifanova SB, Silkin SS, Mikryukova LD, Degteva MO, Shagina NB, Akleyev AV. Chronic low-dose exposure in the Techa River Cohort: risk of mortality from circulatory diseases. *Radiat Environ Biophys*. 2013; 52 (1): 47–57. DOI: 10.1007/s00411-012-0438-5.
- Аклеев А. В. Хронический лучевой синдром у жителей прибрежных сел реки Теча. Челябинск: Книга, 2012; 464 с.
- Preston DL, Sokolnikov ME, Krestinina LY, Stram DO. Estimates of radiation effects on cancer risks in the Mayak Worker, Techa River and Atomic Bomb Survivor Studies. *Radiat Prot Dosimetry*. 2017; 173 (1–3): 26–31. DOI: 10.1093/rpd/ncw316.
- Degteva MO, Napier BA, Tolstykh EI, et al. Enhancements in the Techa River dosimetry system: TRDS-2016D Code for reconstruction of deterministic estimates of dose from environmental exposures. *Health Phys*. 2019; 117 (4): 378–87. DOI:10.1097/HP.0000000000001067.
- Spiers FW, Beddoe AH, Whitwell JR. Mean skeletal dose factors for beta-particle emitters in human bone. Part I: volume-seeking radionuclides. *The British journal of radiology*. 1978; 51 (608): 622–7.
- O'Reilly SE, DeWeese LS, Maynard MR, Rajon DA, Wayson MB, Marshall EL, et al. An 13 image-based skeletal dosimetry model for the ICRP reference adult female-internal electron 14 sources. *Phys Med Biol*. 2016; 61 (24): 8794–824.
- Xu XG, Chao TC, Bozkurt A. VIP-Man: an image-based whole-body adult male model constructed from color photographs of the Visible Human Project for multi-particle Monte Carlo calculations. *Health Phys*. 2000; 78 (5): 476–86. DOI: 10.1097/00004032-200005000-00003. PMID: 10772019.
- Shah AP, Bolch WE, Rajon DA, Patton PW, Jokisch DW. A paired-image radiation transport model for skeletal dosimetry. *J Nucl Med*. 2005; 46 (2): 344–53. PMID: 15695796.
- Pafundi D. Image-based skeletal tissues and electron dosimetry models for the ICRP reference pediatric age series [dissertation]. Gainesville: University of Florida, 2009.
- Hough M, Johnson P, Rajon D, Jokisch D, Lee C, Bolch W. An image-based skeletal dosimetry model for the ICRP reference adult male-internal electron sources. *Phys Med Biol*. 2011; 56 (8): 2309–46. DOI: 10.1088/0031-9155/56/8/001.
- Bolch WE, Eckerman K, Endo A, et al. ICRP Publication 143: Paediatric Reference Computational Phantoms. *Ann ICRP*. 2020; 49 (1): 5–297. DOI: 10.1177/0146645320915031.
- Degteva MO, Tolstykh EI, Shishkina EA, Sharagin PA, Zalyapin VI, Volchkova AY, et al. Stochastic parametric skeletal dosimetry model for humans: General approach and application to active marrow exposure from bone-seeking beta-particle emitters. *PLoS ONE*. 2021; 16 (10): e0257605. DOI: 10.1371/journal.pone.0257605.
- Дёгтева М. О., Шишкина Е. А., Толстых Е. И., Заляпин В. И., Шарагин П. А., Смит М. А. и др. Методологический подход к разработке дозиметрических моделей скелета человека для бета-излучающих радионуклидов. *Радиационная гигиена*. 2019; 12 (2): 66–75. DOI: 10.21514/1998-426X-2019-12-2-66-75.
- Volchkova AY, Sharagin PA, Shishkina EA. Internal bone marrow dosimetry: the effect of the exposure due to ^{90}Sr incorporated in the adjacent bone segments. *Bulletin of the South Ural State University. Ser. Mathematical Modelling, Programming & Computer Software*. 2022; 15 (4): 44–58. DOI: 10.14529/mmp220404.
- Шишкина Е. А., Шарагин П. А., Волчкова А. Ю. Аналитическое описание дозобразования в костном мозге от ^{90}Sr инкорпорированного в кальцифицированных тканях. *Вопросы радиационной безопасности*. 2021; 3: 72–82.
- Силкин С. С., Крестинина Л. Ю., Старцев Н. В., Аклеев А. В. Уральская когорта аварийно-облученного населения. *Медицина экстремальных ситуаций*. 2019; 21 (3): 393–402.
- Шарагин П. А., Шишкина Е. А., Толстых Е. И. Вычислительный фантом для дозиметрии красного костного мозга новорожденного ребенка от инкорпорированных бета-излучателей. *Медицина экстремальных ситуаций*. 2022; 4: 74–82. DOI: 10.47183/mes.2022.045.
- Шарагин П. А., Шишкина Е. А., Толстых Е. И. Вычислительный фантом для дозиметрии красного костного мозга годовалого ребенка от инкорпорированных бета-излучателей. *Медицина экстремальных ситуаций*. 2023; 3: 44–55. DOI: 10.47183/mes.2023.030.
- Cristy M. Active bone marrow distribution as a function of age in humans. *Phys Med Biol*. 1981; 26 (3): 389–400.
- Sharagin PA, Shishkina EA, Tolstykh EI, Volchkova AY, Smith MA, Degteva MO. Segmentation of hematopoietic sites of human skeleton for calculations of dose to active marrow exposed to bone-seeking radionuclides. *RAD Conference Proceedings*. 2018; 3: 154–8. DOI:10.21175/RadProc.2018.33.
- Valentin J. Basic anatomical and physiological data for use in radiological protection: reference values. *Annals of the ICRP*. 2002; 32 (3–4): 1–277.
- Woodard HQ and White DR. The composition of body tissues. *Br J Radiol*. 1986; 59: 1209–18.
- Шарагин П. А., Толстых Е. И., Шишкина Е. А., Дегтева М. О. Дозиметрическое моделирование кости для остеотропных бета-излучающих радионуклидов: размерные параметры и сегментация. В сборнике: Материалы международной научной конференции «Современные проблемы радиобиологии»; 23–24 сентября 2021 г., Гомель, Беларусь. *Современные проблемы радиобиологии – 2021*. 2021; 200–4.
- Толстых Е. И., Шарагин П. А., Шишкина Е. А., Дегтева М. О. Формирование доз облучения красного костного мозга

- человека от $^{89,90}\text{Sr}$, оценка параметров трабекулярной кости для дозиметрического моделирования. В сборнике: Материалы международной научной конференции «Современные проблемы радиобиологии»; 23–24 сентября 2021 г., Гомель, Беларусь. Современные проблемы радиобиологии — 2021. 2021; 176–9.
26. Толстых Е. И., Шарагин П. А., Шишкина Е. А., Волчкова А. Ю., Дегтева М. О. Анатомо-морфологический базис для дозиметрического моделирования трабекулярной кости человека с использованием стохастического параметрического подхода. Клинический вестник ГНЦ ФМБЦ имени А. И. Бурназяна. 2022; 3: 25–40.
 27. Shishkina EA, Timofeev YS, Volchkova AY, Sharagin PA, Zalyapin VI, Degteva MO, et al. Trabecula: a random generator of computational phantoms for bone marrow dosimetry. *Health Phys.* 2020; 118 (1): 53–9. DOI: 10.1097/HP.0000000000001127.
 28. Zalyapin VI, Timofeev YuS, Shishkina EA. A parametric stochastic model of bone geometry. *Bulletin of Southern Urals State University, Issue «Mathematical Modelling. Programming & Computer Software» (SUSU MMCS).* 2018; 11 (2): 44–57. DOI: 10.14529/mmp180204.
 29. Robinson RA. Chemical analysis and electron microscopy of bone. In: Rodahl K, Nicholson JT, Brown EM, editors. *Bone as a tissue.* New York: McGraw-Hill, 1960; p. 186–250.
 30. Vogler JB 3rd, Murphy WA. Bone marrow imaging. *Radiology.* 1988; 168 (3): 679–93.
 31. Vande Berg BC, Malghem J, Lecouvet FE, Maldague B. Magnetic resonance imaging of the normal bone marrow. *Skeletal Radiology.* 1998; 27: 471–83.
 32. Vande Berg BC, Malghem J, Lecouvet FE, Maldague B. Magnetic resonance imaging of normal bone marrow. *Eur Radiol.* 1998; 8 (8): 1327–34.
 33. Taccone A, Oddone M, Dell'Acqua AD, Occhi M, Ciccone MA. MRI «road-map» of normal age-related bone marrow. II. Thorax, pelvis and extremities. *Pediatr Radiol.* 1995; 25 (8): 596–606. PubMed PMID: 8570312.
 34. Taccone A, Oddone M, Occhi M, Dell'Acqua AD, Ciccone MA. MRI «road-map» of normal age-related bone marrow. I. Cranial bone and spine. *Pediatr Radiol.* 1995; 25 (8): 588–95. PubMed PMID: 8570311.
 35. Milovanovic P, Djonic D, Hahn M, Amling M, Busse B, Djuric M. Region-dependent patterns of trabecular bone growth in the human proximal femur: A study of 3D bone microarchitecture from early postnatal to late childhood period. *Am J Phys Anthropol.* 2017; 164 (2): 281–91. DOI: 10.1002/ajpa.23268.
 36. Ryan TM, Krovitz GE. Trabecular bone ontogeny in the human proximal femur. *J Hum Evol.* 2006; 51 (6): 591–602.
 37. Cunningham C, Scheuer L, Black S. *Developmental Juvenile Osteology.* 2nd ed. Elsevier Academic Press, 2016; p. 630.
 38. Ryan TM, Raichlen DA, Gosman JH. Structural and mechanical changes in trabecular bone during early development in the human femur and humerus. Chapter 12. In: Percival CJ, Richtsmeier JT, editors. *Building Bones: Bone Formation and Development in Anthropology.* Cambridge University Press, 2017; p. 281–302.
 39. Glorieux FH, Travers R, Taylor A, Bowen JR, Rauch F, Norman M, et al. Normative data for iliac bone histomorphometry in growing children. *Bone.* 2000; 26 (2): 103–9.
 40. Volpato V. Bone endostructure morphogenesis of the human ilium. *C. R. Palevol.* 2008; 463–71. DOI: 10.1016/j.crpv.2008.06.001.
 41. Rodriguez-Florez N, Ibrahim A, Hutchinson JC, Borghi A, James G, Arthurs OJ, et al. Cranial bone structure in children with sagittal craniosynostosis: Relationship with surgical outcomes. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2017; 70 (11): 1589–97. DOI: 10.1016/j.bjps.2017.06.017.
 42. Gao S, Ren L, Qui R, Wu Z, Li C, Li J. Electron absorbed fractions in an image-based microscopic skeletal dosimetry model of chinese adult male. *Radiat Prot Dosimetry.* 2017; 175 (4): 450–9.
 43. Pafundi D. Image-based skeletal tissues and electron dosimetry models for the ICRP reference pediatric age series [dissertation]. Gainesville: University of Florida, 2009.
 44. Milenković P. Age Estimation Based on Analyses of Sternal End of Clavicle and the First Costal Cartilage Doctoral Dissertation [dissertation]. Belgrade: University Of Belgrade School of Medicine, 2013.
 45. Kirmani S, Christen D, van Lenthe GH, Fischer PR, Bouxsein ML, McCready LK, et al. Bone structure at the distal radius during adolescent growth. *J Bone Miner Res.* 2009; 24 (6): 1033–42. DOI: 10.1359/jbmr.081255.
 46. Mitchell DM, Caksa S, Yuan A, Bouxsein ML, Misra M, Burnett-Bowie SM. Trabecular bone morphology correlates with skeletal maturity and body composition in healthy adolescent girls. *J Clin Endocrinol Metab.* 2018; 103 (1): 336–45. DOI: 10.1210/je.2017-01785.
 47. Li X, Williams P, Curry EJ, Choi D, Craig EV, Warren RF, et al. Trabecular bone microarchitecture and characteristics in different regions of the glenoid. *Orthopedics.* 2015; 38 (3): 163–8.
 48. Knowles NK, Langohr GD, Faieghi M, Nelson A, Ferreira LM. Development of a validated glenoid trabecular density-modulus relationship. *J Mech Behav Biomed Mater.* 2019; 90: 140–5. DOI: 10.1016/j.jmbbm.2018.10.013.
 49. Jun BJ, Vasanthi A, Ricchetti ET, Rodriguez E, Subhas N, Li ZM, Iannotti JP. Quantification of regional variations in glenoid trabecular bone architecture and mineralization using clinical computed tomography images. *J Orthop Res.* 2018; 36 (1): 85–96. DOI: 10.1002/jor.23620.
 50. Frich LH, Odgaard A, Dalstra M. Glenoid bone architecture J *Shoulder Elbow Surg.* 1998; 7 (4): 356–61.
 51. Kneissel M, Roschger P, Steiner W, et al. Cancellous bone structure in the growing and aging lumbar spine in a historic Nubian population. *Calcif Tissue Int.* 1997; 61 (2): 95–100. DOI: 10.1007/s002239900302.
 52. Arbabi A. A quantitative analysis of the structure of human sternum. *J Med Phys.* 2009; 34 (2): 80–6.
 53. Bartl R, Frisch B. *Biopsy of bone in internal medicine — an atlas and sourcebook.* Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1993; p. 250.
 54. Baur-Melnyk A. *Magnetic Resonance Imaging of the Bone Marrow.* Springer Science & Business Media, 2012; p. 371.
 55. Florence JL. Linear and cortical bone dimensions as indicators of health status in subadults from the Milwaukee County Poor Farm Cemetery. M. A.: University of Colorado at Denver, 2007.
 56. Maresh MM. Measurements from roentgenograms. In: McCammon RW, editor. *Human Growth and Development.* Springfield, IL: Charles C. Thomas, 1970; p. 157–200.
 57. Singh SP, Malhotra P, Sidhu LS, Singh PP. Skeletal frame size of spitian children. *Journal of Human Ecology.* 2007; 21 (3): 227–30.
 58. Živicnjak M, Smolej Narancić N, Szivovicza L, Franke D, Hrenović J, Bisof V, et al. Gender-specific growth patterns of transversal body dimensions in Croatian children and youth (2 to 18 years of age). *Coll Antropol.* 2008; 32 (2): 419–31. PubMed PMID: 18756891.
 59. Свадовский Б. С. Возрастная перестройка костной ткани. О росте и развитии диафизов плечевой и бедренной костей. М.: Изд-во акад. пед. наук РСФСР, 1961; 110 с.
 60. Miles AEW. Growth Curves of Immature Bones from a Scottish Island Population of Sixteenth to mid-Nineteenth Century: Limb-bone Diaphyses and Some Bones of the Hand and Foot. *International Journal of Osteoarcheology.* 1994; 4: 121–36.
 61. Dhavale N, Halcrow SE, Buckley HR, Tayles N, Donnett KM, Gray AR. Linear and appositional growth in infants and children from the prehistoric settlement of Ban Non Wat, Northeast Thailand: Evaluating biological responses to agricultural intensification in Southeast Asia. *Journal of Archaeological Science: Reports.* 2017; 11: 435–46. ISSN 2352-409.
 62. Djurić M, Milovanović P, Djonić D, Minić A, Hahn M. Morphological characteristics of the developing proximal femur: a biomechanical perspective. *Srp Arh Celok Lek.* 2012; 140 (11–12): 738–45. PubMed PMID: 23350248.
 63. Gosman JH, Ketcham RA. Patterns in ontogeny of human trabecular bone from SunWatch Village in the Prehistoric Ohio Valley: general features of microarchitectural change. *Am J Phys Anthropol.* 2009; 138 (3): 318–32. DOI: 10.1002/ajpa.20931. PubMed PMID: 18785633.
 64. Petit MA, McKay HA, MacKelvie KJ, Heinonen A, Khan KM, Beck TJ. A randomized school-based jumping intervention confers site and maturity-specific benefits on bone structural properties in girls: a hip structural analysis study. *J Bone Miner Res.* 2002; 17 (3):

- 363–72. PubMed PMID: 11874228.
65. Danforth ME, Wrobel GD, Armstrong CW, Swanson D. Juvenile age estimation using diaphyseal long bone lengths among ancient Maya populations. *Latin American Antiquity*. 2017; 20 (1): 3–13.
 66. Byers S, Moore AJ, Byard RW, Fazzalari NL. Quantitative histomorphometric analysis of the human growth plate from birth to adolescence. *Bone*. 2000; 27 (4): 495–501.
 67. Beresheim AC, Pfeiffer S, Grynopas M. Ontogenetic changes to bone microstructure in an archaeologically derived sample of human ribs. *J Anat*. 2019; DOI: 10.1111/joa.13116.
 68. Pfeiffer S. Cortical Bone Histology in Juveniles. Available from: https://www.researchgate.net/publication/303179375_Cortical_bone_histology_in_Juveniles.
 69. Hresko AM, Hinchcliff EM, Deckey DG, Hresko MT. Developmental sacral morphology: MR study from infancy to skeletal maturity. *Eur Spine J*. 2020; 29 (5): 1141–6. DOI: 10.1007/s00586-020-06350-6.
 70. Кузнецов Л. Е. Переломы таза у детей (морфология, биомеханика, диагностика). М.: Фолиум, 1994; 192 с.
 71. Mavrych V, Bolgova O, Ganguly P and Kashchenko S. Age-related changes of lumbar vertebral body morphometry. *Austin J Anat*. 2014; 1 (3): 7.
 72. Садофьева В. И. Нормальная рентгеноанатомия костно-суставной системы детей. Ленинград: Медицина, 1990; 216 с.
 73. Bernert Zs, Évinger S, Hajdu T. New data on the biological age estimation of children using bone measurements based on historical populations from the Carpathian Basin. *Annales Historico-Naturales Musei Nationalis Hungarici*. 2007; 99: 199–206.
 74. White TD, Black MT, Folkens PA. *Human osteology: 3rd ed.* Academic Press, 2011; p. 688.
 75. Gindhart PS. Growth standards for the tibia and radius in children aged one month through eighteen years. *Am J Phys Anthropol*. 1973; 39: 41–8.
 76. Lopez-Costas O, Rissech C, Tranco G, Turbón D. Postnatal ontogenesis of the tibia. Implications for age and sex estimation. *Forensic Sci Int*. 2012; 214 (1–3): 207.e1–11. DOI: 10.1016/j.forsciint.2011.07.038. PubMed PMID: 21862250.
 77. Suominen PK, Nurmi E, Lauerma K. Intraosseous access in neonates and infants: risk of severe complications — a case report. *Acta Anaesthesiol Scand*. 2015; 59 (10): 1389–93. DOI: 10.1111/aas.12602. PubMed PMID: 26300243.
 78. Blake KAS. An investigation of sex determination from the subadult pelvis: A morphometric analysis [dissertation]. Pittsburgh: University of Pittsburgh, 2011.
 79. Cunningham CA, Black SM. Iliac cortical thickness in the neonate — the gradient effect. *J Anat*. 2009a; 215 (3): 364–70. DOI: 10.1111/j.1469-7580.2009.01112.x.
 80. Cunningham CA, Black SM. Anticipating bipedalism: trabecular organization in the newborn ilium. *J Anat*. 2009b; 214 (6): 817–29. DOI: 10.1111/j.1469-7580.2009.01073.x.
 81. Rissech C, Garcia M, Malgosa A. Sex and age diagnosis by ischium morphometric analysis. *Forensic Science International*. 2003; 135: 188–96.
 82. Rissech C, Malgosa A. Pubis growth study: Applicability in sexual and age diagnostic. *Forensic Science International*. 2007; 173: 137–45.
 83. Corron L, Marchal F, Condemi S, Chaumoitre K, Adalian P. A New Approach of Juvenile Age Estimation using Measurements of the Ilium and Multivariate Adaptive Regression Splines (MARS) Models for Better Age Prediction. *Forensic Sci*. 2017; 62 (1): 18–29. DOI: 10.1111/1556-4029.13224.
 84. Parfitt AM, Travers R, Rauch F, Glorieux FH. Structural and cellular changes during bone growth in healthy children. *Bone*. 2000; 27 (4): 487–94. PMID: 11033443.
 85. Schnitzler CM, Mesquita JM, Pettifor JM. Cortical bone development in black and white South African children: iliac crest histomorphometry. *Bone*. 2009; 44 (4): 603–11. DOI: 10.1016/j.bone.2008.12.009.
 86. De Boer HH, Van der Merwe AE, Soerdjbalie-Maikoe VV. Human cranial vault thickness in a contemporary sample of 1097 autopsy cases: relation to body weight, stature, age, sex and ancestry. *Int J Legal Med*. 2016; 130 (5): 1371–7. DOI: 10.1007/s00414-016-1324-5.
 87. Margulies S, Coats B. Experimental injury biomechanics of the pediatric head and brain. Chapter 4. In: Crandall J, Myers B, Meaney D, et al, editors. *Pediatric Injury Biomechanics*. New York: Springer Science+Business Media, 2013; p. 157–190.
 88. Li Z, Park BK, Liu W, Zhang J, Reed MP, Rupp JD, et al. A statistical skull geometry model for children 0–3 years old. *PLoS One*. 2015; 10 (5). DOI: 10.1371/journal.pone.0127322.
 89. Bleuze MM, Wheeler SM, Williams LJ, Dupras TL. Growth of the pectoral girdle in a sample of juveniles from the kellis 2 cemetery, Dakhleh Oasis, Egypt. *Am J Hum Biol*. 2016; 28 (5): 636–45.
 90. McGraw MA, Mehlman CT, Lindsell CJ, Kirby CL. Postnatal growth of the clavicle: birth to eighteen years of age. *Journal of Pediatric Orthopedics*. 2009; 29: 937.
 91. Bernat A, Huysmans T, Van Glabbeek F, Sijbers J, Gielen J, Van Tongel A. The anatomy of the clavicle: a three-dimensional cadaveric study. *Clin Anat*. 2014; 27 (5): 712–23.
 92. Corron L. Juvenile age estimation in physical anthropology: A critical review of existing methods and the application of two standardised methodological approaches. *Biological anthropology [dissertation]*. Marseille: Aix-Marseille Université, 2016.
 93. Vallois HV. L'omoplate humaine. *Bulletin de la Société d'Anthropologie de Paris*. 1946; 7: 16–99.
 94. Saunders S, Hoppa R, Southern R. Diaphyseal growth in a nineteenth-century skeletal sample of subadults from St Thomas' Church, Belleville, Ontario. *International Journal of Osteoarchaeology*. 1993; 3: 265–81.
 95. Badr El Dine F, Hassan H. Ontogenetic study of the scapula among some Egyptians: Forensic implications in age and sex estimation using Multidetector Computed Tomography. *Egyptian Journal of Forensic Sciences*. 2015; 6 (2): 56–77.
 96. Rissech C, Black S. Scapular development from neonatal period to skeletal maturity. A preliminary study. *Int J Osteoarchaeol*. 2007; 17: 451–64.
 97. Bayarogullan H, Yengil E, Davran R, Ağlagül E, Karazincir S, Balcı A. Evaluation of the postnatal development of the sternum and sternal variations using multidetector CT. *Diagn Interv Radiol*. 2014; 20 (1): 82–9.
 98. Riach IC. Ossification in the sternum as a means of assessing skeletal age. *J Clin Pathol*. 1967; 20 (4): 589–90.
 99. Johnson KT, Al-Holou WN, Anderson RC, Wilson TJ, Karnati T, Ibrahim M, et al. Morphometric analysis of the developing pediatric cervical spine. *J Neurosurg Pediatr*. 2016; 18 (3): 377–89. DOI: 10.3171/2016.3.PEDS1612. PubMed PMID: 27231821.
 100. Caldas Md P, Ambrosano GM, Haiter Neto F. New formula to objectively evaluate skeletal maturation using lateral cephalometric radiographs. *Braz Oral Res*. 2007; 21 (4): 330–5. PubMed PMID: 18060260.
 101. Peters JR, Chandrasekaran C, Robinson LF, Servaes SE, Campbell RM Jr, Balasubramanian S. Age- and gender-related changes in pediatric thoracic vertebral morphology. *Spine J*. 2015; 15 (5): 1000–20. DOI: 10.1016/j.spinee.2015.01.016.
 102. Peters JR, Servaes SE, Cahill PJ, Balasubramanian S. Morphology and growth of the pediatric lumbar vertebrae. *Spine J*. 2021; 21 (4): 682–97. DOI: 10.1016/j.spinee.2020.10.029.
 103. Newman SL, Gowland RL. The use of non-adult vertebral dimensions as indicators of growth disruption and non-specific health stress in skeletal populations. *American journal of physical anthropology*. 2015; 158 (1): 155–64.
 104. Comeau A. Age-related changes in geometric characteristics of the pediatric thoracic cage and comparison of thorax shape with a Pediatric CPR Manikin [dissertation]. Philadelphia: Drexel University, 2010.
 105. Knirsch W, Kurtz C, Häfner N, Langer M, Kececioğlu D. Normal values of the sagittal diameter of the lumbar spine (vertebral body and dural sac) in children measured by MRI. *Pediatr Radiol*. 2005; 35: 419–24. DOI: 10.1007/s00247-004-1382-6.

References

1. Degteva MO, Shagina NB, Vorobiova MI, Shishkina EA, Tolstykh EI, Akleyev AV. Contemporary Understanding of Radioactive Contamination of the Techa River in 1949–1956. *Radiats Biol Radioecol.* 2016; 56 (5): 523–34. PMID: 30703313.
2. Krestinina LY, Epifanova SB, Silkin SS, Mikryukova LD, Degteva MO, Shagina NB, Akleyev AV. Chronic low-dose exposure in the Techa River Cohort: risk of mortality from circulatory diseases. *Radiat Environ Biophys.* 2013; 52 (1): 47–57. DOI: 10.1007/s00411-012-0438-5.
3. Akleev AV. Hronicheskij luhevoj sindrom u zhiteljev pribrezhnyh sel reki Techa. Cheljabinsk: Kniga, 2012; p. 464. Russian.
4. Preston DL, Sokolnikov ME, Krestinina LY, Stram DO. Estimates of radiation effects on cancer risks in the Mayak Worker, Techa River and Atomic Bomb Survivor Studies. *Radiat Prot Dosimetry.* 2017; 173 (1–3): 26–31. DOI: 10.1093/rpd/ncw316.
5. Degteva MO, Napier BA, Tolstykh EI, et al. Enhancements in the Techa River dosimetry system: TRDS-2016D Code for reconstruction of deterministic estimates of dose from environmental exposures. *Health Phys.* 2019; 117 (4): 378–87. DOI:10.1097/HP.0000000000001067.
6. Spiers FW, Beddoe AH, Whitwell JR. Mean skeletal dose factors for beta-particle emitters in human bone. Part I: volume-seeking radionuclides. *The British journal of radiology.* 1978; 51 (608): 622–7.
7. O'Reilly SE, DeWeese LS, Maynard MR, Rajon DA, Wayson MB, Marshall EL, et al. An 13 image-based skeletal dosimetry model for the ICRP reference adult female-internal electron 14 sources. *Phys Med Biol.* 2016; 61 (24): 8794–824.
8. Xu XG, Chao TC, Bozkurt A. VIP-Man: an image-based whole-body adult male model constructed from color photographs of the Visible Human Project for multi-particle Monte Carlo calculations. *Health Phys.* 2000; 78 (5): 476–86. DOI: 10.1097/00004032-200005000-00003. PMID: 10772019.
9. Shah AP, Bolch WE, Rajon DA, Patton PW, Jokisch DW. A paired-image radiation transport model for skeletal dosimetry. *J Nucl Med.* 2005; 46 (2): 344–53. PMID: 15695796.
10. Pafundi D. Image-based skeletal tissues and electron dosimetry models for the ICRP reference pediatric age series [dissertation]. Gainesville: University of Florida, 2009.
11. Hough M, Johnson P, Rajon D, Jokisch D, Lee C, Bolch W. An image-based skeletal dosimetry model for the ICRP reference adult male-internal electron sources. *Phys Med Biol.* 2011; 56 (8): 2309–46. DOI: 10.1088/0031-9155/56/8/001.
12. Bolch WE, Eckerman K, Endo A, et al. ICRP Publication 143: Paediatric Reference Computational Phantoms. *Ann ICRP.* 2020; 49 (1): 5–297. DOI: 10.1177/0146645320915031.
13. Degteva MO, Tolstykh EI, Shishkina EA, Sharagin PA, Zalyapin VI, Volchkova AY, et al. Stochastic parametric skeletal dosimetry model for humans: General approach and application to active marrow exposure from bone-seeking beta-particle emitters. *PLoS ONE.* 2021; 16 (10): e0257605. DOI: 10.1371/journal.pone.0257605.
14. Degteva MO, Shishkina EA, Tolstykh EI, Zalyapin VI, Sharagin PA, Smith MA, et al. Methodological approach to development of dosimetric models of the human skeleton for beta-emitting radionuclides. *Radiation Hygiene.* 2019; 12 (2): 66–75. DOI: 10.21514/1998-426X-2019-12-2-66-75. Russian.
15. Volchkova AY, Sharagin PA, Shishkina EA. Internal bone marrow dosimetry: the effect of the exposure due to 90Sr incorporated in the adjacent bone segments. *Bulletin of the South Ural State University. Ser. Mathematical Modelling, Programming & Computer Software.* 2022; 15 (4): 44–58. DOI: 10.14529/mmp220404.
16. Shishkina EA, Sharagin PA, Volchkova AY. Analytical description of dose forming in bone marrow from 90Sr in calcified tissues. *Issues of Radiation Safety.* 2021; 3: 72–82. Russian.
17. Silkin SS, Krestinina LY, Startsev VN, Akleev AV. Ural cohort of emergency-irradiated population. *Extreme medicine.* 2019; 21 (3): 393–402. Russian.
18. Sharagin PA, Shishkina EA, Tolstykh EI. Computational phantom for red bone marrow dosimetry from incorporated beta emitters in a newborn baby. *Extreme Medicine.* 2022; 4: 74–82. DOI: 10.47183/mes.2022.045. Russian.
19. Sharagin PA, Shishkina EA, Tolstykh EI. Computational red bone marrow dosimetry phantom of a one-year-old child enabling assessment of exposure due to incorporated beta emitters. *Extreme Medicine.* 2023; 3: 44–55. DOI: 10.47183/mes.2023.030. Russian.
20. Cristy M. Active bone marrow distribution as a function of age in humans. *Phys Med Biol.* 1981; 26 (3): 389–400.
21. Sharagin PA, Shishkina EA, Tolstykh EI, Volchkova AY, Smith MA, Degteva MO. Segmentation of hematopoietic sites of human skeleton for calculations of dose to active marrow exposed to bone-seeking radionuclides. *RAD Conference Proceedings.* 2018; 3: 154–8. DOI:10.21175/RadProc.2018.33.
22. Valentin J. Basic anatomical and physiological data for use in radiological protection: reference values. *Annals of the ICRP.* 2002; 32 (3–4): 1–277.
23. Woodard HQ and White DR. The composition of body tissues. *Br. J. Ru&ol.* 1986; 59: 1209–18.
24. Sharagin PA, Tolstykh EI, Shishkina EA, Degteva MO. Dosimetric modeling of bone for bone-seeking beta-emitting radionuclides: size parameters and segmentation. In: *Proceedings of the contemporary issues of radiobiology — 2021 International Scientific Conference; 2021 Sept 23–24; Gomel, Belarus.* 2021; p. 200–4. Russian.
25. Tolstykh EI, Sharagin PA, Shishkina EA, Degteva MO. Dosimetric modeling of red bone marrow exposure from 89,90Sr: resolving age-dependent trabecular bone parameters. In: *Proceedings of the contemporary issues of radiobiology — 2021 International Scientific Conference; 2021 Sept 23–24; Gomel, Belarus.* 2021; p. 176–9. Russian.
26. Tolstykh EI, Sharagin PA, Shishkina EA, Volchkova AY, Degteva MO. Anatomical and morphological basis for dosimetric modeling of the human trabecular bone using a stochastic parametric approach. *Clinical Bulletin of the Burnazyan State Medical Center.* 2022; 3: 25–40. Russian.
27. Shishkina EA, Timofeev YS, Volchkova AY, Sharagin PA, Zalyapin VI, Degteva MO, et al. Trabecula: a random generator of computational phantoms for bone marrow dosimetry. *Health Phys.* 2020; 118 (1): 53–9. DOI: 10.1097/HP.0000000000001127.
28. Zalyapin VI, Timofeev YuS, Shishkina EA. A parametric stochastic model of bone geometry. *Bulletin of Southern Urals State University, Issue «Mathematical Modelling, Programming & Computer Software» (SUSU MMCS).* 2018; 11 (2): 44–57. DOI: 10.14529/mmp180204.
29. Robinson RA. Chemical analysis and electron microscopy of bone. In: Rodahl K, Nicholson JT, Brown EM, editors. *Bone as a tissue.* New York: McGraw-Hill, 1960; p. 186–250.
30. Vogler JB 3rd, Murphy WA. Bone marrow imaging. *Radiology.* 1988; 168 (3): 679–93.
31. Vande Berg BC, Malghem J, Lecouvet FE, Maldague B. Magnetic resonance imaging of the normal bone marrow. *Skeletal Radiology.* 1998; 27: 471–83.
32. Vande Berg BC, Malghem J, Lecouvet FE, Maldague B. Magnetic resonance imaging of normal bone marrow. *Eur Radiol.* 1998; 8 (8): 1327–34.
33. Taccone A, Oddone M, Dell'Acqua AD, Occhi M, Ciccone MA. MRI «road-map» of normal age-related bone marrow. II. Thorax, pelvis and extremities. *Pediatr Radiol.* 1995; 25 (8): 596–606. PubMed PMID: 8570312.
34. Taccone A, Oddone M, Occhi M, Dell'Acqua AD, Ciccone MA. MRI «road-map» of normal age-related bone marrow. I. Cranial bone and spine. *Pediatr Radiol.* 1995; 25 (8): 588–95. PubMed PMID: 8570311.
35. Milovanovic P, Djonic D, Hahn M, Amling M, Busse B, Djuric M. Region-dependent patterns of trabecular bone growth in the human proximal femur: A study of 3D bone microarchitecture from early postnatal to late childhood period. *Am J Phys Anthropol.* 2017; 164 (2): 281–91. DOI: 10.1002/ajpa.23268.
36. Ryan TM, Krovitz GE. Trabecular bone ontogeny in the human proximal femur. *J Hum Evol.* 2006; 51 (6): 591–602.
37. Cunningham C, Scheuer L, Black S. Developmental Juvenile

- Osteology. 2nd ed. Elsevier Academic Press, 2016; p. 630.
38. Ryan TM, Raichlen DA, Gosman JH. Structural and mechanical changes in trabecular bone during early development in the human femur and humerus. Chapter 12. In: Percival CJ, Richtsmeier JT, editors. *Building Bones: Bone Formation and Development in Anthropology*. Cambridge University Press, 2017; p. 281–302.
 39. Glorieux FH, Travers R, Taylor A, Bowen JR, Rauch F, Norman M, et al. Normative data for iliac bone histomorphometry in growing children. *Bone*. 2000; 26 (2): 103–9.
 40. Volpato V. Bone endostructure morphogenesis of the human ilium. *C. R. Palevol* 7. 2008; 463–71. DOI: 10.1016/j.crpv.2008.06.001.
 41. Rodriguez-Florez N, Ibrahim A, Hutchinson JC, Borghi A, James G, Arthurs OJ, et al. Cranial bone structure in children with sagittal craniosynostosis: Relationship with surgical outcomes. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2017; 70 (11): 1589–97. DOI: 10.1016/j.bjps.2017.06.017.
 42. Gao S, Ren L, Qui R, Wu Z, Li C, Li J. Electron absorbed fractions in an image-based microscopic skeletal dosimetry model of chinese adult male. *Radiat Prot Dosimetry*. 2017; 175 (4): 450–9.
 43. Pafundi D. Image-based skeletal tissues and electron dosimetry models for the ICRP reference pediatric age series [dissertation]. Gainesville: University of Florida, 2009.
 44. Milenković P. Age Estimation Based on Analyses of Sternal End of Clavicle and the First Costal Cartilage Doctoral Dissertation [dissertation]. Belgrade: University Of Belgrade School of Medicine, 2013.
 45. Kirmani S, Christen D, van Lenthe GH, Fischer PR, Bouxsein ML, McCready LK, et al. Bone structure at the distal radius during adolescent growth. *J Bone Miner Res*. 2009; 24 (6): 1033–42. DOI: 10.1359/jbmr.081255.
 46. Mitchell DM, Caksa S, Yuan A, Bouxsein ML, Misra M, Burnett-Bowie SM. Trabecular bone morphology correlates with skeletal maturity and body composition in healthy adolescent girls. *J Clin Endocrinol Metab*. 2018; 103 (1): 336–45. DOI: 10.1210/je.2017-01785.
 47. Li X, Williams P, Curry EJ, Choi D, Craig EV, Warren RF, et al. Trabecular bone microarchitecture and characteristics in different regions of the glenoid. *Orthopedics*. 2015; 38 (3): 163–8.
 48. Knowles NK, G Langohr GD, Faioghi M, Nelson A, Ferreira LM. Development of a validated glenoid trabecular density-modulus relationship. *J Mech Behav Biomed Mater*. 2019; 90: 140–5. DOI: 10.1016/j.jmbm.2018.10.013.
 49. Jun BJ, Vasanji A, Ricchetti ET, Rodriguez E, Subhas N, Li ZM, Iannotti JP. Quantification of regional variations in glenoid trabecular bone architecture and mineralization using clinical computed tomography images. *J Orthop Res*. 2018; 36 (1): 85–96. DOI: 10.1002/jor.23620.
 50. Frich LH, Odgaard A, Dalstra M. Glenoid bone architecture *J Shoulder Elbow Surg*. 1998; 7 (4): 356–61.
 51. Kneissel M, Roschger P, Steiner W, et al. Cancellous bone structure in the growing and aging lumbar spine in a historic Nubian population. *Calcif Tissue Int*. 1997; 61 (2): 95–100. DOI: 10.1007/s002239900302.
 52. Arbabi A. A quantitative analysis of the structure of human sternum. *J Med Phys*. 2009; 34 (2): 80–6.
 53. Bartl R, Frisch B. Biopsy of bone in internal medicine — an atlas and sourcebook. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1993; p. 250.
 54. Baur-Melnyk A. *Magnetic Resonance Imaging of the Bone Marrow*. Springer Science & Business Media, 2012; p. 371.
 55. Florence JL. Linear and cortical bone dimensions as indicators of health status in subadults from the Milwaukee County Poor Farm Cemetery. M. A.: University of Colorado at Denver, 2007.
 56. Maresh MM. Measurements from roentgenograms. In: McCammon RW, editor. *Human Growth and Development*. Springfield, IL: Charles C. Thomas, 1970; p. 157–200.
 57. Singh SP, Malhotra P, Sidhu LS, Singh PP. Skeletal frame size of spitian children. *Journal of Human Ecology*. 2007; 21 (3): 227–30.
 58. Živicnjak M, Smolej Narancić N, Szivovicza L, Franke D, Hrenović J, Bisof V, et al. Gender-specific growth patterns of transversal body dimensions in Croatian children and youth (2 to 18 years of age). *Coll Antropol*. 2008; 32 (2): 419–31. PubMed PMID: 18756891.
 59. Svadovskij BS. Vozrastnaja perestrojka kostnoj tkani. O roste i razvitiu diafizov plechevoj i bedrennoj kostej. M.: Izd-vo akad. ped. nauk RSFSR, 1961; p. 110. Russian.
 60. Miles AEW. Growth Curves of Immature Bones from a Scottish Island Population of Sixteenth to mid-Nineteenth Century: Limb-bone Diaphyses and Some Bones of the Hand and Foot. *International Journal of Osteoarcheology*. 1994; 4: 121–36.
 61. Dhavale N, Halcrow SE, Buckley HR, Tayles N, Domett KM, Gray AR. Linear and appositional growth in infants and children from the prehistoric settlement of Ban Non Wat, Northeast Thailand: Evaluating biological responses to agricultural intensification in Southeast Asia. *Journal of Archaeological Science: Reports*. 2017; 11: 435–46. ISSN 2352-409.
 62. Djurić M, Milovanović P, Džonić D, Minić A, Hahn M. Morphological characteristics of the developing proximal femur: a biomechanical perspective. *Srp Arh Celok Lek*. 2012; 140 (11–12): 738–45. PubMed PMID: 23350248.
 63. Gosman JH, Ketcham RA. Patterns in ontogeny of human trabecular bone from SunWatch Village in the Prehistoric Ohio Valley: general features of microarchitectural change. *Am J Phys Anthropol*. 2009; 138 (3): 318–32. DOI: 10.1002/ajpa.20931. PubMed PMID: 18785633.
 64. Petit MA, McKay HA, Mackelvie KJ, Heinonen A, Khan KM, Beck TJ. A randomized school-based jumping intervention confers site and maturity-specific benefits on bone structural properties in girls: a hip structural analysis study. *J Bone Miner Res*. 2002; 17 (3): 363–72. PubMed PMID: 11874228.
 65. Danforth ME, Wrobel GD, Armstrong CW, Swanson D. Juvenile age estimation using diaphyseal long bone lengths among ancient Maya populations. *Latin American Antiquity*. 2017; 20 (1): 3–13.
 66. Byers S, Moore AJ, Byard RW, Fazzalari NL. Quantitative histomorphometric analysis of the human growth plate from birth to adolescence. *Bone*. 2000; 27 (4): 495–501.
 67. Beresheim AC, Pfeiffer S, Grynypas M. Ontogenetic changes to bone microstructure in an archaeologically derived sample of human ribs. *J Anat*. 2019; DOI: 10.1111/joa.13116.
 68. Pfeiffer S. Cortical Bone Histology in Juveniles. Available from: https://www.researchgate.net/publication/303179375_Cortical_bone_histology_in_Juveniles.
 69. Hresko AM, Hinchcliff EM, Deckey DG, Hresko MT. Developmental sacral morphology: MR study from infancy to skeletal maturity. *Eur Spine J*. 2020; 29 (5): 1141–6. DOI: 10.1007/s00586-020-06350-6.
 70. Kuznecov LE. *Perelomy taza u detej (morfologija, biomehanika, diagnostika)*. M.: Folium, 1994; p. 192. Russian.
 71. Mavrych V, Bolgova O, Ganguly P and Kashchenko S. Age-related changes of lumbar vertebral body morphometry. *Austin J Anat*. 2014; 1 (3): 7.
 72. Sadofeva VI. *Normal'naja rentgenoanatomija kostno-sustavnoj sistemy detej*. Leningrad: Medicina, 1990; p. 216. Russian.
 73. Bernert Zs, Évinger S, Hajdu T. New data on the biological age estimation of children using bone measurements based on historical populations from the Carpathian Basin. *Annales Historico-Naturales Musei Nationalis Hungarici*. 2007; 99: 199–206.
 74. White TD, Black MT, Folkens PA. *Human osteology: 3rd ed*. Academic Press, 2011; p. 688.
 75. Gindhart PS. Growth standards for the tibia and radius in children aged one month through eighteen years. *Am J Phys Anthropol*. 1973; 39: 41–8.
 76. Lopez-Costas O, Rissech C, Tranco G, Turbón D. Postnatal ontogenesis of the tibia. Implications for age and sex estimation. *Forensic Sci Int*. 2012; 214 (1–3): 207.e1–11. DOI: 10.1016/j.forsciint.2011.07.038. PubMed PMID: 21862250.
 77. Suominen PK, Nurmi E, Lauerma K. Intraosseous access in neonates and infants: risk of severe complications — a case report. *Acta Anaesthesiol Scand*. 2015; 59 (10): 1389–93. DOI: 10.1111/aas.12602. PubMed PMID: 26300243.
 78. Blake KAS. An investigation of sex determination from the subadult pelvis: A morphometric analysis [dissertation]. Pittsburgh: University of Pittsburgh, 2011.
 79. Cunningham CA, Black SM. Iliac cortical thickness in the neonate — the gradient effect. *J Anat*. 2009a; 215 (3): 364–70. DOI: 10.1111/j.1469-7580.2009.01112.x.

80. Cunningham CA, Black SM. Anticipating bipedalism: trabecular organization in the newborn ilium. *J Anat.* 2009b; 214 (6): 817–29. DOI: 10.1111/j.1469-7580.2009.01073.x.
81. Rissech C, Garcia M, Malgosa A. Sex and age diagnosis by ischium morphometric analysis. *Forensic Science International.* 2003; 135: 188–96.
82. Rissech C, Malgosa A. Pubis growth study: Applicability in sexual and age diagnostic. *Forensic Science International.* 2007; 173: 137–45.
83. Corron L, Marchal F, Condemi S, Chaumôtre K, Adalian P. A New Approach of Juvenile Age Estimation using Measurements of the Ilium and Multivariate Adaptive Regression Splines (MARS) Models for Better Age Prediction. *Forensic Sci.* 2017; 62 (1): 18–29. DOI: 10.1111/1556-4029.13224.
84. Parfitt AM, Travers R, Rauch F, Glorieux FH. Structural and cellular changes during bone growth in healthy children. *Bone.* 2000; 27 (4): 487–94. PMID: 11033443.
85. Schnitzler CM, Mesquita JM, Pettifor JM. Cortical bone development in black and white South African children: iliac crest histomorphometry. *Bone.* 2009; 44 (4): 603–11. DOI: 10.1016/j.bone.2008.12.009.
86. De Boer HH, Van der Merwe AE, Soerdjbalie-Maikoe W. Human cranial vault thickness in a contemporary sample of 1097 autopsy cases: relation to body weight, stature, age, sex and ancestry. *Int J Legal Med.* 2016; 130 (5): 1371–7. DOI: 10.1007/s00414-016-1324-5.
87. Margulies S, Coats B. Experimental injury biomechanics of the pediatric head and brain. Chapter 4. In: Crandall J, Myers B, Meaney D, et al, editors. *Pediatric Injury Biomechanics.* New York: Springer Science+Business Media, 2013; p. 157–190.
88. Li Z, Park BK, Liu W, Zhang J, Reed MP, Rupp JD, et al. A statistical skull geometry model for children 0–3 years old. *PLoS One.* 2015; 10 (5). DOI: 10.1371/journal.pone.0127322.
89. Bleuze MM, Wheeler SM, Williams LJ, Dupras TL. Growth of the pectoral girdle in a sample of juveniles from the kellis 2 cemetery, Dakhleh Oasis, Egypt. *Am J Hum Biol.* 2016; 28 (5): 636–45.
90. McGraw MA, Mehlman CT, Lindsell CJ, Kirby CL. Postnatal growth of the clavicle: birth to eighteen years of age. *Journal of Pediatric Orthopedics.* 2009; 29: 937.
91. Bernat A, Huysmans T, Van Glabbeek F, Sijbers J, Gielen J, Van Tongel A. The anatomy of the clavicle: a three-dimensional cadaveric study. *Clin Anat.* 2014; 27 (5): 712–23.
92. Corron L. Juvenile age estimation in physical anthropology: A critical review of existing methods and the application of two standardised methodological approaches. *Biological anthropology [dissertation].* Marseille: Aix-Marseille Université, 2016.
93. Vallois HV. L'omoplate humaine. *Bulletin de la Société d'Anthropologie de Paris.* 1946; 7: 16–99.
94. Saunders S, Hoppa R, Southern R. Diaphyseal growth in a nineteenth-century skeletal sample of subadults from St Thomas' Church, Belleville, Ontario. *International Journal of Osteoarchaeology.* 1993; 3: 265–81.
95. Badr El Dine F, Hassan H. Ontogenetic study of the scapula among some Egyptians: Forensic implications in age and sex estimation using Multidetector Computed Tomography. *Egyptian Journal of Forensic Sciences.* 2015; 6 (2): 56–77.
96. Rissech C, Black S. Scapular development from neonatal period to skeletal maturity. A preliminary study. *Int J Osteoarchaeol.* 2007; 17: 451–64.
97. Bayaroğulları H, Yengil E, Davran R, Ağlagül E, Karazincir S, Balcı A. Evaluation of the postnatal development of the sternum and sternal variations using multidetector CT. *Diagn Interv Radiol.* 2014; 20 (1): 82–9.
98. Riach IC. Ossification in the sternum as a means of assessing skeletal age. *J Clin Pathol.* 1967; 20 (4): 589–90.
99. Johnson KT, Al-Holou WN, Anderson RC, Wilson TJ, Karnati T, Ibrahim M, et al. Morphometric analysis of the developing pediatric cervical spine. *J Neurosurg Pediatr.* 2016; 18 (3): 377–89. DOI: 10.3171/2016.3.PEDS1612. PubMed PMID: 27231821.
100. Caldas Md P, Ambrosano GM, Haiter Neto F. New formula to objectively evaluate skeletal maturation using lateral cephalometric radiographs. *Braz Oral Res.* 2007; 21 (4): 330–5. PubMed PMID: 18060260.
101. Peters JR, Chandrasekaran C, Robinson LF, Servaes SE, Campbell RM Jr, Balasubramanian S. Age- and gender-related changes in pediatric thoracic vertebral morphology. *Spine J.* 2015; 15 (5): 1000–20. DOI: 10.1016/j.spinee.2015.01.016.
102. Peters JR, Servaes SE, Cahill PJ, Balasubramanian S. Morphology and growth of the pediatric lumbar vertebrae. *Spine J.* 2021; 21 (4): 682–97. DOI: 10.1016/j.spinee.2020.10.029.
103. Newman SL, Gowland RL. The use of non-adult vertebral dimensions as indicators of growth disruption and non-specific health stress in skeletal populations. *American journal of physical anthropology.* 2015; 158 (1): 155–64.
104. Comeau A. Age-related changes in geometric characteristics of the pediatric thoracic cage and comparison of thorax shape with a Pediatric CPR Manikin [dissertation]. Philadelphia: Drexel University, 2010.
105. Knirsch W, Kurtz C, Häffner N, Langer M, Kececioğlu D. Normal values of the sagittal diameter of the lumbar spine (vertebral body and dural sac) in children measured by MRI. *Pediatr Radiol.* 2005; 35: 419–24. DOI: 10.1007/s00247-004-1382-6.

РОЛЬ БЫСТРОГО БЕГА В ПРЕДОТВРАЩЕНИИ НЕГАТИВНЫХ ВЛИЯНИЙ ПРЕБЫВАНИЯ ЧЕЛОВЕКА В НЕВЕСОМОСТИ

Е. В. Фомина[✉], Н. А. Сенаторова, В. Д. Бахтерева, Е. Н. Ярманова, И. Б. Козловская

Государственный научный центр Российской Федерации — Институт медико-биологических проблем Российской академии наук, Россия, Москва

Перспектива освоения дальнего космоса определяет необходимость модификации принципов и методов системы профилактики негативного влияния невесомости на организм человека. Целью исследования было определить роль бега с высокой скоростью во время локомоторных тренировок, выполняемых в ходе космического полета (КП), в сохранении уровня физической работоспособности человека. В исследовании приняли участие 10 космонавтов. Оценка физической работоспособности проводилась на всех этапах КП на основе теста «Индивидуальные стратегии» (ТИС). Во время выполнения ТИС регистрировались частота сердечных сокращений (ЧСС), параметры газообмена, концентрация лактата в капиллярной крови. Космонавты были разделены на две группы на основе различий в среднем объеме бега с высокой скоростью в ходе одной тренировки на дорожке. В группе А ($n = 4$) средняя дистанция быстрого бега составила 949 м/день, в группе В ($n = 6$) — 2669 м/день. ЧСС в группе А после КП увеличилась на ступенях от 5 до 8 км/ч ($p < 0,05$). Повышение легочной вентиляции после КП наблюдалось в группе А на ступенях нагрузки от 8 до 15 км/ч ($p < 0,05$). После КП концентрация лактата в капиллярной крови в периоде восстановления после теста в группе А увеличилась на 37% ($p = 0,03$). Пульсовая сумма работы и восстановления оказались выше после КП в группе А на 14% ($p = 0,02$) и 15% ($p = 0,03$) соответственно, в то время как в группе В различий не обнаружено. Таким образом, наша гипотеза о том, что бег с высокой скоростью воспроизводит сенсорный приток, сопоставимый с условиями Земли, и, как следствие, обеспечивает включение физиологических механизмов, противодействующих негативному влиянию невесомости, подтверждена в космическом эксперименте.

Ключевые слова: локомоторные тренировки, тест с физической нагрузкой, физическая работоспособность, космический полет, эргоспирометрия

Финансирование: работа поддержана финансированием РАН 63.1 и госкорпорацией Роскосмос.

Благодарности: выражаем благодарность космонавтам за участие в эксперименте (ЦПК им. Гагарина), старшему научному сотруднику, к.б.н. Н. Ю. Лысовой (ГНЦ РФ ИМБП РАН), С. В. Резвановой (ГКУ «ЦСТСК» Москомспорта) за участие в проведении эксперимента и сборе данных, Беда О. О. за участие в сопровождении сеансов эксперимента в ЦУПе, Смирнову Ю. И. за участие в подготовке документации, Кукоба Т. Б., Бабич Д. Р., Романову П. В. за разработку индивидуальных протоколов силовых тренировок и сопровождение силовых тренировок в ходе космического полета.

Вклад авторов: Е. В. Фомина — организация и сопровождение эксперимента «Профилактика-2», проведение сессий эксперимента, написание статьи; Н. А. Сенаторова — проведение сессий эксперимента, сопровождение эксперимента, статистическая обработка результатов, литературный обзор и оформление статьи; В. Д. Бахтерева — обработка данных, написание статьи; Е. Н. Ярманова — инженерное сопровождение средств профилактики, разработка тренажера «БД-2» совместно с И. Б. Козловской; И. Б. Козловская — определение целей, задач и методов эксперимента.

Соблюдение этических стандартов: эксперимент «Профилактика-2» одобрен этическим комитетом ИМБП (протокол № 368 от 22 августа 2014 г.). Все участники подписали добровольное информированное согласие.

✉ **Для корреспонденции:** Елена Валентиновна Фомина
Хорошевское шоссе, 76А, г. Москва, 123007, Россия; fomin-fomin@yandex.ru

Статья получена: 15.06.2023 **Статья принята к печати:** 15.10.2023 **Опубликована онлайн:** 19.11.2023

DOI: 10.47183/mes.2023.046

THE ROLE OF FAST RUNNING IN PREVENTION OF NEGATIVE EFFECTS OF PROLONGED EXPOSURE TO WEIGHTLESSNESS

Fomina EV[✉], Senatorova NA, Bakhtereva VD, Yarmanova EN, Kozlovskaya IB

State Scientific Center of Russian Federation — Institute of Biomedical Problems RAS, Moscow, Russia

The prospects of deep space exploration necessitate modification of the principles and methods underlying the system designed to prevent negative impact of weightlessness on the human body. This work aimed to determine how fast running, as part of locomotor training during a space flight (SF), helps maintain physical ability of a person. The study involved 10 cosmonauts; their physical performance was assessed at all stages of the SF with the help of the Individual Strategies Test (IST). The parameters registered when the participants were doing the IST included heart rate (HR), gas exchange, capillary blood lactate concentration. The cosmonauts were divided into two groups based on the differences in the mean distance covered while fast running on a treadmill (single session). Group A ($n = 4$) run 949 m/day on average, group B ($n = 6$) — 2669 m/day. After SF, HR in group A increased at speeds from 5 to 8 km/h ($p < 0.05$), pulmonary ventilation indicators grew at speeds from 8 to 15 km/h ($p < 0.05$), and the capillary blood lactate concentration measured during the post-test recovery period increased by 37% ($p = 0.03$). Moreover, after SF, the pulse sum recorded under load and during recovery was 14% ($p = 0.02$) and 15% ($p = 0.03$) in group A, respectively, while in group B we registered no differences. Thus, our hypothesis that fast running triggers sensory reactions simulating Earth conditions for the body, which consequently activates physiological mechanisms counteracting the negative effects of weightlessness, has been confirmed in a space experiment.

Keywords: locomotor training, physical activity test, physical performance, space flight, ergospirometry

Funding: the work was financially supported by the Russian Academy of Sciences (63.1) and Roscosmos State Corporation.

Acknowledgements: we express our gratitude to the cosmonauts for participating in the experiment (Yuri Gagarin Cosmonaut Training Center); Lysova N.Yu., senior researcher, Candidate of Biological Sciences, (Institute of Biomedical Problems); Rezvanova S.V. (Center for Innovative Sports Technology and National Teams Training) for participation in the experiment and data collection; Beda O.O. for supporting the experiment's sessions in the MCC; Smirnov Yu.I. for participation in the preparation of documentation; Kukoba T.B., Babich D.R., Romanov P.V. for development of the individual strength training protocols and strength training supervision during the space flight.

Author contribution: Fomina EV — organization and support of the Prophylactika-2 experiment, conducting sessions of the experiment, article authoring; Senatorova NA — conducting sessions of the experiment, support of the experiment, statistical processing of the results, literary review and arrangement of the article; Bakhtereva VD — data processing, article authoring; Yarmanova EN — engineering support of countermeasures, development of the BD-2 treadmill in collaboration with I.B. Kozlovskaya; Kozlovskaya IB — selection/formulation of goals, objectives and methods of the experiment.

Compliance with ethical standards: the Prophylactika-2 experiment was approved by the Ethics Committee of the Institute of Biomedical Problems (Minutes #368 of August 22, 2014). All participants signed a voluntary informed consent form.

✉ **Correspondence should be addressed:** Elena V. Fomina
Khoroshevskoe shosse, 76A, Moscow, 123007, Russia; fomin-fomin@yandex.ru

Received: 15.06.2023 **Accepted:** 15.10.2023 **Published online:** 19.11.2023

DOI: 10.47183/mes.2023.046

Разработка методов сохранения здоровья и работоспособности космонавтов во время длительных космических полетов — ключевая задача космической медицины [1–4]. Подготовка к освоению Луны и Марса или реализации сценария выживания в случае приземления корабля в незапланированном месте актуализирует поиск путей обеспечения высокой работоспособности космонавта, поддержания функциональных резервов организма, эффективной и надежной деятельности при выполнении сложных внекорабельных задач на поверхности. Изменения при длительном пребывании в условиях невесомости затрагивают сердечно-сосудистую [5–10], дыхательную [11] и скелетно-мышечную [12–14] системы. Таким образом, профилактика негативных влияний невесомости должна быть адресована всем этим системам. Данные космических полетов и модельных исследований свидетельствуют о том, что осевая разгрузка в условиях невесомости способствует снижению опорной афферентации, что впоследствии приводит к атонии и атрофии мышечных волокон и нарушениям в вестибулярной системе [14, 15]. Поскольку раздражение проприоцептивного и тактильного входов необходимо для осуществления постурального контроля, поддержание этих систем настроенными на удержание вертикального равновесия во время бега в условиях невесомости может улучшить выполнение функциональных задач после полета [16, 17]. Таким образом, интенсивные физические тренировки с целью противодействия негативным перестройкам в функционировании гравизависимых физиологических систем в условиях невесомости — обязательный элемент медицинского обеспечения длительных космических полетов [16, 18–20].

Ранее нами были определены величины осевой нагрузки и объем локомоций в пассивном режиме движения полотна бегущей дорожки (с помощью силы ног), обеспечивающие эффективную локомоторную тренировку во время космического полета [21]. Настоящее исследование посвящено определению роли бега с высокой скоростью в активном режиме движения полотна дорожки в эффективности локомоторной тренировки. Обеспечение противодействия негативному влиянию невесомости, по нашему мнению, может определяться работой, имитирующей поддержание или перемещение веса в условиях Земли. Можно сказать, что профилактическая эффективность метода состоит в обеспечении условий, воспроизводящих эффекты действия силы тяжести и создании соответствующего сенсорного притока при выполнении механической работы. В условиях невесомости и так называемой механической разгрузки только интенсивная работа переводит организм на уровень метаболических и функциональных затрат, сопоставимый с условиями Земли. Целью исследования было определение роли бега с высокой скоростью в сохранении физической работоспособности человека в ходе длительного космического полета.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Характеристика обследуемых лиц

В статье приводятся результаты, полученные в ходе реализации космического эксперимента «Профилактика-2». В исследовании приняла участие 10 космонавтов (возраст 44 ± 6 лет, вес 84 ± 6 кг, продолжительность космических полетов 173 ± 33 суток).

Критериями включения участников в эксперимент были: мужской пол, длительный космический полет (около 6 месяцев). Критерии исключения: неполное или несвоевременное выполнение сессий эксперимента, а также значительные различия в применении тренировочных схем в ходе космического полета.

Профилактика негативных влияний невесомости во время космического полета

Основной метод профилактики негативных влияний невесомости — физические тренировки. Их общая продолжительность во время космического полета составляла 2,5 часа в сутки, включая подготовительные операции и гигиенические процедуры. В соответствии с бортовой документацией, космонавты каждый день выполняли две физические тренировки. Локомоторные тренировки на беговой дорожке БД-2 (ИМБП; Россия) осуществляли ежедневно, а тренировки на велоэргометре ВБ-3М (ИМБП; Россия) и силовом тренажере ARED (NASA; США) чередовали через день.

Тренировки на дорожке — ключевой элемент профилактики гипогравитационных нарушений российских космонавтов. Протоколы бортовой документации для тренировок на дорожке в соответствии с четырехдневным микроциклом были определены на основе результатов модельных наземных экспериментов [22]. После введения в эксплуатацию дорожки БД-2 протоколы были несколько модифицированы с сохранением принципа чередования интервалов высокоинтенсивного бега с интервалами ходьбы. Строго говоря, в соответствии с существующей классификацией методов тренировок, все упражнения по протоколам осуществляются переменным методом, различаясь максимальной скоростью бега и вкладом силового компонента, обусловленного долей пассивного режима движения полотна дорожки. Дорожка БД-2 обеспечивает перемещение полотна в активном режиме, то есть с помощью мотора, и в пассивном режиме, когда движение полотна дорожки осуществляется посредством силы ног космонавта.

По всем тренировочным протоколам на дорожке космонавты вначале выполняли разминку в виде бега в течение 4 мин со скоростью 7 км/ч, далее — нагрузочную часть в пассивном режиме работы полотна дорожки, включающую чередование ходьбы в пассивном режиме движения полотна с двумя интервалами двухминутного бега со скоростью 6–8 км/ч.

В завершение всех тренировочных протоколов выполняли ходьбу в течение 2 мин со скоростью 5 км/ч, далее — бег в течение 2 мин со скоростью 8 км/ч в активном режиме работы полотна дорожки и затем — ходьбу в пассивном режиме продолжительностью 1 мин.

Основная часть тренировочного протокола на дорожке изменялась в различные дни микроцикла.

Первый день — четыре интервала быстрого бега со скоростью 14 км/ч и продолжительностью по 1 мин чередовали с интервалами ходьбы в течение 2 мин.

Второй день — два интервала бега в пассивном режиме со скоростью 8 км/ч и один интервал в активном режиме со скоростью 12 км/ч и продолжительностью 2 мин чередовали с интервалами ходьбы продолжительностью 2 мин.

Третий день — интервалы бега продолжительностью 4 мин со скоростью до 13 км/ч чередовали с интервалами ходьбы продолжительностью 2 мин.

Четвертый день свободный, возможны выполнение индивидуального протокола локомоторной тренировки или отдыха.

Большинство лиц, принявших участие в эксперименте, выполняли профилактические мероприятия согласно вышеизложенной схеме, при этом четыре космонавта в четвертый день микроцикла не выбирали отдых, а начинали микроцикл заново, два — выполняли индивидуальный протокол с интервальной нагрузкой и еще два — предпочитали отдых. Два космонавта, совершавшие четвертый по счету космический полет, использовали индивидуальную программу локомоторных тренировок по семидневному микроциклу, где последний день приходился на воскресенье и предполагал отдых.

Параметры каждой тренировки в длительном полете анализировали на основе еженедельного получения эргометрической и физиологической информации с выдачей рекомендации по продолжению тренировок на дорожке. Ответ сердечно-сосудистой системы на локомоторную нагрузку учитывали на основе регистрации частоты сердечных сокращений (ЧСС) во время тренировки. По завершении полета вычисляли средние значения каждого вида локомоций за месяц миссии и весь полет. Основные параметры тренировок на дорожке — величина осевой нагрузки, соотношение пассивного и активного режима работы полотна бегущей дорожки, а также дистанция ежедневных локомоторных нагрузок — имели невысокую вариативность в обследованной группе космонавтов. Рекомендованная величина осевой нагрузки составляла не менее 70% от веса тела, и в основном космонавты учитывали ее. Рекомендованная доля пассивного режима движения полотна дорожки за тренировку различалась по дням микроцикла, составляя в среднем 30% за три дня. В обследованной выборке доля пассивного режима составила от 23 до 41% от общего локомоторного объема за день, но у одного космонавта, выполнявшего индивидуальную программу, этот параметр составил только 8,2%. Величина дистанции, пройденной за тренировку, также различалась по дням микроцикла и составляла в различные дни от 3000 до 6000 м.

Тренировки на силовом тренажере все космонавты выполняли по индивидуальным протоколам. Первоначально протокол нагрузки составляли в соответствии с весом тела космонавта до полета, в ходе полета нагрузка изменялась для обеспечения волнообразности тренировочного процесса. Еженедельно специалисты по профилактике гипогравитационных нарушений получали информацию об упражнениях на силовом тренажере и корректировали тренировочный процесс.

Тренировки на велоэргометре, согласно отчетам экипажа, выполняли в соответствии с бортовой документацией, то есть их строили переменным методом с чередованием интервалов педалирования с различной интенсивностью. Получение объективной информации об интенсивности нагрузки и реакции сердечно-сосудистой системы на выполнение физической тренировки на велоэргометре в настоящее время не обеспечивается.

Экспериментальные группы

Космонавты были разделены на две группы на основе различий в доле бега с высокой скоростью при выполнении тренировок на бегущей дорожке. До полета различий между группами А и Б по физиологическим параметрам при выполнении локомоторного теста не зарегистрировано.

В группе А ($n = 4$) средняя дистанция быстрого бега в активном режиме движения полотна во время локомоторных тренировок на бегущей дорожке составила в среднем за полет 949 м в день, в группе Б ($n = 6$) — 2669 м в день.

Тестовые процедуры

Оценку уровня физической работоспособности проводили на основе ТИС за 30 суток до космического полета, 3–4 раза в ходе полета (на 42–68, 83–113, 115–131 и 140–156 сутки полета) и на 10 ± 2 -е сутки после его завершения [23]. Тест «Индивидуальные стратегии» (ТИС) выполняли по стандартному протоколу на бегущей дорожке БД-2 в активном режиме перемещения полотна дорожки и состоял из разминки с чередованием интервалов ходьбы со скоростью 3 км/ч и 6 км/ч в псевдорандомизированной последовательности и ступенчато-возрастающей нагрузки от 3 до 15 км/ч, в которой приращение скорости составляло 1 км/ч каждые 30 с.

Во время выполнения теста осуществляли регистрацию ЧСС с использованием приборов Polar (Polar; Финляндия) и «Кардиокассета-2010» (ИМБП; Россия). Эргоспирометрию проводили в наземных условиях комплексом Oxycon Mobile (Jaeger; Германия) методом «breath-by-breath». Измерение содержания лактата в капиллярной крови осуществляли с использованием комплекта «Лактат-2» (ИМБП; Россия) в условиях покоя до выполнения теста, далее — на первой и пятой минутах восстановления после теста.

Функциональные резервы сердечно-сосудистой системы оценивали на основе определения пульсовой суммы работы (площадь под кривой ЧСС за весь ТИС) и пульсовой суммы восстановления (площадь под кривой ЧСС за 5 мин восстановления после теста). ЧСС фиксировали каждые 10 с теста, затем путем суммирования всех значений за время работы рассчитывали «пульсовую сумму работы» и за время восстановления (5 мин) — «пульсовую сумму восстановления».

Показатель «пульсовой долг» рассчитывали, как разность количества сердечных сокращений в периоде восстановления и количества сердечных сокращений в состоянии относительного покоя [24]. Этот показатель отражает физиологические и метаболические перестройки после выполнения физической нагрузки. Определяли также такой показатель, как Δ ЧСС, который отражает разность между максимальной ЧСС и ЧСС в покое.

Статистическая обработка данных была произведена при помощи программы Minitab 19.1 (США) и включала проверку нормальности распределений в выборках по критерию Шапиро–Уилка, расчет индивидуальных средних значений и дисперсии показателей (one-way ANOVA). Статистически значимыми результаты считали при $p < 0,05$ по критерию Фишера или тесту Тьюки. Для обсуждения представлены только значимые различия.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

До космического полета различия между группами по всем изученным показателям отсутствовали. Значительные различия ЧСС на каждой ступени нагрузки после полета по сравнению с предполетными данными обнаружены в группе А, ЧСС увеличилась на ступенях от 5 до 8 км/ч. В группе Б значимых изменений по этому показателю до и после полета зарегистрировано не было (рис. 1). Различия между группами А и Б по показателю ЧСС после космического полета (КП) во время ТИС не обнаружены.

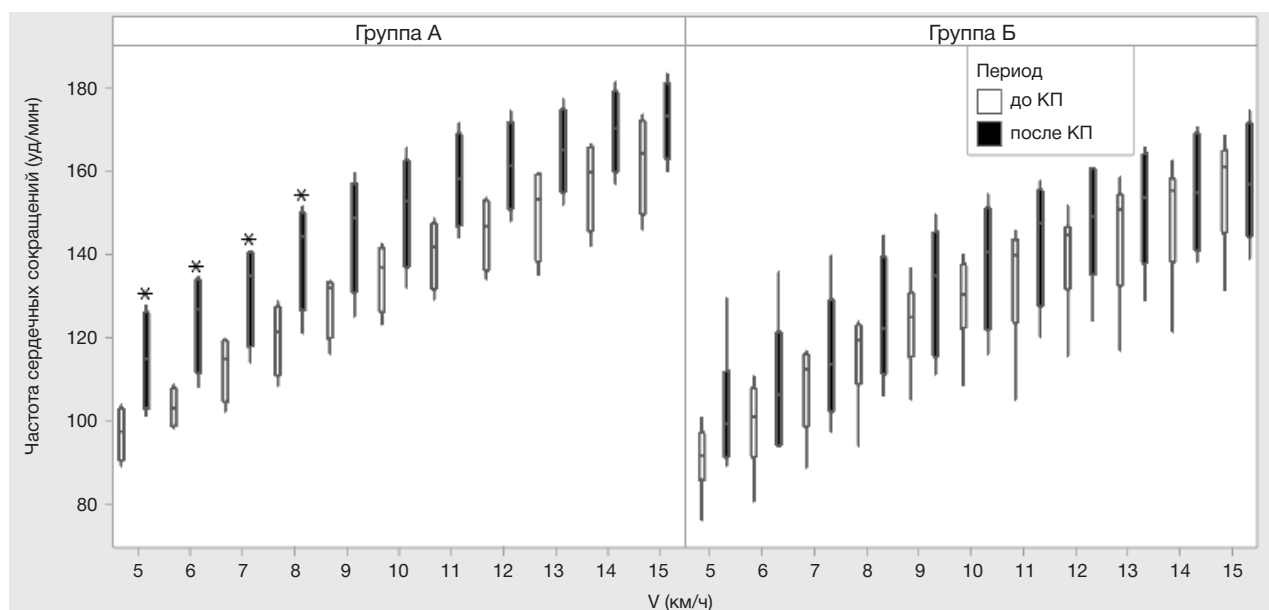


Рис. 1. Частота сердечных сокращений в ТИС до и после космического полета. * — по сравнению с предполетным уровнем в группе значение $p < 0,05$

Значительное повышение легочной вентиляции на каждой ступени нагрузки от 8 до 15 км/ч по сравнению с предполетными значениями наблюдали в группе А (рис. 2). В группе Б легочная вентиляция оказалась выше по сравнению с предполетными значениями только на ступенях нагрузки 9 и 10 км/ч. Различий между группами при сравнении легочной вентиляции на каждой ступени нагрузки после КП не обнаружено.

В группе А после космического полета наблюдали повышение концентрации лактата в капиллярной крови на первой минуте восстановления ($5,3 \pm 1,6$ до полета и $8,5 \pm 3,4$ ммоль/л после полета ($p = 0,03$)), а в группе Б значимых различий с предполетным значением этого показателя не обнаружено (с $5,3 \pm 2,7$ до полета и $6,7 \pm 3,4$ ммоль/л после полета). Мы полагаем, что повышение уровня лактата в капиллярной крови свидетельствует о несовершенстве процессов, обеспечивающих утилизацию этого метаболита при выполнении физической нагрузки в группе А, и, соответственно, о снижении уровня физической работоспособности после КП (рис. 3).

На завершающем этапе полета (140–156 сутки) обнаружены различия между группами по пульсовой сумме работы. В группе А она (17897 ± 529) оказалась на 19,4% выше, чем в группе Б (14678 ± 3148) ($p = 0,009$).

После полета пульсовая сумма работы в группе А оказалась выше по сравнению с фоновым значением до выполнения космической миссии — 16475 ± 1257 и 19143 ± 1972 соответственно ($p = 0,02$), в то время как в группе Б значимых различий не обнаружено — до полета — 14983 ± 1572 , после полета — 16148 ± 2651 (рис. 4).

Пульсовая сумма восстановления на заключительном этапе полета в группе А оказалась выше, чем в группе Б (2838 ± 188 и 2181 ± 490 , $p = 0,009$) (рис. 5).

После полета пульсовая сумма восстановления в группе А составила 3027 ± 405 , что выше, чем показатель в этой группе до полета 2575 ± 326 ($p = 0,03$), и выше, чем в группе Б после полета 2599 ± 350 ($p = 0,02$).

Анализ пульсового долга, потребления кислорода, выделения углекислого газа и максимальной частоты дыхания до и после космического полета не выявил значимых различий между группами и внутри групп.

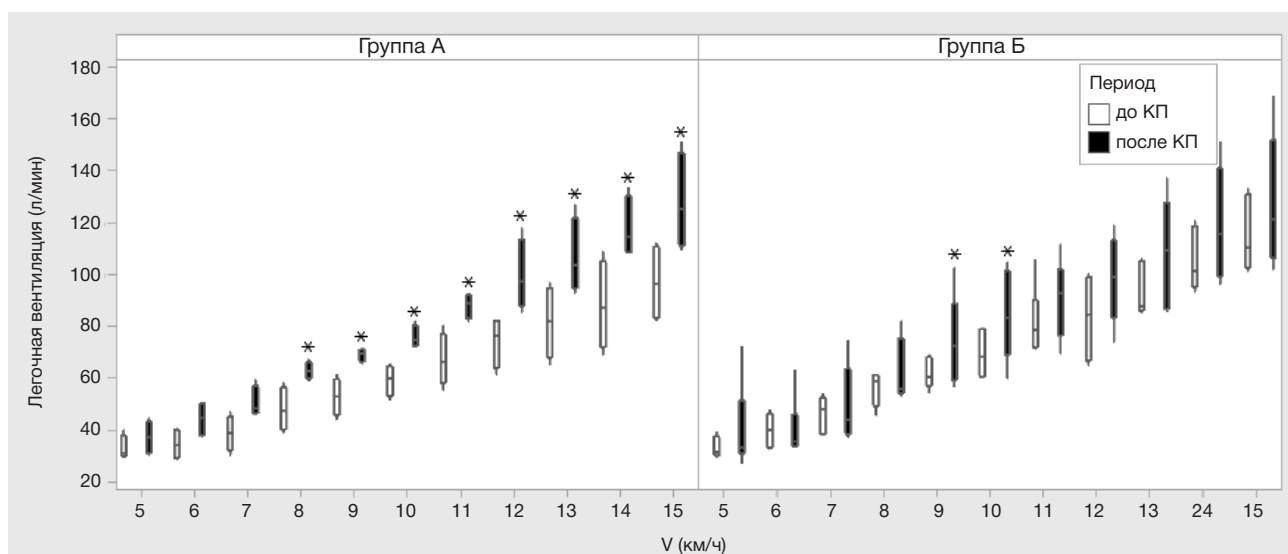


Рис. 2. Легочная вентиляция до и после космического полета в ТИС. * — по сравнению с предполетным уровнем в группе значение $p < 0,05$

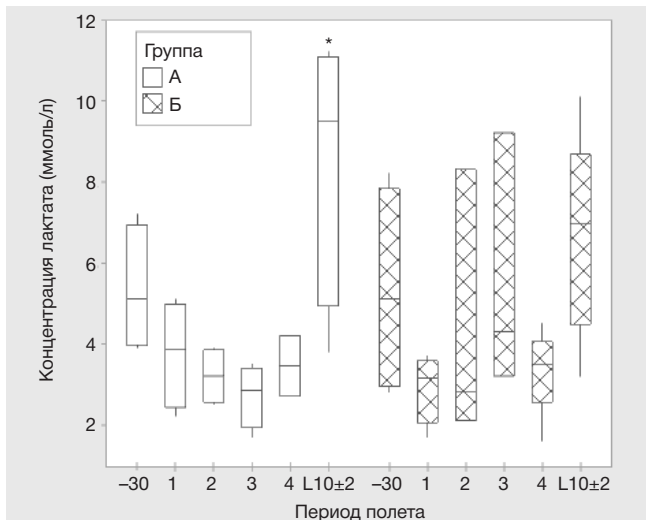


Рис. 3. Концентрация лактата капиллярной крови на первой минуте восстановления после ТИС. * — по сравнению с предполетным уровнем в группе значение $p < 0,05$; 1 — 42–68 сутки, 2 — 83–113 сутки, 3 — 115–131 сутки и 4 — 140–156 сутки полета

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Согласно нашей гипотезе, эффективность профилактики негативных влияний невесомости обеспечивается степенью воспроизведения эффектов пребывания в условиях действия силы тяжести. Если в результате реализации профилактических мероприятий интенсивность сенсорного притока от рецепторов внешней и внутренней среды сопоставима с таковой в условиях Земли, то обеспечивается запуск механизмов функционирования гравитационно-зависимых систем на уровне, близком к условиям действия силы тяжести. Наиболее аккуратно воспроизведения эффектов действия силы тяжести можно достигнуть при выполнении бега на дорожке с использованием специального тренировочно-нагрузочного костюма, имитирующего весовое нагружение по вертикальной оси в диапазоне 60–70% от веса тела на Земле. Когда человек стоит или выполняет локомоции на бегущей дорожке, производится работа, однако ее интенсивность в условиях космического полета значительно ниже, чем в условиях Земли. В первую очередь, это обусловлено величиной нагружения, не превышающей обычно 70% от веса тела человека на Земле. Ранее нами было показано, что величина опорных реакций, согласующаяся с массой тела в условиях гравитации 1G, соответствует бегу со скоростью 7 км/ч в условиях космического полета [21]. Таким образом, для запуска физиологических механизмов вегетативного обеспечения мышечной деятельности, близких к условиям Земли, требуется выполнение бега с высокой скоростью. Очевидно, что чем больше физическая нагрузка, тем выше и физиологическая нагрузка. Если тело человека не только удерживается в вертикальном положении, противодействуя силам, имитирующим силу тяжести с помощью тренировочно-нагрузочного костюма, но и перемещается в пространстве, то физиологическая нагрузка возрастает и профилактический эффект повышается. Исходя из вышесказанного, было высказано предположение о том, что доля быстрого бега будет играть роль в сохранении физической работоспособности человека после длительного пребывания в условиях невесомости.

Ранее нами была показана более высокая профилактическая эффективность локомоторных

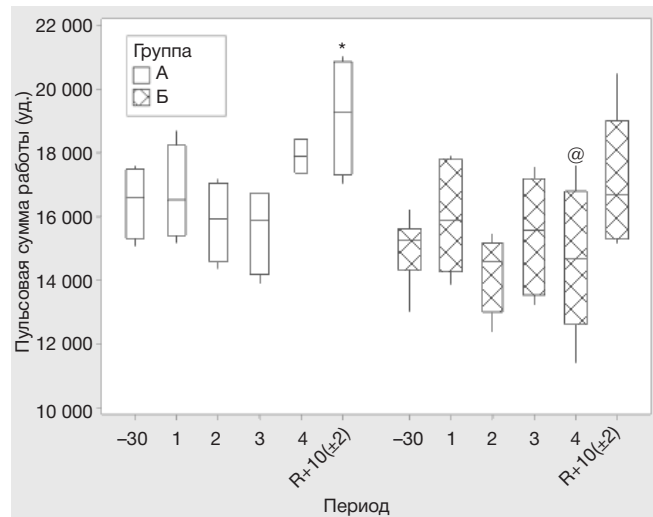


Рис. 4. Пульсовая сумма работы в ТИС. * — $p < 0,05$ в сравнении с фоновым значением группы; @ — $p < 0,05$ в сравнении со значением того же периода полета в группе А; 1 — 42–68 сутки, 2 — 83–113 сутки, 3 — 115–131 сутки и 4 — 140–156 сутки полета

тренировок переменным методом в сравнении с равномерным бегом [25], где интервалы бега с высокой скоростью чередовались с интервалами ходьбы, что согласуется с результатами, полученными позднее с участием астронавтов [26], и настоящим исследованием, где после космического полета в группе с низким объемом быстрого бега в полете уровень лактата капиллярной крови на первой минуте восстановления после локомоторной нагрузки оказался повышен. Увеличение уровня лактата крови указывает на то, что испытуемый находится в неустойчивом метаболическом состоянии, сопровождающемся смещением кислотно-щелочного баланса внутренней среды организма, что может быть сопряжено с нарушением работы нервных центров, снижением активности ферментных систем, и, как следствие, угнетением работы мышц [27–29]. В группе с большим объемом быстрого бега концентрация лактата в капиллярной крови в восстановительном периоде после теста оказалась на предполетном уровне, что в соответствии с представлениями спортивной физиологии означает сохранение аэробных механизмов

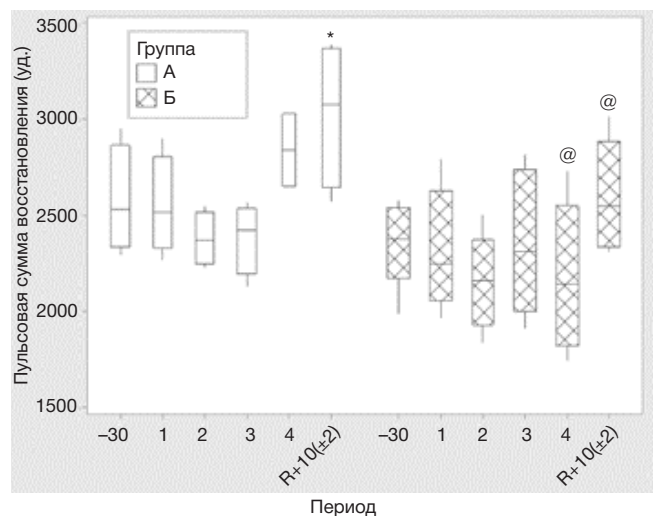


Рис. 5. Пульсовая сумма восстановления после ТИС. * — $p < 0,05$ в сравнении с фоновым значением группы; @ — $p < 0,05$ в сравнении со значением соответствующего периода полета в группе А; 1 — 42–68 сутки, 2 — 83–113 сутки, 3 — 115–131 сутки и 4 — 140–156 сутки полета

энергообеспечения мышечной деятельности и способности к утилизации лактата [30]. Тренировки с большей долей бега с высокой скоростью позволили запустить физиологические механизмы, сохраняющие емкость системы аэробного энергообеспечения мышечной деятельности и, как следствие, переход к анаэробным механизмам при выполнении ступенчато-возрастающей нагрузки осуществлялся на более поздних этапах теста. Соответственно, отсутствовало значительное накопление лактата, являющегося продуктом гликолитической системы обеспечения мышечной деятельности.

Результаты, свидетельствующие о повышении легочной вентиляции на ступенях нагрузки с 8 до 15 км/ч на 10 ± 2 сутки после космического полета по сравнению с предполетным тестом, согласуются с данными о повышенном уровне лактата капиллярной крови и указывают на перенапряжение кислородтранспортной системы в группе с низким объемом быстрого бега в полете. Повышение легочной вентиляции на 10-е сутки после длительного космического полета было описано и у астронавтов в тесте на велоэргометре [18, 31].

Результаты настоящего исследования уточняют представления о механизмах противодействия негативному влиянию невесомости. Эффективность тренировок переменным методом, описанная ранее [25], обеспечивается включением систем вегетативного обеспечения мышечной деятельности при быстром переходе от малоинтенсивной локомоторной нагрузки к высокоинтенсивной. В настоящей работе принимали во внимание только дистанцию, преодолеваемую со скоростью более 9 км/ч, без учета переходов от малоинтенсивной работы к высокоинтенсивной. Мы предполагаем, что бег с высокой скоростью при осевой нагрузке около 70% от веса тела оказывается эффективным методом профилактики негативных влияний невесомости, так как такая нагрузка сопоставима по энергозатратам и величине сенсорного притока с поддержанием тела в вертикальном положении или выполнением человеком медленной ходьбы в условиях Земли. Таким образом, бег со скоростью более 9 км/ч, по нашему предположению, обеспечивает запуск гравитационно-зависимых физиологических механизмов благодаря имитации эффектов действия силы тяжести в условиях Земли.

Сравнительный анализ эффективности мероприятий для профилактики негативных влияний невесомости в условиях космического полета имеет ряд очевидных ограничений. Возможен ретроспективный анализ эффективности тренажеров, применявшихся ранее, такие знания полезны с практической точки зрения, так как

некоторые средства сохраняются на МКС как резервные [32]. Более широкие возможности предоставляют наземные модельные эксперименты, в которых воспроизводятся некоторые эффекты космического полета. Одна из таких моделей — антиортостатическая гипокинезия (АНОГ) — постельный режим с наклоном головы вниз на 6°, в рамках подобных исследований возможно получение данных о профилактике негативных эффектов гипокинезии [33, 34]. В эксперименте с 90-дневной АНОГ показана наиболее высокая эффективность тренировок на вертикальной беговой дорожке с величиной осевой нагрузки около 80% от веса тела и с интенсивностью 80–90% от максимального потребления кислорода в сочетании с силовыми тренировками высокой интенсивности [34], что согласуется с результатами космического эксперимента, полученными нами.

В результате нашего исследования определены новые прогностические показатели в ТИС — это пульсовая сумма работы и пульсовая сумма восстановления, повышение которых в ходе космического полета сопровождалось более низким уровнем физической работоспособности после полета. Профилактика негативных влияний невесомости станет более эффективной в случае учета этих показателей при сопровождении тренировочного процесса. В интересах освоения дальнего космоса планируются исследования протекания процессов реадaptации к условиям Земли в более раннем послеполетном периоде в сопоставлении с особенностями применения методов профилактики в орбитальном полете.

ВЫВОДЫ

Предотвращение негативных влияний длительного пребывания в невесомости может быть более эффективным при увеличении объема бега со скоростью более 9 км/ч.

Стандартная ступенчато-возрастающая локомоторная нагрузка в активном режиме движения полотна с регистрацией параметров функционирования кардиореспираторной системы информативна для прогнозирования уровня работоспособности после длительного космического полета.

Предложены новые предикторы уровня работоспособности космонавта после длительного космического полета — пульсовая сумма работы и пульсовая сумма восстановления в стандартном локомоторном тесте со ступенчато-возрастающей нагрузкой.

Литература

1. Lee SM, Scheuring RA, Williams ME, Kerstman EL. Physical performance, countermeasures, and postflight reconditioning. *Principles of clinical medicine for spaceflight*. 2019; 609–58.
2. Stepanek J, Blue RS, Parazynski S. Space medicine in the era of civilian spaceflight. *New England Journal of Medicine*. 2019; 380 (11): 1053–60.
3. Baker ES, Barratt MR, Sams CF, Wear ML. Human response to space flight. *Principles of clinical medicine for spaceflight*. 2019; 367–411.
4. Grimm D. Microgravity and space medicine. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021; 22 (13): 6697.
5. Navasiolava N, Yuan M, Murphy R, Robin A, Coupé M, Wang L, et al. Vascular and microvascular dysfunction induced by microgravity and its analogs in humans: mechanisms and countermeasures. *Frontiers in physiology*. 2020; 11: 952.
6. Gallo C, Ridolfi L, Scarsoglio S. Cardiovascular deconditioning during long-term spaceflight through multiscale modeling. *npj Microgravity*. 2020; 6 (1): 27.
7. Pramanik J, Kumar A, Panchal L, Prajapati B. Countermeasures for Maintaining Cardiovascular Health in Space Missions. *Current Cardiology Reviews*. 2023; 19 (5): 57–67.
8. Vernice NA, Meydan C, Afshinnekoo E, Mason CE. Long-term spaceflight and the cardiovascular system. *Precision Clinical Medicine*. 2020; 3 (4): 284–91.
9. Jirak P, Mirna M, Rezar R, Motloch LJ, Lichtenauer M, Jordan J, et al. How spaceflight challenges human cardiovascular health.

- European journal of preventive cardiology. 2022; 29 (10): 1399–411.
10. Sayed AH, Hargens AR. Cardiovascular physiology and fluid shifts in space. Spaceflight and the central nervous system: clinical and scientific aspects. Cham: Springer International Publishing. 2023; 9–21.
 11. Prisk GK. Pulmonary challenges of prolonged journeys to space: taking your lungs to the moon. Medical Journal of Australia. 2019; 211 (6): 271–6.
 12. Genah S, Monici M, Morbidelli L. The effect of space travel on bone metabolism: Considerations on today's major challenges and advances in pharmacology. International Journal of Molecular Sciences. 2021; 22 (9): 4585.
 13. Juhl IV OJ, Buettmann EG, Friedman MA, DeNapoli RC, Hoppock GA, Donahue HJ. Update on the effects of microgravity on the musculoskeletal system. npj Microgravity. 2021; 7 (1): 28.
 14. Shinkman BS, Kozlovskaya IB. Cellular responses of human postural muscle to dry immersion. Frontiers in Physiology. 2019; 10: 187.
 15. Comfort P, McMahon JJ, Jones PA, Cuthbert M, Kendall K, Lake JP, et al. Effects of spaceflight on musculoskeletal health: a systematic review and meta-analysis, considerations for interplanetary travel. Sports Medicine. 2021; 51: 2097–114.
 16. Macaulay TR, Peters BT, Wood SJ, Clement GR, Oddsson L, Bloomberg JJ. Developing proprioceptive countermeasures to mitigate postural and locomotor control deficits after long-duration spaceflight. Frontiers in Systems Neuroscience. 2021; 15: 658985.
 17. Tays GD, Hupfeld KE, McGregor HR, Salazar AP, De Dios YE, Beltran NE, et al. The effects of long duration spaceflight on sensorimotor control and cognition. Frontiers in neural circuits. 2021; 15: 723504.
 18. Scott JM, Feiveson AH, English KL, Spector ER, Sibonga JD, Dillon EL, et al. Effects of exercise countermeasures on multisystem function in long duration spaceflight astronauts. npj Microgravity. 2023; 9 (1): 11.
 19. Petersen N, Jaekel P, Rosenberger A, Weber T, Scott J, Castrucci F, et al. Exercise in space: the European Space Agency approach to in-flight exercise countermeasures for long-duration missions on ISS. Extreme physiology & medicine. 2016; 5 (1): 1–13.
 20. Rivas E, Strock N, Dillon EL, Frisco D. Risk of impaired performance due to reduced muscle mass, strength & endurance (short title: muscle) and risk of reduced physical performance capabilities due to reduced aerobic capacity (short title: aerobic). Evidence Report. 2023; 96–106.
 21. Фомина Е. В., Лысова Н. Ю., Савинкина А. О. Осевая нагрузка при выполнении локомоторных тренировок в условиях невесомости как фактор эффективности профилактики гипогравитационных нарушений. Физиология человека. 2018; 44 (1): 56–63.
 22. Степанцов В. И., Тихонов М. А., Еремин А. В. Физическая тренировка как метод предупреждения гиподинамического синдрома. Космич. биол. и авиакосм. мед. 1972; 6: 64–9.
 23. Koschate J, Hoffmann U, Lysova N, Thieschäfer L, Drescher U, Fomina E. Acquisition of cardiovascular kinetics via treadmill exercise—a tool to monitor physical fitness during space missions. Acta Astronautica. 2021; 186: 280–8.
 24. Волков Н. И., Попов О. И., Самборский А. Г. Пульсовые критерии энергетической стоимости упражнения. Физиология человека. 2003; 29 (3): 98–103.
 25. Popov D, Khusnutdinova D, Shinkman B, Vinogradova O, Kozlovskaya I. Dynamics of physical performance during long-duration space flight (first results of "Countermeasure" experiment). Journal of gravitational physiology: a journal of the International Society for Gravitational Physiology. 2004; 11 (2): 231–2.
 26. English KL, Downs M, Goetchius E, Buxton R, Ryder JW, Ploutz-Snyder R, et al. High intensity training during spaceflight: results from the NASA Sprint Study. npj Microgravity. 2020; 6 (1): 21.
 27. Brooks GA. The science and translation of lactate shuttle theory. Cell metabolism. 2018; 27 (4): 757–85.
 28. Poole DC, Rossiter HB, Brooks GA, Gladden LB. The anaerobic threshold: 50+ years of controversy. The Journal of physiology. 2021; 599 (3): 737–67.
 29. Гунина Л. М., Рыбина И. Л., Санауов Ж. Контроль и управление тренировочным процессом с помощью комплекса лабораторных маркеров. Science in Olympic Sports. 2020; 2: 33–43.
 30. Szanto S, Mody T, Gyurcsik Z, Babjak LB, Somogyi V, Barath B, et al. Alterations of selected hemorheological and metabolic parameters induced by physical activity in untrained men and sportsmen. Metabolites. 2021; 11 (12): 870.
 31. Moore Jr AD, Downs ME, Lee SM, Feiveson AH, Knudsen P, Ploutz-Snyder L. Peak exercise oxygen uptake during and following long-duration spaceflight. Journal of applied physiology. 2014; 117 (3): 231–8.
 32. Scott JP, Weber T, Green DA. Introduction to the Frontiers research topic: optimization of exercise countermeasures for human space flight—lessons from terrestrial physiology and operational considerations. Frontiers in physiology. 2019; 10: 173.
 33. Hedge ET, Patterson CA, Mastrandrea CJ, Sonjak V, Hajj-Boutros G, Faust A, et al. Implementation of exercise countermeasures during spaceflight and microgravity analogue studies: developing countermeasure protocols for bedrest in older adults (BROA). Frontiers in Physiology. 2022; 13: 928313.
 34. Wang L, Li Z, Liu S, Zhang J, Dai X, Dai Z, et al. The Astronaut Center of China 90-d head-down bed rest: overview, countermeasures, and effects. Space: Science & Technology. 2023; 3: 0023.

References

1. Lee SM, Scheuring RA, Williams ME, Kerstman EL. Physical performance, countermeasures, and postflight reconditioning. Principles of clinical medicine for spaceflight. 2019; 609–58.
2. Stepanek J, Blue RS, Parzynski S. Space medicine in the era of civilian spaceflight. New England Journal of Medicine. 2019; 380 (11): 1053–60.
3. Baker ES, Barratt MR, Sams CF, Wear ML. Human response to space flight. Principles of clinical medicine for spaceflight. 2019; 367–411.
4. Grimm D. Microgravity and space medicine. International Journal of Molecular Sciences. 2021; 22 (13): 6697.
5. Navasiolava N, Yuan M, Murphy R, Robin A, Coupé M, Wang L, et al. Vascular and microvascular dysfunction induced by microgravity and its analogs in humans: mechanisms and countermeasures. Frontiers in physiology. 2020; 11: 952.
6. Gallo C, Ridolfi L, Scarsoglio S. Cardiovascular deconditioning during long-term spaceflight through multiscale modeling. npj Microgravity. 2020; 6 (1): 27.
7. Pramanik J, Kumar A, Panchal L, Prajapati B. Countermeasures for Maintaining Cardiovascular Health in Space Missions. Current Cardiology Reviews. 2023; 19 (5): 57–67.
8. Vernice NA, Meydan C, Afshinnekoo E, Mason CE. Long-term spaceflight and the cardiovascular system. Precision Clinical Medicine. 2020; 3 (4): 284–91.
9. Jirak P, Mirna M, Rezar R, Motloch LJ, Lichtenauer M, Jordan J, et al. How spaceflight challenges human cardiovascular health. European journal of preventive cardiology. 2022; 29 (10): 1399–411.
10. Sayed AH, Hargens AR. Cardiovascular physiology and fluid shifts in space. Spaceflight and the central nervous system: clinical and scientific aspects. Cham: Springer International Publishing. 2023; 9–21.
11. Prisk GK. Pulmonary challenges of prolonged journeys to space: taking your lungs to the moon. Medical Journal of Australia. 2019; 211 (6): 271–6.
12. Genah S, Monici M, Morbidelli L. The effect of space travel on bone metabolism: Considerations on today's major challenges and advances in pharmacology. International Journal of Molecular

- Sciences. 2021; 22 (9): 4585.
13. Juhl IV OJ, Buettmann EG, Friedman MA, DeNapoli RC, Hoppock GA, Donahue HJ. Update on the effects of microgravity on the musculoskeletal system. *npj Microgravity*. 2021; 7 (1): 28.
 14. Shenkman BS, Kozlovskaya IB. Cellular responses of human postural muscle to dry immersion. *Frontiers in Physiology*. 2019; 10: 187.
 15. Comfort P, McMahon JJ, Jones PA, Cuthbert M, Kendall K, Lake JP, et al. Effects of spaceflight on musculoskeletal health: a systematic review and meta-analysis, considerations for interplanetary travel. *Sports Medicine*. 2021; 51: 2097–114.
 16. Macaulay TR, Peters BT, Wood SJ, Clement GR, Oddsson L, Bloomberg JJ. Developing proprioceptive countermeasures to mitigate postural and locomotor control deficits after long-duration spaceflight. *Frontiers in Systems Neuroscience*. 2021; 15: 658985.
 17. Tays GD, Hupfeld KE, McGregor HR, Salazar AP, De Dios YE, Beltran NE, et al. The effects of long duration spaceflight on sensorimotor control and cognition. *Frontiers in neural circuits*. 2021; 15: 723504.
 18. Scott JM, Feiveson AH, English KL, Spector ER, Sibonga JD, Dillon EL, et al. Effects of exercise countermeasures on multisystem function in long duration spaceflight astronauts. *npj Microgravity*. 2023; 9 (1): 11.
 19. Petersen N, Jaekel P, Rosenberger A, Weber T, Scott J, Castrucci F, et al. Exercise in space: the European Space Agency approach to in-flight exercise countermeasures for long-duration missions on ISS. *Extreme physiology & medicine*. 2016; 5 (1): 1–13.
 20. Rivas E, Strock N, Dillon EL, Frisco D. Risk of impaired performance due to reduced muscle mass, strength &, endurance (short title: muscle) and risk of reduced physical performance capabilities due to reduced aerobic capacity (short title: aerobic). *Evidence Report*. 2023; 96–106.
 21. Fomina EV, Lysova NU, Savinkina AO. Axial load during the performance of locomotor training in microgravity as a factor of hypogravity countermeasure efficiency. *Human Physiology*. 2018; 44 (1): 56–63. Russian.
 22. Stepantsov VI, Tikhonov MA, Eremin AV. Fizicheskaya trenirovka kak metod preduprezhdeniya gipodinamicheskogo sindroma. *Kosmich. biol. i aviakosm. med*. 1972; 6: 64–9. Russian.
 23. Koschate J, Hoffmann U, Lysova N, Thieschäfer L, Drescher U, Fomina E. Acquisition of cardiovascular kinetics via treadmill exercise—a tool to monitor physical fitness during space missions. *Acta Astronautica*. 2021; 186: 280–8.
 24. Volkov NI, Popov OI, Samborskii AG. Pulse rate criteria for determining the energy cost of exercise. *Human Physiology*. 2003; 29 (3): 98–103. Russian.
 25. Popov D, Khusnutdinova D, Shenkman B, Vinogradova O, Kozlovskaya I. Dynamics of physical performance during long-duration space flight (first results of "Countermeasure" experiment). *Journal of gravitational physiology: a journal of the International Society for Gravitational Physiology*. 2004; 11 (2): 231–2.
 26. English KL, Downs M, Goetchius E, Buxton R, Ryder JW, Ploutz-Snyder R, et al. High intensity training during spaceflight: results from the NASA Sprint Study. *npj Microgravity*. 2020; 6 (1): 21.
 27. Brooks GA. The science and translation of lactate shuttle theory. *Cell metabolism*. 2018; 27 (4): 757–85.
 28. Poole DC, Rossiter HB, Brooks GA, Gladden LB. The anaerobic threshold: 50+ years of controversy. *The Journal of physiology*. 2021; 599 (3): 737–67.
 29. Gunina LM, Rybina IL, Sanauov Zh. Training process control and management using laboratory marker complex. *Science in Olympic Sports*. 2020; 2: 33–43. Russian.
 30. Szanto S, Mody T, Gyurcsik Z, Babjak LB, Somogyi V, Barath B, et al. Alterations of selected hemorheological and metabolic parameters induced by physical activity in untrained men and sportsmen. *Metabolites*. 2021; 11 (12): 870.
 31. Moore Jr AD, Downs ME, Lee SM, Feiveson AH, Knudsen P, Ploutz-Snyder L. Peak exercise oxygen uptake during and following long-duration spaceflight. *Journal of applied physiology*. 2014; 117 (3): 231–8.
 32. Scott JP, Weber T, Green DA. Introduction to the Frontiers research topic: optimization of exercise countermeasures for human space flight—lessons from terrestrial physiology and operational considerations. *Frontiers in physiology*. 2019; 10: 173.
 33. Hedge ET, Patterson CA, Mastrandrea CJ, Sonjak V, Hajj-Boutros G, Faust A, et al. Implementation of exercise countermeasures during spaceflight and microgravity analogue studies: developing countermeasure protocols for bedrest in older adults (BROA). *Frontiers in Physiology*. 2022; 13: 928313.
 34. Wang L, Li Z, Liu S, Zhang J, Dai X, Dai Z, et al. The Astronaut Center of China 90-d head-down bed rest: overview, countermeasures, and effects. *Space: Science & Technology*. 2023; 3: 0023.

ОСОБЕННОСТИ РЕАКЦИИ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ ОРГАНИЗМА ЧЕЛОВЕКА НА ПОГРУЖЕНИЕ В ХОЛОДНУЮ ВОДУ

Т. И. Баранова¹, Т. В. Рыбьякова², М. О. Дмитриева¹, Д. А. Анисимов¹, М. С. Тарасова³, М. Г. Оганнисян³✉¹ Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия² Национальный государственный университет физической культуры, спорта и здоровья имени П. Ф. Лесгафта, Санкт-Петербург, Россия³ Федеральный научно-клинический центр спортивной медицины и реабилитации Федерального медико-биологического агентства, Москва, Россия

Зимнее плавание отличается экстремальной холодовой нагрузкой, которая может вызывать нарушение дыхания, аритмии, повышение АД (артериального давления) даже у почти здоровых людей. Спортсменам зимнего плавания необходимы дополнительные критерии допуска к тренировкам, оценивающие реакцию сердечно-сосудистой системы (ССС) на холодную воду. Целью исследования было определить риск патологических отклонений у обследованных с различной реактивностью ССС на погружение в холодную воду. Реактивность ССС оценивали посредством пробы холодо-гипоксического воздействия (ХГВ) по разработанному ранее алгоритму. Проанализированы реакция ССС на пробу ХГВ и данные после заплывов в холодной воде. В лаборатории обследованы практически здоровые 255 женщины и 205 мужчин 18–25 лет. ЭКГ регистрировали на кардиоанализаторе «Поли-Спектр-8/Е». Для статистического анализа использовали пакет GraphPad Prism 8 для Windows 10. Установлено: при ХГВ у высокорезактивных и реактивных обследованных удлиняется PQ-интервал: в исходном состоянии (ИС) $158 \pm 7,2$, при ХГВ — $178 \pm 9,1$ ($p < 0,01$); у испытуемых парадоксального типа при ХГВ на фоне увеличения ЧСС наблюдали увеличение QTc — в ИС $405 \pm 7,1$, при ХГВ — $420 \pm 7,5$ ($p < 0,05$). При ХГВ относительно ИС в среднем АД повышалось — САД на $17,4 \pm 4,3$ мм рт. ст., ДАД на $12,9 \pm 3,1$ мм рт. ст. ($p < 0,05$). При заплывах в холодной воде у адаптированных к холоду пловцов в 50% случаев QTc превышал норму, например, в ИС QTc — 434 ± 24 , после заплыва — 492 ± 25 с. После заплыва на 200 м при $t = 1,5-2$ °C в среднем по группе АД повышалось по сравнению с ИС САД на $16,9 \pm 3,1$ мм рт. ст., ДАД на $12,3 \pm 2,3$ мм рт. ст. ($p < 0,05$). Проанализировав данные, пришли к выводу — на основе пробы ХГВ можно разработать специфические критерии допуска к занятиям холододовым плаванием.

Ключевые слова: зимнее плавание, дыхательная система, сердечно-сосудистая система, автономная регуляция, сердечные аритмии, внутрисердечное проведение, периферический вазоспазм, гипертензивный ответ

Финансирование: исследование проведено в рамках выполнения своих трудовых обязанностей по заданию СПбГУ.

Вклад авторов: Т. И. Баранова — разработка концепции статьи, написание текста, общее редактирование; Т. В. Рыбьякова — разработка концепции статьи, общее редактирование; М. О. Дмитриева — поиск и анализ источников, статистическая обработка данных; Д. А. Анисимов — поиск и анализ источников, составление таблиц, подготовка рисунков; М. С. Тарасова — поиск и анализ источников, написание текста; М. Г. Оганнисян — определение подходов к математическому моделированию и их оптимизация.

Соблюдение этических стандартов: исследование проведено в соответствии с Хельсинкской декларацией и одобрено этическим комитетом СПбГУ (протокол № 40 от 07 марта 2012 г.). Все испытуемые подписали добровольное информированное согласие на участие в исследовании.

✉ **Для корреспонденции:** Мкртыч Гагикович Оганнисян
ул. Б. Дорогомилловская, д. 5, г. Москва, 121059, Россия; ogannisyanmg@sportfmba.ru

Статья получена: 17.10.2023 **Статья принята к печати:** 30.11.2023 **Опубликована онлайн:** 26.12.2023

DOI: 10.47183/mes.2023.053

SPECIFICS OF REACTION OF HUMAN CARDIOVASCULAR SYSTEM TO IMMERSION IN COLD WATER

Baranova TI¹, Rybyakova TV², Dmitrieva MO¹, Anisimov DA¹, Tarasova MS³, Ogannisyan MG³✉¹ Saint Petersburg State University, St. Petersburg, Russia² Lesgaft National State University of Physical Education, Sport and Health, St. Petersburg, Russia³ Federal Research and Clinical Center for Sports Medicine and Rehabilitation of Federal Medical Biological Agency, Moscow, Russia

Winter swimming implies extreme cold stress, which can cause respiratory disorders, arrhythmias, and elevated blood pressure even in generally healthy people. Pre-training examinations for athletes practicing winter swimming should include additional criteria evaluating reaction of the cardiovascular system (CVS) to cold water. This study aimed to determine the risk of pathological abnormalities in the examined individuals exhibiting different CVS reactions to immersion in cold water. We assessed reactivity of CVS with the help of a cold-hypoxic test (CHT), following a previously developed algorithm. The subjects of the analysis were CVS reactions to CHT and physical data collected after swimming in cold water. The study involved 255 female and 205 male participants, all of them almost healthy, aged 18–25 years. They participated in testing in a laboratory setting. Poly-Spekt-8/E cardiograph was used to record ECGs, and GraphPad Prism 8 package for Windows 10 for statistical analysis. Findings: in highly reactive and reactive participants, CHT causes lengthening of the PQ interval, with its value in the initial state (IS) equal to 158 ± 7.2 , and with CHT — 178 ± 9.1 ($p < 0.01$); in subjects of the paradoxical type, CHT, against the background of higher pulse, triggered increase of QTc, which in the IS was 405 ± 7.1 , with CHT — 420 ± 7.5 ($p < 0.05$). As for blood pressure, on average, CHT made it grow, SBD by 17.4 ± 4.3 mmHg, DBP by 12.9 ± 3.1 mmHg ($p < 0.05$). Swimmers adapted to cold, when swimming in cold water, had QTc above normal in 50% of cases: e.g., if IS of QTc was 434 ± 24 s, after swimming it increased to 492 ± 25 s. After a 200 m swim at $t = 1.5-2$ °C, the average blood pressure in the group, compared to IS, increased, with SBD growing by 16.9 ± 3.1 mmHg, and DBP — by 12.3 ± 2.3 mmHg ($p < 0.05$). Having analyzed the data, we conclude that CHT can be the basis of additional criteria extending examinations for athletes seeking admittance to cold water swimming.

Keywords: winter swimming, respiratory system, cardiovascular system, autonomic regulation, cardiac arrhythmias, intracardiac conduction, peripheral vasospasm, hypertension

Funding: the study was conducted as part of discharging work duties at the St. Petersburg State University.

Author contribution: Baranova TI — article conceptualization, authoring, general editing; Rybyakova TV — article conceptualization, general editing; Dmitrieva MO — search for and analysis of sources, statistical data processing; Anisimov DA — search for and analysis of sources, compilation of tables, preparation of figures; Tarasova MS — search for and analysis of sources, article authoring; Ogannisyan MG — selection of approaches to mathematical modeling and their optimization.

Compliance with the ethical standards: the study was conducted in accordance with the Helsinki Declaration and approved by the Human Research Ethics Committee (Minutes #40 of March 07, 2012). All subjects were familiarized with the test protocol and signed an agreement to participate therein.

✉ **Correspondence should be addressed:** Mkrtych G. Ogannisyan
B. Dorogomilovskaya, 5, Moscow, 121059, Russia; ogannisyanmg@sportfmba.ru

Received: 17.10.2023 **Accepted:** 30.11.2023 **Published online:** 26.12.2023

DOI: 10.47183/mes.2023.053

В 2022 г. зимнее плавание было включено во Всероссийский реестр видов спорта. Этот вид спортивной деятельности характеризуется экстремальной холодовой нагрузкой на организм, поэтому существенно отличается от классического плавания и от плавания в открытой воде. Мощное холодовое воздействие на организм спортсмена предъявляет высокие требования к уровню его функциональных резервов, и, следовательно, определяет важность и необходимость их оценки и контроля.

При погружении в холодную воду без специальной экипировки у человека работают два механизма для поддержания постоянной температуры ядра тела: увеличение организмом теплопродукции и снижение теплоотдачи [1, 2]. При этом активируются рефлекторные механизмы защиты. Под контролем симпатико-адренергических влияний происходит спазм периферических сосудов, снижение кожного кровотока и кровотока поверхностных мышц, что ограничивает теплопотери организма, наблюдается выброс глюкозы из печени, мобилизуются жирные кислоты из жировых депо, активируется теплопродукция в бежевой жировой ткани [3–5]. Одновременно с этим погружением в воду лица реализуется также нырятельный рефлекс, обеспечивающий кислород-сберегающий эффект. При этом увеличиваются парасимпатические влияния от холодовых рецепторов (преимущественно кожи лица) по холинергическому тракту блуждающего нерва на синусовый узел сердца. Происходит замедление сердечного ритма, реализуется так называемый «diving reflex», обладающий сильным аритмогенным эффектом [6–8]. При усилении холинергических влияний на воздухоносные пути может происходить сужение бронхов, что влечет за собой риск нарушения вентиляции легких [9].

При этом следует отметить, что плавание в холодной и ледяной воде весьма распространено и не всегда сопровождается неблагоприятными реакциями сердечно-сосудистой системы [10]. Мы полагаем, что причиной негативных реакций организма, угрожающих жизни человека при погружении в холодную воду, может быть высокая реактивность эфферентного звена рефлекторных реакций. Эта чрезмерная реактивность может быть обусловлена несколькими факторами, например, у «новичков» — неадаптированностью организма к экстремальному холодовому воздействию. Вместе с тем это может быть вызвано особенностями вегетативной регуляции, сформировавшимися в постнатальном развитии, а также генетическими особенностями индивида [11–15].

Данная статья представляет собой анализ полученных нами ранее результатов исследований, посвященных влиянию холодной воды на проявление адаптивных рефлекторных реакций, и обнаружение на основе этого анализа лиц, попадающих в группу риска негативного ответа сердечно-сосудистой системы на холодовую водную иммерсию, угрожающего жизни и здоровью человека.

Цель работы состояла в определении характера адаптивных сердечно-сосудистых реакций и возможности патологических отклонений у обследованных, обладающих различной реактивностью вегетативной регуляции сердечно-сосудистой системы на холодо-гипоксическое воздействие (ХГВ) и водную холодовую иммерсию во время заплывов в открытой воде.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Обобщены два направления проведенных исследований — лабораторные и полевые. В первой серии представлены

материалы лабораторных исследований реализации нырятельного рефлекса при погружении лица в холодную воду — ХГВ. Дана оценка аритмогенности нырятельного рефлекса у людей, отличавшихся реактивностью сердечно-сосудистой системы на холодовой раздражитель.

Во второй серии представлены результаты полевых исследований эстафетных и соревновательных заплывов в воде разной температуры (+7–9 °С, +16–17 °С и +1,5–2,5 °С). Дана оценка реакции сердечно-сосудистой системы на заплывы в холодной воде: проанализирована проводимость миокарда, артериальное давление (АД) и частота сердечных сокращений (ЧСС).

Исследование проведено в период 2008–2023 гг. на базе Санкт-Петербургского университета, в научно-исследовательской лаборатории системных адаптаций. Обследованы практически здоровые люди — 205 мужчин, 255 женщин в возрасте 18–25 лет. Критерии включения: отсутствие выраженных отклонений в работе сердечно-сосудистой системы. Критерии исключения: наличие в анамнезе следующих патологических отклонений: синдром слабости синусового узла, гипертония II степени, мерцательная аритмия.

Опрос выявил среди обследуемых 15% курящих со стажем курения в среднем $4,3 \pm 1,7$ года. Всех обследуемых, как правило, просили за 2 ч до исследования не курить и не пить кофе. Исследование обычно проходило утром с 10 до 12 ч.

Лабораторная модель исследования

При проведении исследования испытуемые находились на кушетке, лежа на животе лицом вниз, в максимально расслабленном состоянии. Пробу, имитирующую ныряние, осуществляли, погружая лицо в воду. Температура воды составляла $+10 \pm 2,2$ °С, температура воздуха $+21 \pm 2,3$ °С. Как правило, погружение лица в воду совершали 3 раза на нефорсированном выдохе. Гипервентиляция перед погружением не допускалась. Период отдыха между погружениями составлял 2 мин. За это время пульс, как правило, восстанавливался до исходной величины. Задержка дыхания при первом погружении длилась до ощущения дискомфорта. Следующие за ней погружения проводили на волевом усилии до максимума.

Перед погружением, при погружении и после него (в процессе восстановления) для оценки реакций сердечно-сосудистой системы использовали методы электрокардиографии (ЭКГ), фотоплетизмографии (ФПГ) и непрерывной регистрации АД. Кровенаполнение периферических сосудов косвенно определяли по амплитуде систолической волны в фалангах пальцев кисти (АСВ, pm), о тоне сосудов судили по времени распространения систолической волны (ВГРВ, с). Для записи и анализа ФПГ использовали программно-диагностический комплекс — реограф-полианализатор РГПА-6/12 «РЕАН-ПОЛИ», модификация 03, версия «Элитная» («Медиком-МТД»; Россия). Непрерывное артериальное давление регистрировали прибором Finometer® MIDI (Finapres Medical Systems; Нидерланды). ЭКГ регистрировали посредством кардиоанализатора поли-спектр-8/Е («Нейрософт»; Москва).

Для описания характера хронотропной функции сердца во время выполнения пробы ХГВ использовали следующие показатели: латентное время развития рефлекторного брадикардии — I (с), время появления максимального кардиоинтервала во время пробы — tmax (с), скорость

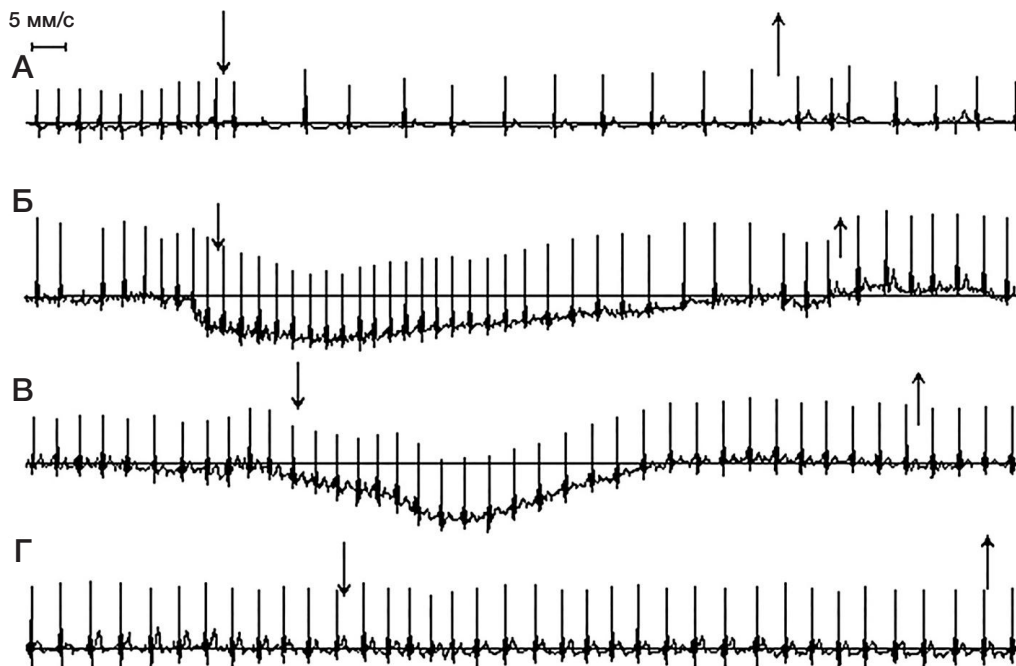


Рис. 1. Типы реагирования сердечно-сосудистой системы на погружение лица в воду (типы нырятельной реакции): высокореактивный (А), реактивный (Б), ареактивный (В), парадоксальный (Г). Стрелка вниз — погружение, стрелка вверх — прекращение погружения лица в воду

нарастания брадикардии – V, выраженность брадикардии — В. Б. Подробно методика определения типов описана в ранних исследованиях [16]. На основании этих показателей выделяли четыре типа реагирования: высокореактивный, реактивный, ареактивный и парадоксальный (рис. 1).

Для статистического анализа использовали пакет GraphPad Prism 8 для Windows 10. Значимость различий для несвязанных переменных и связанных между собой парных рядов оценивали с использованием непараметрических критериев Манна–Уитни и Краскела–Уоллиса. Для оценки значимости различий в выборках с нормальным распределением использовали *t*-критерий Стьюдента и one-way ANOVA. Статистически значимым считали уровень *P*-values < 0,05. В малых группах статистическую

значимость изменений определяли индивидуально для каждого человека «до — после» заплыва. Длительность записи ЭКГ при этом составляла 5 мин. После проверки на нормальность распределения применяли *t*-критерий Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Анализ реакции сердечно-сосудистой системы на пробу ХГВ выявил рефлекторное замедление сердечного ритма, сужение периферических сосудов (рис. 2, 3; табл.1) и повышение уровня АД (рис. 2; табл.1).

В первой серии лабораторных исследований (обследовано 460 человек) была изучена хронотропная

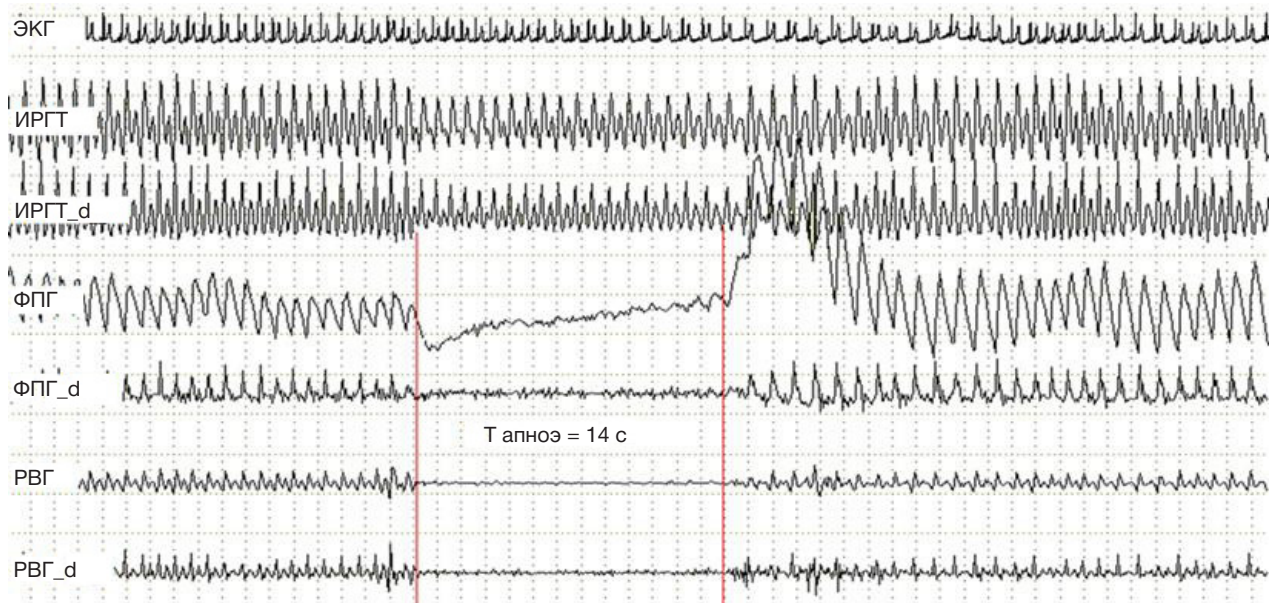


Рис. 2. Изменение характеристик сердечно-сосудистой системы во время пробы ХГВ. ЭКГ — электрокардиограмма, ИРГТ — интегральная реограмма по Тищенко, ИРГТd — дифференциальная кривая пульсовой волны ИРГТ, ФПГ — фотоплетизмограмма дистальной фаланги большого пальца кисти, ФПГd — дифференциальная кривая пульсовой волны ФПГ, РВПГ — реоплетизмограмма плеча, РВПГd — дифференциальная кривая пульсовой волны РВПГ. Вертикальные линии — начало и конец пробы с погружением лица в воду

Таблица 1. Изменение характеристик сердечно-сосудистой системы в состоянии покоя и при имитации ныряния у мужчин и женщин ($n = 80$)

Показатели	ЧСС, уд/мин	ДАД, мм рт. ст.	САД, мм рт. ст.	АСВ, pm	ВРПВ, мс
В состоянии покоя	64,8 ± 3,2	71,2 ± 5,8	113,8 ± 6,2	1,67 ± 0,91	217 ± 11,1
Проба ХГВ	55,5 ± 3,8*	84,1 ± 7,3*	130 ± 10,1*	0,35 ± 0,20**	199 ± 20,5*
Восстановление	63,5 ± 2,3	76,5 ± 5,1	121,1 ± 7,1	0,36 ± 0,19**	195,8 ± 15,3*

Примечания: САД — систолическое давление, ДАД — диастолическое давление, АСВ — амплитуда пульсовой волны фотоплетизмограммы, ВРПВ — время распространения пульсовой волны. * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$ — при сравнении показателей во время пробы ХГВ с состоянием исходного покоя.

реакция сердца на ХГВ. В соответствии с проявлением и скоростью нарастания рефлекторной брадикардии (один из рефлексов нырятельного ответа) при ХГВ обследованные были подразделены на четыре типа по разработанной нами ранее методике [16]. Выявили следующее соотношение: высокорезактивным типом характеризовались 40%, реактивным — 45%, ареактивным — 10% и парадоксальным — 5% участников эксперимента. Деление испытуемых на типы, обладающих различной реактивностью парасимпатического ответа сердечно-сосудистой системы на ХГВ, было необходимо для того, чтобы понять, влияет ли она на формирование сердечных аритмий, и, напротив, какие отклонения от нормы могут формироваться у обследованных с преобладанием симпатических влияний (парадоксальные). Сделать это было необходимо, для того чтобы оценить возможность риска патологических отклонений у людей, характеризующихся разной выраженностью рефлекторных парасимпатических и симпатических влияний на миокард при погружении в холодную воду.

Анализ проводимости миокарда при выполнении пробы ХГВ у представителей с различными типами реагирования

Анализ динамики показателей проводимости миокарда на пробу ХГВ выявил, что у представителей высокорезактивного и реактивного типов при рефлекторном усилении парасимпатических влияний не только происходит замедление ЧСС (статистически значимые увеличения PR-интервалов), но меняется также и скорость предсердно-желудочкового проведения — увеличиваются PQ-интервалы. Замедление внутри предсердного проведения при пробе ХГВ (удлинение PQ-интервала) наблюдали у большинства представителей этих групп, но, как правило, длительность PQ-интервала при этом находилась в пределах нормы. Вместе с тем у двух представителей высокорезактивного типа и трех — из группы реактивных длительность PQ-интервала превышала норму, что говорит о задержке проведения импульса и частичной атриоventрикулярной блокаде (табл. 2).

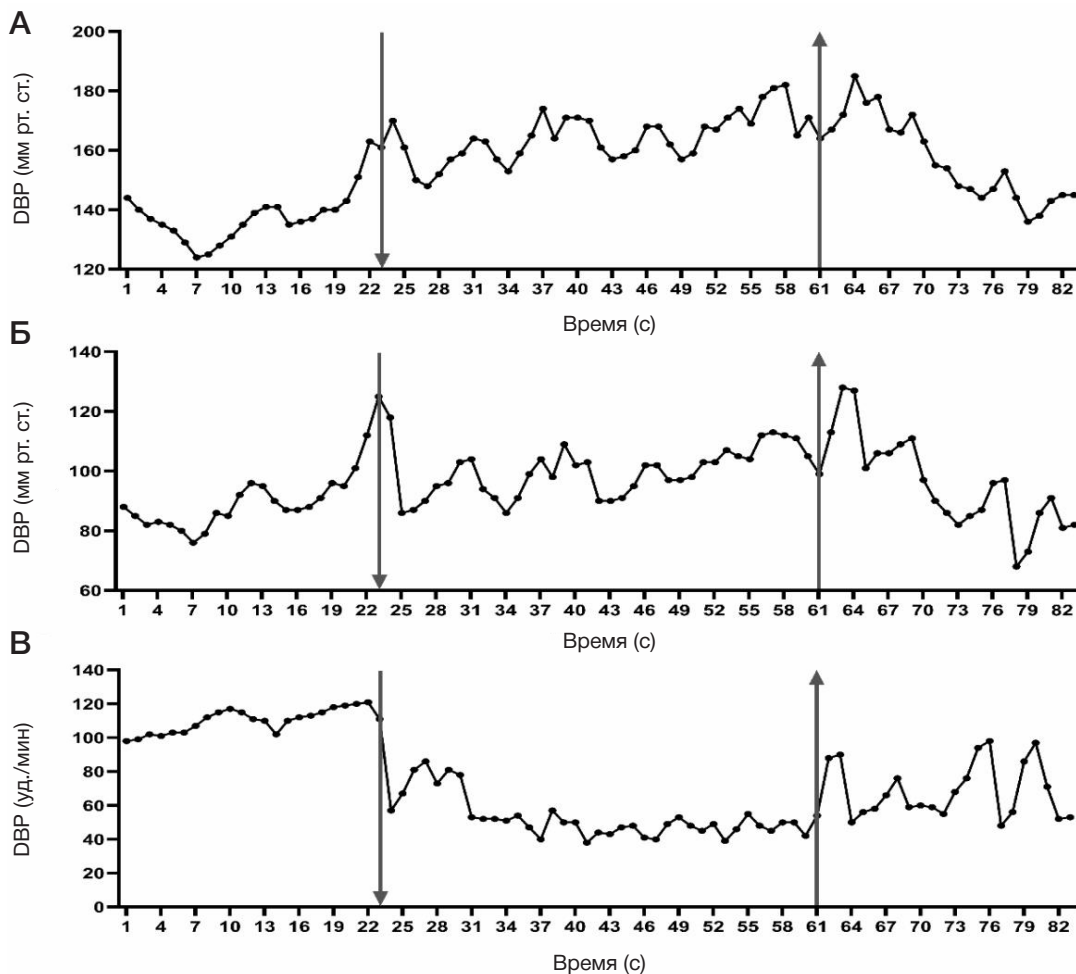


Рис. 3. Динамика артериального давления: систолического (SBP) (А), диастолического (DBP) (Б), сердечного ритма (HR) у исп. А. Д. (В). Стрелка вниз — начало пробы, стрелка вверх — окончание пробы ХГВ

Таблица 2. Временные показатели ЭКГ в состоянии покоя и во время пробы ХГВ у представителей различных типов реагирования

Показатели	Длительность интервалов кардиоцикла, мс						
	RR ср.	P	PQ	QRS	QT	QTc	TP
Высокореактивный тип (n = 18)							
В состоянии покоя	1052 ± 22,7	98 ± 6,2	158 ± 3,9	97 ± 10,4	383 ± 6,7	418 ± 7,3	512 ± 20,2
При ХГВ	1466 ± 25,4**	99 ± 8,0	167 ± 4,1*	106 ± 8,6	403 ± 7,9	376 ± 11,3	906 ± 19,9**
Реактивный тип (n = 23)							
В состоянии покоя	1145 ± 31,8	96 ± 3,0	158 ± 7,2	106 ± 8,0	404 ± 10,4	432 ± 14,8	584 ± 23,3
При ХГВ	1371 ± 30,9**	113 ± 8,3*	178 ± 9,1**	110 ± 9,1	411 ± 19,0	414 ± 15,0	796 ± 25,8**
Ареактивный тип (n = 24)							
В состоянии покоя	1066 ± 29,5	96 ± 7,0	149 ± 11,0	107 ± 9,1	392 ± 12,6	425 ± 11,0	525 ± 19,4
При ХГВ	1063 ± 25,4	94 ± 8,3	151 ± 10,0	101 ± 10,5	388 ± 11,0	409 ± 8,4	524 ± 18,1
Парадоксальный тип (n = 15)							
В состоянии покоя	1245 ± 37,0	97 ± 7,6	152 ± 6,2	97 ± 6,1	406 ± 8,3	405 ± 7,1	687 ± 18,9
При ХГВ	1056 ± 22,6**	95 ± 8,7	150 ± 5,5	95 ± 5,8	387 ± 10,2*	420 ± 7,5*	523 ± 13,5**

Примечания: достоверность различий между исходным состоянием и во время пробы ХГВ. * — $p < 0,05$, ** — $p < 0,01$.

У представителей ареактивного типа значимых изменений при пробе ХГВ не обнаружено (табл. 4). У представителей парадоксального типа во время пробы ХГВ отмечено на фоне уменьшения RR-, TP-, QT-интервалов увеличение QTc показателя, т. е. на фоне увеличения ЧСС наблюдается замедление внутри желудочкового проведения (табл. 2).

Анализ динамики АД при применении проб ХГВ показал достоверное повышение уровней САД и ДАД у всех обследованных (рис. 4, 5). Выявлено, что в исходном состоянии АД выше у представителей высокореактивного типа. Самое низкое САД наблюдали у обследованных парадоксального типа. При этом у представителей высокореактивного типа при повторных применениях проб ХГВ ДАД прогрессивно продолжало нарастать, достигая у некоторых из них 175/115 мм рт. ст.

Таким образом, у большинства обследованных с умеренной реактивностью ХГВ вызывает рефлекторные изменения адаптивного характера, но у некоторых испытуемых с высокой реактивностью может провоцировать атриовентрикулярную блокаду, вызывать

замедление внутри желудочкового проведения (у части парадоксальных), на фоне периферического вазоспазма провоцирует повышение АД. Данные факты обнаружены нами на пробу ХГВ, которая проводится в комфортных условиях с минимумом напряжения. Но в условиях полной холодной иммерсии на фоне холодного стресса эти отклонения могут приобретать фатальный характер.

Влияние холодо-гипоксической тренировки на реактивность сердечно-сосудистой системы

Для выяснения влияния адаптации к ХГВ на реактивность вегетативной регуляции провели шестинедельный курс ежедневной тренировки. После тестирования и определения типа реагирования на пробу ХГВ отобрали 40 человек (по 10 человек каждого типа). Тренировку повторяли ежедневно в течение 6 недель, проводя серию из 3–4 погружений на задержанном нефорсированном выдохе лица в воду с температурой $+8 \pm 2$ °С. После тренировки повторное тестирование показало снижение реактивности, главным образом отразившееся на

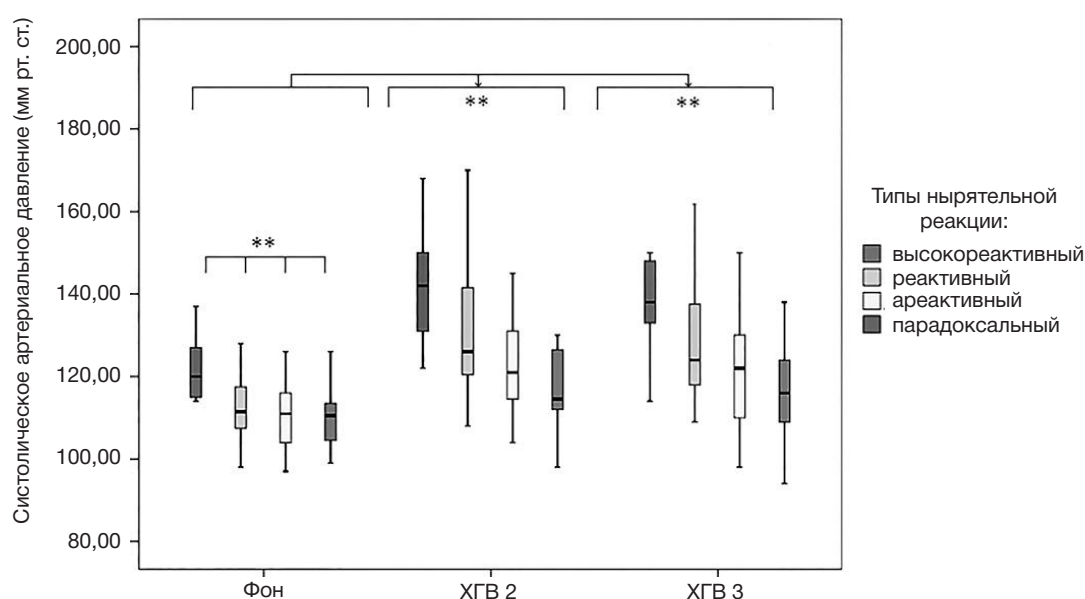


Рис. 4. Изменения уровня систолического давления под влиянием пробы ХГВ. По оси абсцисс: фон — состояние покоя, лежа на животе; ХГВ2 — вторая проба; ХГВ3 — третья проба с погружением лица в холодную воду. ** — $p < 0,01$, значимость различий. Высокореактивный тип — $n = 18$; реактивный — $n = 23$; ареактивный — $n = 24$; парадоксальный — $n = 15$

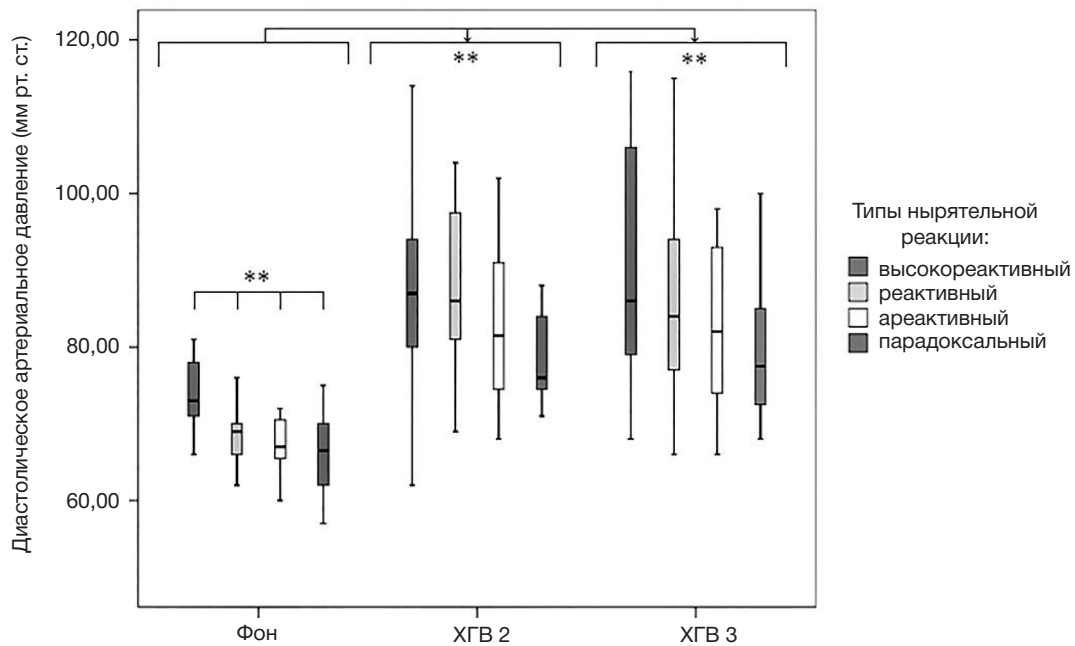


Рис. 5. Изменение уровня диастолического давления под влиянием пробы ХГВ. При втором (ХГВ2) и третьем (ХГВ3) погружениях. Остальные обозначения как на рис. 5. ** — $p < 0,01$. Высокореактивный тип — $n = 18$; реактивный — $n = 23$; ареактивный — $n = 24$; парадоксальный — $n = 15$

увеличении латентного времени развития рефлекторной брадикардии и замедлении скорости ее нарастания при проведении пробы ХГВ. При этом семь человек из группы высокорезактивных перешли в реактивные, но три человека сохранили высокую реактивность. Четыре человека из группы реактивных перешли в группу ареактивных, два человека из парадоксальных — в группу ареактивных, а три человека — в группу реактивных, один не изменил тип реагирования.

Анализ рефлекторной констрикции периферических сосудов и динамики АД также показали снижение реактивности под воздействием тренировки, что отразилось в менее выраженном повышении уровня ДАД при ХГВ. САД во время ХГВ, напротив, после тренировки достоверно увеличилось (табл. 3). При этом увеличилось и пульсовое давление, а следовательно, и ударный объем желудочка.

Таким образом, в процессе адаптации к холодо-гипоксическому воздействию реактивность сердечно-сосудистой системы несколько снижается. Но вместе с тем выявлены люди, не изменившие реактивность под воздействием тренировки, что может быть связано с их индивидуальными особенностями, в том числе генетическими [12–14].

Изменение проводимости миокарда под влиянием заплывов в открытой холодной воде

Проанализировано состояние сердечно-сосудистой системы после двух эстафетных заплывов. Первый заплыв

«Елагин остров — Кронштадт» проходил 20 октября 2019 г. при температуре воды $+7,5-9$ °С. Дистанция составила 25 км. В эстафете участвовали четверо опытных пловцов зимнего плавания (возраст 37–52 года). В соответствии с правилами Международной ассоциации зимнего плавания (IWSA), участники плыли без гидрокостюмов. Длительность индивидуальных заплывов составляла 20 мин. Отдых между заплывами составлял 60 мин.

Запись ЭКГ проводили за 30 мин до заплыва и на 30-й минуте восстановления после заплывов. Под влиянием холодного фактора и физической нагрузки у двух из четырех спортсменов наблюдали статистически значимое, выходящее за пределы нормы увеличение QTc-интервала — замедление внутри желудочкового проведения (табл. 4).

Вторая эстафета проходила на участке «Орешек — Кронштадт» 12–13 июня 2021 г. В заплывах участвовали те же пловцы. Они преодолели дистанцию 103 км за 22 ч 16 мин. Температура воздуха менялась в диапазоне $+16-22,3$ °С. Температура воды в Неве и Финском заливе составляла $+16-17$ °С. Заплывы длились по 30 мин, отдых между заплывами был 90 мин. При анализе данных ЭКГ у 3 из 4 пловцов выявлено статистически значимое увеличение Q-Tc показателя (табл. 5). У одного спортсмена этот показатель статистически значимо сократился.

После обеих эстафет у пловцов на 30-й минуте восстановления АД изменилось не существенно. Так, во втором заплыве ($t = +17$ °С) до эстафеты САД — $119,4 \pm 7,3$ мм рт. ст.; ДАД — $78 \pm 4,5$ мм рт. ст.; после заплывов эстафеты САД — $123,3 \pm 8,5$ мм рт. ст.; ДАД — $73 \pm 5,3$ мм рт. ст., соответственно. Однако наблюдения за динамикой

Таблица 3. Изменение уровня артериального давления (мм рт. ст.) под воздействием шестинедельной холодо-гипоксической тренировки ($n = 40$)

Показатели	САД в покое	ДАД в покое	САД при ХГВ	ДАД при ХГВ	САД восст.	ДАД восст.
До тренировки	$108,3 \pm 4,1$	$62,7 \pm 4,4$	$122,2 \pm 6,7^{\circ}$	$84,2 \pm 5,3^{\circ\circ}$	$105,8 \pm 4,9$	$60,9 \pm 4,1$
После тренировки	$110,4 \pm 7,8$	$62,1 \pm 3,6$	$135,3 \pm 5,1^{*\circ\circ}$	$71,2 \pm 4,8^{\circ}$	$104,5 \pm 6,1$	$58,7 \pm 4,3$

Примечания: $^{\circ}$, $^{\circ\circ}$ — $p < 0,05$; $^{\circ\circ}$ — $p < 0,01$; * — значимость различий до и после тренировки; $^{\circ}$ — значимость различий между показателями пробы ХГВ и исходным состоянием.

Таблица 4. Изменение показателей проводимости сердца до и после заплывов (при температуре воды $t = +8\text{ }^{\circ}\text{C}$)

Показатели ЭКГ	Пловец 1		Пловец 2		Пловец 3		Пловец 4	
	До	После	До	После	До	После	До	После
R-Rcp	696 ± 32	693 ± 37	662 ± 37	584 ± 22*	560 ± 25	648 ± 27*	1088 ± 42	781 ± 25*
P-Q,ms	172 ± 8,1	174 ± 7,1	140 ± 4,2	148 ± 5,2	152 ± 4,4	164 ± 5,1*	158 ± 3,9	165 ± 4,3
QRS	86 ± 4,3	106 ± 5,3*	80 ± 4,9	86 ± 5,1	84 ± 3,6	86 ± 4,2	107 ± 6,1	102 ± 5,9
QTc	457 ± 19	501 ± 21*	447 ± 17	448 ± 22	445 ± 23	498 ± 25*	402 ± 21	420 ± 27

Примечания: до — исходное состояние перед заплывом, после — 30–40 мин восстановления по окончании эстафеты. * — $p < 0,05$, по t -критерию Стьюдента, представлен анализ индивидуальных данных после заплыва относительно исходного состояния (длительность регистрации ЭЭГ 5 мин).

давления спортсменов ($n = 17$) во время соревнований сразу после заплывов 200 м дистанции (на 3–5-й минутах восстановления) при температуре воды $+1,5\text{--}2,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ показали существенные изменения. В целом по группе наблюдали достоверное увеличение уровня САД. В покое САД = $134,4 \pm 6,1$ мм рт. ст., после заплыва — $148,5 \pm 5,2$ мм рт. ст. ($p < 0,05$); ДАД в покое = $79,8 \pm 3,1$ мм рт. ст., после заплыва — $91,3 \pm 7,1$ мм рт. ст. ($p < 0,05$). При этом у некоторых пловцов давление изменялось незначительно, но у других САД повышалось до 190 мм рт. ст., а ДАД — до 120 мм рт. ст. Их из общей группы для статистической обработки исключили. ЧСС после заплывов на дистанции 200 м увеличилась (в состоянии покоя ЧСС = $76,8 \pm 4,4$ уд/мин, после заплыва — $98,1 \pm 4,7$ уд/мин; $p < 0,01$). Но у одного обследованного ЧСС после заплыва в холодной воде значительно уменьшалась (до заплыва — 88 уд/мин, после заплыва — 64 уд/мин).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Анализ лабораторных наблюдений с использованием пробы ХГВ показал, что при погружении в холодную воду всего лишь лица можно зарегистрировать комплекс реакций, отражающих существенное изменение характеристик деятельности сердечно-сосудистой системы. Причина этому — реализация так называемого нырятельного рефлекса [17–19], представляющего собой сложный комплекс рефлекторных актов, сопровождающихся одновременной активацией симпатического и парасимпатического отделов ВНС, посылающих сигналы на миокард. Суммарный эффект влияния на синоатриальный узел со стороны *n. vagus* и постганглионарных симпатических нейронов зависит также от фонового состояния клеток синоатриального узла, которое формируется под воздействием различных нейропептидов, выделяющихся эндотелием сосудов и кардиомиоцитами. Величина ответной реакции сердечно-сосудистой системы при заплывах в холодной воде варьирует в зависимости не только от внешних

факторов, таких как температура воды, адаптация к холоду и пр., но и от индивидуальных особенностей вегетативной реактивности организма. При этом реакция ныряния вызывает парасимпатическую брадикардию, тогда как холодовой стресс активирует симпатическую тахикардию. Эти разнонаправленные воздействия могут привести к аритмиям [7, 8], особенно у людей с ярко выраженной нырятельной брадикардией. Так, у некоторых представителей высокорезистивного и реактивного типов под воздействием рефлекторных парасимпатических влияний на синусовый узел сердца, с ярко выраженным эффектом брадикардии, имеются случаи предсердно-желудочковой блокады — нарушения проведения импульса к желудочкам от предсердий (увеличение PQ-интервала, превышающее норму). У некоторых представителей парадоксального типа, реагирующих на ХГВ как на стресс — увеличением симпатических влияний на миокард — на фоне уменьшения длительности сердечного цикла встречаются замедления внутрисердечного проведения возбуждения (увеличение QTc показателя, выходящего за пределы нормы). Подобная реакция часто встречается при заплывах в открытой холодной воде, в том числе у опытных, адаптированных к холодной воде пловцов. Эти данные подтверждают сложившееся в настоящее время представление об аритмогенном характере нырятельного рефлекса [6–8]. Кроме того, эти отклонения могут усиливаться при нарушении K^+ обмена при физической нагрузке во время заплывов, а также вследствие переохлаждения организма во время заплывов и в течение нескольких минут после них при продолжающемся понижении температуры тела, в том числе температурного ядра организма. Эти факторы могут повышать риск достижения QTc показателем критических величин, способных привести к остановке сердца [20, 21].

Констрикция периферических сосудов при реализации нырятельного ответа происходит под влиянием сигналов из сосудодвигательного центра продолговатого мозга по адренергическим симпатическим волокнам на их мышечные стенки. У некоторых обследованных, преимущественно высокорезистивных, при серии ХГВ

Таблица 5. Изменение показателей проводимости сердца до и после эстафетного заплыва (при температуре воды $t = +17\text{ }^{\circ}\text{C}$)

Показатели ЭКГ	Пловец 1		Пловец 2		Пловец 3		Пловец 4	
	До	После	До	После	До	После	До	После
R-Rcp	927 ± 25	1105 ± 39**	718 ± 27	674 ± 23	961 ± 29	637 ± 19**	956 ± 31	789 ± 41**
P, ms	120 ± 3,7	114 ± 4,1	124 ± 4,1	116 ± 4,2	124 ± 7,1	110 ± 7,3	114 ± 4,5	110 ± 3,1
P-Q, ms	168 ± 4,3	169 ± 5,1	177 ± 4,1	162 ± 4,7*	173 ± 7,1	160 ± 7,4	150 ± 4,3	146 ± 3,9
QRS	94 ± 5,9	83 ± 4,9	85 ± 3,7	90 ± 4,1	97 ± 4,9	96 ± 4,7	88 ± 4,4	88 ± 4,1
QT, ms	464 ± 17	429 ± 18	371 ± 11	372 ± 17	423 ± 23	394 ± 21	400 ± 17	390 ± 15
QTc	482 ± 28	393 ± 29*	440 ± 7,5	459 ± 11*	434 ± 24	492 ± 25**	405 ± 16	439 ± 15*

Примечания: до — исходное состояние перед заплывом, после — 30–40 мин восстановления по окончании эстафеты. * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$, по t -критерию Стьюдента, представлен анализ индивидуальных данных после заплыва относительно исходного состояния (длительность регистрации ЭКГ 5 мин).

наблюдается прогрессирующее повышение уровня АД при каждом последующем погружении лица в холодную воду, что связано с медленным восстановлением тонуса периферических сосудов, не успевающих вернуться к исходному состоянию за двухминутный интервал между погружениями. Подобную реакцию мы наблюдали и у некоторых пловцов зимнего плавания, когда следующие друг за другом с небольшими перерывами заплывы в холодной воде сопровождались стойким повышением АД. Дальнейшие обследования их в лабораторных условиях с использованием пробы ХГВ подтвердили этот факт.

Меняет ли адаптация к погружению в холодную воду характер сердечно-сосудистого ответа? 6-недельная тренировка локального охлаждения лица посредством пробы ХГВ показала, что периферический вазоспазм у обследованных несколько снижается, что отражается на статистически значимо менее выраженном повышении уровня ДАД во время ХГВ. САД, напротив, достоверно повышается во время ХГВ, а следовательно, повышается пульсовое давление, косвенно отражающее увеличение ударного объема левого желудочка. На фоне развивающейся брадикардии это дает возможность поддерживать на необходимом уровне мозговой кровотока [19, 22–25]. Таким образом, эти изменения адаптивны и имеют защитный характер. Реактивность хронотропной функции сердца на ХГВ после адаптации также снижается. Но у некоторых испытуемых реактивность и сердечная, и сосудистая сохраняются высокими, что, возможно, обусловлено генетическими особенностями, в частности, эффекторного звена сосудистого ответа. Рефлекторная регуляция тонуса сосудов кожи и мышечных тканей находится под контролем симпатического отдела вегетативной регуляции и реализуется через α_1 -адренорецепторы (констрикторная функция) и β_2 -адренорецепторы (дилататорная функция). Выраженность рефлекторного ответа зависит от соотношения этих рецепторов и эффективности их функционирования,

которые в большой мере генетически детерминированы. Вместе с тем существенное влияние на реализацию рефлекторных сосудистых реакций оказывает текущий биохимический фон, который зависит, в частности, от активности ренин-ангиотензиновой и кинин-брадикининовой систем. Так, нами показано (на модели ХГВ), что тонус сосудов и АД при реализации нырятельного ответа в существенной мере зависят от полиморфизма генов, кодирующих *ADRA1A* (rs1048101), *BDKRB2* (rs1799722), *ADBR2* (rs1042713) и *ACE* (I/D, rs4340) [12, 13].

ВЫВОДЫ

Наибольший риск при заплывах в холодной воде связан с нарушением функций сердечно-сосудистой системы. Необходимо учитывать, что у практически здоровых людей с адекватной реакцией организма на физическую нагрузку под воздействием холодной воды могут формироваться патологические изменения функций сердечно-сосудистой системы: сердечные аритмии, в том числе и фатального характера, резкое повышение уровня АД, с вытекающими из этого последствиями. Есть особенности регуляторных систем, прежде всего вегетативной нервной системы, связанной с реализацией рефлекторных защитных механизмов организма, которые увеличивают риск патологического ответа на холодовой раздражитель. Это повышенная реактивность на экстремальные воздействия автономного контура регуляции и его эффекторного звена — миокарда, а также гладкомышечных стенок периферических сосудов кожи, неработающих мышц, ЖКТ. В связи с этим необходима разработка дополнительных методов тестирования и критериев допуска спортсменов зимнего плавания к тренировкам и соревнованиям холодным плаванием. На наш взгляд, проба ХГВ, осуществляемая под контролем ЭКГ и АД, может быть весьма информативной для выявления людей, попадающих в группу риска по показателям сердечно-сосудистой системы.

Литература

- Huttunen P, Rintamäki H. Effect of regular winter swimming on the activity of the sympathoadrenal system before and after a single cold water immersion. *Int J Circumpolar Health*. 2001; 60 (3): 400–6. PMID: 11590880.
- Vybíral S, Lesná I, Jansky L, Zeman V. Thermoregulation in winter swimmers and physiological significance of human catecholamine thermogenesis. *Exp Physiol*. 2000; 85 (3): 321–6. PMID: 10825419.
- Blondin DP, Tingelstad HC, Mantha OL, Gosselin C, Haman F. Maintaining thermogenesis in cold exposed humans: relying on multiple metabolic pathways. *Compr Physiol*. 2014; 4 (4): 1383–402. DOI: 10.1002/cphy.c130043. PMID: 25428848.
- Søberg S, Löfgren J, Philipsen FE, Jensen M, Hansen AE, Ahrens E, et al. Altered brown fat thermoregulation and enhanced cold-induced thermogenesis in young, healthy, winter-swimming men. *Cell Rep Med*. 2021; 2 (10): 100408. DOI: 10.1016/j.xcrm.2021.100408. PMID: 34755128. PMID: PMC8561167.
- Londin DP, Frisch F, Phoenix S, Guérin B, Turcotte ÉE, Haman F, et al. Inhibition of Intracellular Triglyceride Lipolysis Suppresses Cold-Induced Brown Adipose Tissue Metabolism and Increases Shivering in Humans. *Cell Metab*. 2017; 25 (2): 438–47. DOI: 10.1016/j.cmet.2016.12.005. Epub 2017 Jan 12. PMID: 28089568.
- Lundell RV, Räisänen-Sokolowski AK, Wuorimaa TK, Ojanen T, Parkkola KI. Diving in the Arctic: Cold Water Immersion's Effects on Heart Rate Variability in Navy Divers. *Front Physiol*. 2020; 10: 1600. DOI: 10.3389/fphys.2019.01600. PMID: 32082177. PMID: PMC7005786.
- Shattock MJ, Tipton MJ. 'Autonomic conflict': A different way to die during cold water immersion? *J Physiol*. 2012; 590: 32193230. DOI: 10.1113/jphysiol.2012.229864.
- Tipton MJ, Kelleher PC, Golden FS. Supraventricular arrhythmias following breath-hold submersions in cold water. *Undersea Hyperb. Med J Undersea Hyperb Med Soc*. 1994; 21: 305–13.
- Datta A, Tipton M. Respiratory responses to cold water immersion: neural pathways, interactions, and clinical consequences awake and asleep. *J Appl Physiol* (1985). 2006; 100 (6): 2057–64. DOI: 10.1152/jappphysiol.01201.2005. PMID: 16714416.
- Knechtle B, Waśkiewicz Z, Sousa CV, Hill L, Nikolaidis PT. Cold water swimming-benefits and risks: a narrative review. *Int J Environ Res Public Health*. 2020; 17 (23): 8984. DOI: 10.3390/ijerph17238984. PMID: 33276648. PMID: PMC7730683.
- Lundell RV, Ojanen T. A systematic review of HRV during diving in very cold water. *Int J Circumpolar Health*. 2023; 82 (1): 2203369. DOI: 10.1080/22423982.2023.2203369. PMID: 37079282. PMID: PMC10120448.
- Baranova TI, Berlov DN, Glotov AS, Glotov OS, Zavarina LB, Kachanova TA, et al. Some genetic determinants of vascular responses in simulated human diving. *Journal of evolutionary biochemistry and physiology*. 2019; 55 (3): 231–4. DOI: 10.1134/

- S0022093019030086.
13. Baranova TI, Podyacheva EYu, Zemlyanukhina TA, Berlov DN, Danilova MM, Glotov OS, et al. Vascular reactions of the diving reflex in men and women carrying different ADRA1A Genotypes. *Int J Mol Sci.* 2022; 23 (16): 9433. DOI: 10.3390/ijms23169433. PMID: 36012699. PMCID: PMC9409260.
 14. Baranova TI, Berlov DN, Glotov OS, Korf EA, Minigalin AD, Mitrofanova AV, et al. Genetic determination of the vascular reactions in humans in response to the diving reflex. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2017; 312: 622–31. DOI: 10.1152/ajpheart.00080.2016.
 15. Haman F, Souza SCS, Castellani JW, Dupuis MP, Friedl KE, Sullivan-Kwantes W, et al. Human vulnerability and variability in the cold: Establishing individual risks for cold weather injuries. *Temperature (Austin).* 2022;9(2):158–95. DOI:10.1080/23328940.2022.2044740. PMID: 36106152. PMCID: PMC9467591.
 16. Баранова Т. И., Ноздрачев А. Д., Январева И. Н. Формализация критериев оценки нырятельной реакции и адаптации к холодо-гипокси-гиперкапническому воздействию у человека. *Biological Communications.* 2005; 2: 107–14.
 17. Gooden BA. Why some people do not drown. Hypothermia versus the diving response. *Med J Aust.* 1992; 157 (9): 629–32. DOI: 10.5694/j.1326-5377.1992.tb137408.x. PMID: 1406426.
 18. Malinowski KS, Wierzbę TH, Neary JP, Winkiewski PJ, Wszędybył-Winkiewska M. Resting heart rate affects heart response to cold-water face immersion associated with apnea. *Biology (Basel).* 2023; 12 (6): 869. DOI: 10.3390/biology12060869. PMID: 37372152. PMCID: PMC10295257.
 19. Nordine M, Schwarz A, Bruckstein R, Gunga HC, Opatz O. The human dive reflex during consecutive apnoeas in dry and immersive environments: magnitude and synchronicity. *Front Physiol.* 2022; 12: 725361. DOI: 10.3389/fphys.2021.725361. PMID: 35058791. PMCID: PMC8764278.
 20. Batra AS, Silka MJ. Mechanism of sudden cardiac arrest while swimming in a child with the prolonged QT syndrome. *J Pediatr.* 2002; 141 (2): 283–4. DOI: 10.1067/mpd.2002.126924. PMID: 12183730.
 21. Choi G, Kopplin LJ, Tester DJ, Will ML, Haglund CM, Ackerman MJ. Spectrum and frequency of cardiac channel defects in swimming-triggered arrhythmia syndromes. *Circulation.* 2004 Oct 12; 110 (15): 2119–24. DOI: 10.1161/01.CIR.0000144471.98080.CA. Epub 2004. PMID: 15466642.
 22. McKnight JC, Mulder E, Ruesch A, Kainerstorfer JM, Wu J, Hakimi N, et al. When the human brain goes diving: using near-infrared spectroscopy to measure cerebral and systemic cardiovascular responses to deep, breath-hold diving in elite freedivers. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 2021; 376 (1831): 20200349. DOI: 10.1098/rstb.2020.0349. Epub 2021 Jun 28. PMID: 34176327. PMCID: PMC8237162.
 23. Bain AR, Drvis I, Dujic Z, MacLeod DB, Ainslie PN. Physiology of static breath holding in elite apneists. *Exp Physiol.* 2018; 103 (5): 635–51. DOI: 10.1113/EP086269. PMID: 29512224.
 24. Godek D, Freeman AM. Physiology, Diving Reflex. *StatPearls [Internet].* 2022. Available from: <https://www.statpearls.com/point-of-care/20629>. PMID: 30855833.
 25. Malinowski KS, Wierzbę TH, Neary JP, Winkiewski PJ, Wszędybył-Winkiewska M. Resting heart rate affects heart response to cold-water face immersion associated with apnea. *Biology (Basel).* 2023; 12 (6): 869. DOI: 10.3390/biology12060869. PMID: 37372152. PMCID: PMC10295257.

References

1. Huttunen P, Rintamäki H. Effect of regular winter swimming on the activity of the sympathoadrenal system before and after a single cold water immersion. *Int J Circumpolar Health.* 2001; 60 (3): 400–6. PMID: 11590880.
2. Vybíral S, Lesná I, Jansky L, Zeman V. Thermoregulation in winter swimmers and physiological significance of human catecholamine thermogenesis. *Exp Physiol.* 2000; 85 (3): 321–6. PMID: 10825419.
3. Blondin DP, Tingelstad HC, Mantha OL, Gosselin C, Haman F. Maintaining thermogenesis in cold exposed humans: relying on multiple metabolic pathways. *Compr Physiol.* 2014; 4 (4): 1383–402. DOI: 10.1002/cphy.c130043. PMID: 25428848.
4. Sjøberg S, Löfgren J, Philipson FE, Jensen M, Hansen AE, Ahrens E, et al. Altered brown fat thermoregulation and enhanced cold-induced thermogenesis in young, healthy, winter-swimming men. *Cell Rep Med.* 2021; 2 (10): 100408. DOI: 10.1016/j.xcrm.2021.100408. PMID: 34755128. PMCID: PMC8561167.
5. Londin DP, Frisch F, Phoenix S, Guérin B, Turcotte ÉE, Haman F, et al. Inhibition of Intracellular Triglyceride Lipolysis Suppresses Cold-Induced Brown Adipose Tissue Metabolism and Increases Shivering in Humans. *Cell Metab.* 2017; 25 (2): 438–47. DOI: 10.1016/j.cmet.2016.12.005. Epub 2017 Jan 12. PMID: 28089568.
6. Lundell RV, Räisänen-Sokolowski AK, Wuorimaa TK, Ojanen T, Parkkola KI. Diving in the Arctic: Cold Water Immersion's Effects on Heart Rate Variability in Navy Divers. *Front Physiol.* 2020; 10: 1600. DOI: 10.3389/fphys.2019.01600. PMID: 32082177. PMCID: PMC7005786.
7. Shattock MJ, Tipton MJ. 'Autonomic conflict': A different way to die during cold water immersion? *J Physiol.* 2012; 590: 32193230. DOI: 10.1113/jphysiol.2012.229864.
8. Tipton MJ, Kelleher PC, Golden FS. Supraventricular arrhythmias following breath-hold submersions in cold water. *Undersea Hyperb. Med J Undersea Hyperb Med. Soc.* 1994; 21: 305–13.
9. Datta A, Tipton M. Respiratory responses to cold water immersion: neural pathways, interactions, and clinical consequences awake and asleep. *J Appl Physiol (1985).* 2006; 100 (6): 2057–64. DOI: 10.1152/jappphysiol.01201.2005. PMID: 16714416.
10. Knechtle B, Waśkiewicz Z, Sousa CV, Hill L, Nikolaidis PT. Cold water swimming-benefits and risks: a narrative review. *Int J Environ Res Public Health.* 2020; 17 (23): 8984. DOI: 10.3390/ijerph17238984. PMID: 33276648. PMCID: PMC7730683.
11. Lundell RV, Ojanen T. A systematic review of HRV during diving in very cold water. *Int J Circumpolar Health.* 2023; 82 (1): 2203369. DOI: 10.1080/22423982.2023.2203369. PMID: 37079282. PMCID: PMC10120448.
12. Baranova TI, Berlov DN, Glotov AS, Glotov OS, Zavarina LB, Kachanova TA, et al. Some genetic determinants of vascular responses in simulated human diving. *Journal of evolutionary biochemistry and physiology.* 2019; 55 (3): 231–4. DOI: 10.1134/S0022093019030086.
13. Baranova TI, Podyacheva EYu, Zemlyanukhina TA, Berlov DN, Danilova MM, Glotov OS, et al. Vascular reactions of the diving reflex in men and women carrying different ADRA1A Genotypes. *Int J Mol Sci.* 2022; 23 (16): 9433. DOI: 10.3390/ijms23169433. PMID: 36012699. PMCID: PMC9409260.
14. Baranova TI, Berlov DN, Glotov OS, Korf EA, Minigalin AD, Mitrofanova AV, et al. Genetic determination of the vascular reactions in humans in response to the diving reflex. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2017; 312: 622–31. DOI: 10.1152/ajpheart.00080.2016.
15. Haman F, Souza SCS, Castellani JW, Dupuis MP, Friedl KE, Sullivan-Kwantes W, et al. Human vulnerability and variability in the cold: Establishing individual risks for cold weather injuries. *Temperature (Austin).* 2022;9(2):158–95. DOI:10.1080/23328940.2022.2044740. PMID: 36106152. PMCID: PMC9467591.
16. Baranova TI, Nozdrachev AD, Janvareva IN. Формализация критериев оценки нырятельной реакции и адаптации к холодо-гипокси-гиперкапническому воздействию у человека. *Biological Communications.* 2005; 2: 107–14. Russian.
17. Gooden BA. Why some people do not drown. Hypothermia versus the diving response. *Med J Aust.* 1992; 157 (9): 629–32. DOI: 10.5694/j.1326-5377.1992.tb137408.x. PMID: 1406426.
18. Malinowski KS, Wierzbę TH, Neary JP, Winkiewski PJ, Wszędybył-Winkiewska M. Resting heart rate affects heart response to cold-water face immersion associated with apnea. *Biology (Basel).* 2023; 12 (6): 869. DOI: 10.3390/biology12060869. PMID: 37372152. PMCID: PMC10295257.

19. Nordine M, Schwarz A, Bruckstein R, Gunga HC, Opatz O. The human dive reflex during consecutive apnoeas in dry and immersive environments: magnitude and synchronicity. *Front Physiol.* 2022; 12: 725361. DOI: 10.3389/fphys.2021.725361. PMID: 35058791. PMCID: PMC8764278.
20. Batra AS, Silka MJ. Mechanism of sudden cardiac arrest while swimming in a child with the prolonged QT syndrome. *J Pediatr.* 2002; 141 (2): 283–4. DOI: 10.1067/mpd.2002.126924. PMID: 12183730.
21. Choi G, Kopplin LJ, Tester DJ, Will ML, Haglund CM, Ackerman MJ. Spectrum and frequency of cardiac channel defects in swimming-triggered arrhythmia syndromes. *Circulation.* 2004 Oct 12; 110 (15): 2119–24. DOI: 10.1161/01.CIR.0000144471.98080.CA. Epub 2004. PMID: 15466642.
22. McKnight JC, Mulder E, Ruesch A, Kainerstorfer JM, Wu J, Hakimi N, et al. When the human brain goes diving: using near-infrared spectroscopy to measure cerebral and systemic cardiovascular responses to deep, breath-hold diving in elite freedivers. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 2021; 376 (1831): 20200349. DOI: 10.1098/rstb.2020.0349. Epub 2021 Jun 28. PMID: 34176327. PMCID: PMC8237162.
23. Bain AR, Drvis I, Dujic Z, MacLeod DB, Ainslie PN. Physiology of static breath holding in elite apneists. *Exp Physiol.* 2018; 103 (5): 635–51. DOI: 10.1113/EP086269. PMID: 29512224.
24. Godek D, Freeman AM. Physiology, Diving Reflex. *StatPearls [Internet].* 2022. Available from: <https://www.statpearls.com/point-of-care/20629>. PMID: 30855833.
25. Malinowski KS, Wierzba TH, Neary JP, Winklewski PJ, Wszędybył-Winklewska M. Resting heart rate affects heart response to cold-water face immersion associated with apnea. *Biology (Basel).* 2023; 12 (6): 869. DOI: 10.3390/biology12060869. PMID: 37372152. PMCID: PMC10295257.

ОЦЕНКА ЛИПИДНОГО СПЕКТРА И С-РЕАКТИВНОГО БЕЛКА КРОВИ У РАБОТАЮЩИХ В АРКТИЧЕСКОЙ ЗОНЕ РОССИИ

Д. А. Нарутдинов¹, Р. С. Рахманов²✉, Е. С. Богомолова², С. А. Разгулин², Н. Н. Потехина²

¹ Красноярский медицинский университет имени профессора В. Ф. Войно-Ясенецкого, Красноярск, Россия

² Приволжский исследовательский медицинский университет, Нижний Новгород, Россия

У людей, работающих на Севере, при адаптации к экстремальным условиям жизни развивается дислипидемия, фактор риска при сердечно-сосудистых заболеваниях (ССЗ). Целью работы была оценка уровня липидов и С-реактивного белка (СРБ), маркера воспаления при ССЗ, в крови у мужчин в Арктической зоне России. В крови двух групп: в Арктике ($n = 51$) и Субарктике ($n = 54$) (возраст — $35,7 \pm 0,6$ и $34,2 \pm 0,9$ лет ($p = 0,167$), длительность работ — $7,1 \pm 0,2$ и $6,4 \pm 0,6$ лет ($p = 0,447$)) определяли значения триглицеридов, общего холестерина, липопротеидов низкой (ЛПНП) и высокой (ЛПВП) плотности, коэффициента атерогенности (КА), СРБ. В Арктике выявлены более высокие уровни триглицеридов ($1,71 \pm 0,03$ и $1,38 \pm 0,14$ ммоль/л, $p = 0,021$), общего холестерина ($6,15 \pm 0,08$ и $5,47 \pm 0,14$ ммоль/л, $p = 0,001$), ЛПВП ($1,5 \pm 0,06$ и $1,1 \pm 0,04$ ммоль/л, $p = 0,001$); равные значения — ЛПНП ($4,07 \pm 0,08$ и $4,1 \pm 0,15$ ммоль/л, $p = 0,88$); менее значимые получены по КА ($3,41 \pm 0,18$ и $4,18 \pm 0,2$, $p = 0,007$) и СРБ ($3,41 \pm 0,18$ и $4,91 \pm 0,22$ мг/л, $p = 0,006$). Дислипидемия определена по триглицеридам у 49,0% и у 18,4%, по общему холестерину — у 98,0% и 57,8%, по ЛПНП — у 94,1% и 88,0%. ЛПВП ниже нормы у 2,0% и 36,7%, что указывает на более высокий риск сердечно-сосудистых заболеваний в Субарктике. Риск по СРБ в Арктике — у 90% (средний — у 23,5% и высокий — у 66,7%), Субарктике — у 100,0% (средний — у 7,7%, высокий — у 88,5%). Вероятно, это обусловлено особенностями питания и условий жизни. Для профилактики ССЗ в Арктической зоне исследование липидов и СРБ крови необходимо проводить при каждом периодическом медицинском обследовании независимо от возраста. Требуется алиментарная коррекция дислипидемии.

Ключевые слова: Арктическая зона, липиды, С-реактивный белок, сердечно-сосудистый риск

Вклад авторов: Р. С. Рахманов — разработка дизайна и концепции исследования, написание статьи; Е. С. Богомолова — редактирование, утверждение окончательного варианта статьи; Д. А. Нарутдинов — сбор первичного материала; С. А. Разгулин — анализ литературы; Н. Н. Потехина — участие в статистической обработке материала.

Соблюдение этических стандартов: исследование одобрено этическим комитетом ФГБОУ ВО «ПИМУ» Минздрава России (протокол № 4 от 14 марта 2022 г.); все участники исследования подписали добровольное информированное согласие.

✉ **Для корреспонденции:** Рофайль Сальхович Рахманов
пл. Минина и Пожарского, д. 10/1, г. Нижний Новгород, 603950, Россия; raf53@mail.ru

Статья получена: 09.09.2023 **Статья принята к печати:** 01.11.2023 **Опубликована онлайн:** 24.11.2023

DOI: 10.47183/mes.2023.048

ASSESSMENT OF LIPID SPECTRUM AND C-REACTIVE PROTEIN IN PEOPLE WORKING IN THE ARCTIC ZONE OF RUSSIA

Narutdinov DA¹, Rakhmanov RS²✉, Bogomolova ES², Razgulin SA², Potekhina NN²

¹ Voino-Yasenetsky Krasnoyarsk Medical University, Krasnoyarsk, Russia

² Privolzhsky Research Medical University, Nizhny Novgorod, Russia

Adaptation to the extreme living conditions of the North causes dyslipidemia, a risk factor for cardiovascular diseases (CVD), in people working there. This study aimed to assess the level of lipids and C-reactive protein (CRP), a marker of inflammation in CVD cases, in the blood of men staying in the Arctic and Subarctic zones of Russia. Accordingly, the sample was divided into two group, Arctic and Subarctic, the former included 51 participants, aged 35.7 ± 0.6 years, the latter — 54 individuals, aged 34.2 ± 0.9 years ($p = 0.167$); the duration of their work/stay in the Arctic and Subarctic zones was 7.1 ± 0.2 and 6.4 ± 0.6 years ($p = 0.447$), respectively. We sampled blood of the participants and measured triglycerides, total cholesterol, low (LDL) and high (HDL) density lipoproteins, atherogenic index (AI), CRP content. Arctic group had higher levels of triglycerides (1.71 ± 0.03 and 1.38 ± 0.14 mmol/l, $p = 0.021$), total cholesterol (6.15 ± 0.08 and 5.47 ± 0.14 mmol/l, $p = 0.001$), HDL (1.5 ± 0.06 and 1.1 ± 0.04 mmol/l, $p = 0.001$); the values of LDL did not differ significantly between the groups (4.07 ± 0.08 and 4.1 ± 0.15 mmol/l, $p = 0.88$), and AI and CRP values (3.41 ± 0.18 and 4.18 ± 0.2 , $p = 0.007$; 3.41 ± 0.18 and 4.91 ± 0.22 mg/l, $p = 0.006$, respectively) were greater in the Subarctic group. By triglycerides, dyslipidemia was diagnosed in 49.0% and 18.4% of Arctic and Subarctic participants, respectively, by total cholesterol — in 98.0% and 57.8%, by LDL — in 94.1% and 88.0%. As for HDL, their level was lower than normal in 2.0% of the Arctic group subjects and 36.7% of the Subarctic group subjects, which means a higher risk of cardiovascular diseases in the Subarctic region. The level of CRP indicated that 90% of the Arctic group participants were at risk of CVD (moderate risk for 23.5%, high risk for 66.7%), and in the Subarctic group this number was 100% (moderate risk for 7.7%, high risk for 88.5%). The likely reasons behind this are the specifics of nutrition and living conditions. Program of prevention of CVD in the Arctic zone should include lipid profile and CRP tests as part of every periodic medical examination, regardless of age. It is necessary to implement dyslipidemia alimentary correction measures.

Keywords: Arctic zone, lipids, C-reactive protein, cardiovascular risk

Author contribution: Rakhmanov RS — study design and concept, article authoring; Bogomolova ES — editing, approval of the final version of the article; Narutdinov DA — primary material collection; Razgulin SA — literature analysis; Potekhina NN — participation in statistical processing of the material.

Compliance with the ethical standards: the study was approved by the Ethics Committee of the Privolzhsky Research Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation (Minutes #4 of March 14, 2022); all study participants signed a voluntary informed consent form.

✉ **Correspondence should be addressed:** Rofail S. Rakhmanov
ploschad Minina i Pozharskogo, 10/1, Nizhny Novgorod, Russia; raf53@mail.ru

Received: 09.09.2023 **Accepted:** 01.11.2023 **Published online:** 24.11.2023

DOI: 10.47183/mes.2023.048

Дислипидемию относят к числу факторов риска сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) [1]. В патогенезе ССЗ не только нарушения липидного обмена, но и воспалительный процесс, один из важнейших маркеров которого — С-реактивный белок (СРБ) [2, 3]. Он может участвовать во всех стадиях развития атеросклеротического процесса [4, 5]. Тестирование на СРБ используют как для первичной (распределение групп риска ССЗ, отбор пациентов для терапии статинами), так и для вторичной профилактики ССЗ (прогноз ССЗ и осложнений его лечения, оценка эффективности лечения в группе умеренного риска ССЗ) [6].

В условиях экстремального влияния холода развивается полярная гипоксия, которая обуславливает повышение энергетического обмена организма и переключение метаболизма нутриентов с углеводного типа на липидный. Формируется полярный метаболический тип [7]. У коренных жителей Севера, придерживающихся традиционного уклада жизни и питания, он способствует высокой степени адаптации к экстремальным климатогеографическим факторам и предотвращает развитие сердечно-сосудистых и других метаболически обусловленных заболеваний. У лиц, прибывающих на Север, формируются особенности биохимических изменений организма, определяемые гормональными и метаболическими сдвигами [8, 9].

Цель работы — оценить липидный спектр и содержание С-реактивного белка крови у мужчин, работающих в Арктической зоне России.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Исследование было проведено в июле–августе 2022 г. на примере двух групп лиц мужского пола, работающих в Арктической зоне: Арктика, за 73° с. ш. ($n = 51$ — № 1) и Субарктика, 690 с. ш. ($n = 54$ — № 2). Критерием включения в исследование было отсутствие в анамнезе сердечно-сосудистых заболеваний, ожирения, воспалительного процесса в организме. Критерии исключения: коренные жители Севера, поддерживающие традиционный уклад жизни, а также лица, находившиеся в отпуске за пределами Арктической зоны. Это были практически здоровые люди в возрасте $35,7 \pm 0,6$ и $34,2 \pm 0,9$ лет ($p = 0,167$), которые проходили плановое периодическое обследование. На момент обследования жалоб на состояние здоровья они не предъявляли. Длительность пребывания в таких условиях, соответственно, $7,1 \pm 0,2$ и $6,4 \pm 0,6$ лет ($p = 0,447$).

Оценили условия быта и труда. Практически все вошедшие в группы наблюдения курили. По индексу массы тела лиц с дефицитом массы тела или ожирением не было. Деятельность лиц в Субарктике осуществлялась на территории антропогенного загрязнения (г. Норильск) [9, 10].

У всех наблюдаемых пробы крови отбирали в г. Норильске. Пробы без заморозки доставляли в аэропорт Норильска, а далее — Красноярска и затем в Центральную научно-исследовательскую лабораторию (ЦНИЛ) КрасГМУ, где проводили исследование.

Показатели липидного обмена (триглицериды (ТГ), общий холестерин (ОХ), холестерин-липопротеины низкой и высокой плотности (ЛПНП, ЛПВП), коэффициент атерогенности (КА)) исследовали на анализаторе AU 5800 (Beckman Coulter; США). С-реактивный белок определяли на автоматическом биохимическом анализаторе Cobas Integra 400 Plus (Roche Diagnostics; Швейцария).

Референтные значения триглицеридов: $< 1,7$ ммоль/л; $1,7$ – $2,25$ ммоль/л — умеренно повышенные, $2,26$ – $5,65$ ммоль/л — повышенные. Референтные значения ОХ: $3,5$ – $5,2$ ммоль/л;

$5,2$ – $6,2$ ммоль/л — погранично-высокие; $> 6,2$ ммоль/л — высокие. Референтные значения ЛПНП: до $3,37$ ммоль/л; $3,37$ – $4,27$ ммоль/л — повышенные; $> 4,27$ ммоль/л — высокие. Референтные значения ЛПВП: $0,9$ – $1,3$ ммоль/л [1]. Коэффициент атерогенности — норма $\leq 3,5$. Референтные значения СРБ — до 6 мг/л. Уровни $< 1,0$ мг/л, $1,0$ – $2,9$ мг/л, $\geq 3,0$ мг/л ассоциировались с низким, средним и высоким риском возникновения и прогрессирования ССЗ [11, 12]. Определяли значения средних величин оцениваемых показателей, соответствующие референтным и выходящие за эти границы.

Статистическую обработку первичных данных осуществляли на ПК с применением программного пакета Statistica 6.1 (StatSoft; США). Определяли нормальность распределения полученных данных по критерию Колмогорова–Смирнова, средние величины и ошибки средних ($M \pm m$); достоверность различий для параметрических выборок рассчитывали по t -критерию Стьюдента независимых выборок для вероятности $p < 0,05$. Анализировали индивидуальные показатели.

На примере среднестатистических данных, полученных для Арктики, провели корреляционный анализ между показателями липидограммы и СРБ: определяли коэффициенты корреляции по Пирсону (r_{xy}) и их статистическую достоверность. Линейную связь считали слабой при величине от 0 до $0,3$, умеренной — от $0,3$ до $0,5$, средней — от $0,5$ до $0,7$, высокой — от $0,7$ до $0,9$, весьма высокой — от $0,9$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Группы различались по условиям быта и труда. В Арктике питание организовано в столовых при использовании консервированных продуктов с дополнительной выдачей продуктов для лиц, работающих в районах Крайнего Севера [13]. Питательное водоснабжение — за счет использования талой воды. Проживание было организовано в специально оборудованных модулях. Работали по режиму: сутки через двое, в том числе на открытой территории (тяжелый и напряженный труд). В Субарктике проживание в благоустроенных городских квартирах, работа — в помещениях, соответствующих гигиеническим нормам. Питание домашнее. В продуктовом наборе свежие овощи, фрукты, ягоды присутствовали редко, рыбу потребляли не чаще 2–3 раз в неделю. Однако режим питания был нарушен (трехразовое — у $47,3\%$, двухразовое — у $52,7\%$), наблюдалось влияние антропогенных загрязнителей окружающей среды на жизнь. Труд напряженный, с низкой двигательной активностью.

Данные определения показателей липидного обмена помогли выявить наличие статистически значимых различий по ряду средних величин (табл. 1). Так, в условиях Арктики средний уровень ТГ был выше на $24,6\%$, общего холестерина — на $12,4\%$, ЛПВП — на $36,5\%$. Но КА у лиц второй группы был выше на $22,6\%$, чем в первой.

По индивидуальным данным в группе №1 у $51,0\%$ обследованных лиц ТГ были в норме, № 2 — у $81,6\%$. Умеренно повышенные значения ТГ были определены, соответственно, в $47,1\%$ и $4,1\%$ проб. В Арктике у 1 человека ($2,0\%$) показатели ТГ были повышенными, в Субарктике — у $14,3\%$ (табл. 2). Умеренно повышенный уровень ТГ у лиц группы № 2 был статистически более значимым: выше на $8,3\%$.

ОХ в условиях Арктики был в пределах нормы только у 1 человека, в Субарктике — у $42,2\%$. Пограничные

Таблица 1. Показатели липидного обмена в группах наблюдения, абс. вел.

№ п/п	Показатели липидного спектра	Арктическая зона, М ± m		p
		Арктика	Субарктика	
1	Триглицериды	1,72 ± 0,03	1,38 ± 0,14	0,021
2	Общий холестерин	6,15 ± 0,08	5,47 ± 0,14	0,001
3	Липопротеиды низкой плотности	4,07 ± 0,08	4,1 ± 0,15	0,88
4	Липопротеиды высокой плотности	1,5 ± 0,06	1,1 ± 0,04	0,001
5	Коэффициент атерогенности	3,41 ± 0,18	4,18 ± 0,2	0,007

Таблица 2. Характеристика содержания триглицеридов в плазме крови в группах наблюдения, абс. вел.

№ п/п	Арктическая зона	Критерий оценки, М ± m		
		Норма	Умеренно повышенные	Повышенные
1	Арктика	1,61 ± 0,03	1,8 ± 0,01	2,56
2	Субарктика	1,0 ± 0,07	1,95 ± 0,07	3,31 ± 0,4
p		0,001	0,001	–

значения ОХ зарегистрированы, соответственно, у 60,8% и 24,4%, а высокие — у 37,3% и 33,3% (табл. 3). Пограничные показатели ОХ в группе №2 были ниже, а высокие — не различались.

Нормальный уровень ЛПНП был установлен у 5,9% (№ 1) и 12,0% (№ 2) обследованных лиц, повышенный, соответственно, у 64,7% и 48,0%, высокий — у 29,4% и 40,0% (табл. 4). Значения ЛПНП, выходящие за референтные границы, в группах наблюдения не различались.

Доля лиц, у которых значения ЛПВП были в пределах нормы, в группе № 1 составила 35,3%, выше нормы — у 62,7%, а ниже нормы — меньше 2,0%. В группе № 2 нормальные значения ЛПВП были у 48,3%, выше нормы — у 32,3%, ниже нормы — у 19,4%.

Нормальные значения КА в группе №1 были у 56,8% обследованных лиц, в группе №2 — 29,4%; выше нормы, соответственно, у 43,1% и 70,6% (табл. 5). Нормальные и высокие значения КА статистически не различались.

Низкие значения СРБ в группе №1 были только у 9,8% обследованных лиц, средний уровень наблюдали у 23,5% и высокий — у 66,7%. В группе №2 эти значения составили 0%, 7,7% и 88,5% соответственно (табл. 6).

При определении корреляционных связей между показателями липидного обмена и СРБ был установлена умеренная отрицательная, статистически достоверная связь только с ТГ (табл. 7).

Интересными оказались корреляционные связи между отдельными показателями липидного спектра и коэффициентом атерогенности. Так, между ХО, ЛПНП и

ТГ наблюдали статистически достоверную положительную высокую связь. Однако с ЛПВП она была недостоверной положительной слабой. Триглицериды имели достоверную положительную связь средней силы с ЛПНП. Достоверные связи выявили между КА и ЛПВП (отрицательная, весьма высокая), КА и ЛПНП (умеренной силы, положительная) (табл. 8).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Арктическая зона России включает в себя территории, морские воды, которые определены законодательством России [14]. Общее для нее — влияние на организм экстремальных погодно-климатических условий, которые негативно воздействуют на здоровье, определяя заболеваемость и смертность, работоспособность населения [15–21].

При адаптации приезжих к условиям Севера в системе адаптационных реакций происходит в том числе перестройка липидного обмена организма с развитием дислипидемии. Как показали исследования ряда авторов, уже в первый год пребывания на Севере у жителей регистрируют погранично-высокое и высокое содержание ОХ. В этот период происходит адекватная мобилизация резервов организма, которая проявляется увеличением уровня ЛПВП. Это препятствует атерогенным изменениям. Однако после пяти лет на Севере у приезжих жителей развивается дислипидемия с гиперглицидемией, повышением содержания ОХ и ЛПНП, а уровень ЛПВП

Таблица 3. Характеристика содержания общего холестерина в плазме крови в группах наблюдения, абс. вел.

№ п/п	Арктическая зона	Критерий оценки, М ± m		
		Норма	Пограничный	Высокий
1	Арктика	5,11	5,83 ± 0,04	6,74 ± 0,11
2	Субарктика	4,41 ± 0,15	5,49 ± 0,09	6,64 ± 0,1
p		–	0,011	0,542

Таблица 4. Характеристика содержания липопротеидов низкой плотности в плазме крови в группах наблюдения, абс. вел.

№ п/п	Арктическая зона	Критерий оценки, М ± m		
		Норма	Повышенные	Высокие
1	Арктика	2,8–3,3	3,83 ± 0,04	4,77 ± 0,1
2	Субарктика	1,79–2,36	3,73 ± 0,05	4,86 ± 0,08
p			0,122	0,498

Таблица 5. Характеристика коэффициента атерогенности в группах наблюдения

№ п/п	Арктическая зона	Критерий оценки, $M \pm m$	
		Норма	Выше нормы
1	Арктика	2,56 ± 0,13	4,47 ± 0,2
2	Субарктика	2,68 ± 0,1	4,46 ± 0,16
p		0,729	0,988

Таблица 6. Характеристика С-реактивного белка в группах наблюдения, абс. вел.

№ п/п	Критерий оценки	Арктическая зона, $M \pm m$		p
		Арктика	Субарктика	
1	СРБ по группам	3,41 ± 0,18	4,91 ± 0,22	0,006
2	СРБ низкий	0,87 ± 0,09 (5)	0,86	-
3	СРБ средний	2,0 ± 0,17 (12)	2,45–2,89	-
4	СРБ высокий	4,97 ± 0,15 (34)	5,12 ± 0,12	0,467

снижается по сравнению с данными первого года до 1,4 раза [22, 23].

В нашем исследовании у работающих в Арктической зоне мужчин средний уровень ЛПВП был повышенным на протяжении более длительного времени, чем у приезжих жителей, что свидетельствовало об адекватной мобилизации резервов организма в ответ на влияние условий Севера. При этом в группе №1 доля лиц с таким уровнем ЛПВП была в 1,9 раза больше, а с низким уровнем — в 9,7 раза меньше, что указывает на большую адаптированность работающих в Арктике. Преобладание доли лиц с повышенным содержанием ЛПВП в Арктике по сравнению с Субарктикой — признак большей значимости компенсаторного характера обмена липидов у лиц группы №1, что подтверждается КА.

Дислипидемия связана с повышением риска сердечно-сосудистых событий [24]. Доказана обратная связь между уровнем ЛПВП и риском развития ишемической болезни сердца [25]. ЛПВП влияют на обратный транспорт ОХ из артериальной стенки и периферических тканей в печень, предохраняют ЛПНП от окисления, оказывают противовоспалительное и сосудорасширяющее действия на клетки сосудистой стенки [26]. Таким образом, у значительной доли работающих в условиях Субарктики «защитные функции» ЛПВП были сниженными. Среди причин низкого содержания ЛПВП в плазме крови — недостаточное поступление холестерина с пищей и низкая двигательная активность [27]. Возможно,

низкие показатели ЛПВП были связаны и с влиянием антропогенных загрязнителей окружающей среды, но это заключение требует дальнейшего исследования.

В патогенезе большинства ССЗ атеро- и тромбогенного происхождения лежат как нарушения липидного обмена, так и процессы воспаления; СРБ — ведущий медиатор острой фазы и маркер воспаления [2, 28–30]. Он считается реальным фактором риска сердечно-сосудистых заболеваний, как ОХ и ЛПНП, что расширяет концепцию остаточного риска сердечно-сосудистых воспалений [30]. СРБ откладывается в атеросклеротических бляшках и поврежденных тканях [3, 26, 27]. Чем выше содержание СРБ, тем больше ассоциация с относительным риском возникновения и прогрессирования кардиоваскулярных событий [11–12]. В нашем наблюдении значения СРБ находились в пределах референтных границ. Однако у 90% работающих в Арктике был выявлен риск ССЗ (более чем у 2/3 — высокий), а в условиях Субарктики — у 100,0% (при этом доля лиц с высоким риском была выше на 21,8%).

Проведение корреляционного анализа показало наличие связи СРБ только с ТГ и подтвердило, что СРБ — независимый риск-фактор при ССЗ для здоровья работающих в Арктической зоне.

Таким образом, у работающих в Субарктике риск сердечно-сосудистых заболеваний более выражен, нежели в условиях Арктики. Вероятно, это обусловлено особенностями питания, влияния условий труда и жизни. Необходимы алиментарная коррекция дислипидемии и,

Таблица 7. Корреляции между показателями липидного спектра и СРБ

№ п/п	Показатели спектра липидов – СРБ	Критерий Пирсона	p
1	Общий холестерин	-0,022	0,917
2	Липопротеиды высокой плотности	-0,06	0,675
3	Липопротеиды низкой плотности	-0,081	0,588
4	Триглицериды	-0,453	0,02
5	Коэффициент атерогенности	0,097	0,497

Таблица 8. Корреляционные связи между показателями липидного спектра

№ п/п	Показатель	ЛПВП		ЛПНП		Триглицериды		КА	
		Критерий Пирсона	p	Критерий Пирсона	p	Критерий Пирсона	p	Критерий Пирсона	p
1	Общий холестерин	0,282	0,172	0,837	0,001	0,894	0,001	0,164	0,435
2	Триглицериды	0,129	0,528	0,51	0,008	-	-	0,009	0,986
3	Липопротеиды низкой плотности	-0,155	0,298	-	-	0,51	0,008	0,412	0,004
4	Коэффициент атерогенности	-0,912	0,001	0,412	0,004	0,009	0,966	-	-

возможно, терапевтические вмешательства по снижению уровня СРБ.

Выявление факторов риска ССЗ, в том числе дислипидемии, рекомендовано проводить у мужчин, достигших 40 лет и женщин, достигших 50 лет или после наступления менопаузы [1]. Наше исследование указывает на необходимость проведения оценки липидного спектра и уровня СРБ в связи не с возрастом, а с ходом работ в Арктической зоне, ежегодно в перечне исследований при периодических медицинских обследованиях. Это позволит своевременно корректировать атеросклеротические и воспалительные изменения в организме и снижать риск возникновения ССЗ.

ВЫВОДЫ

В Арктике установлены более высокие значения по триглицеридам ($1,71 \pm 0,03$ и $1,38 \pm 0,14$ ммоль/л, $p = 0,021$), общему холестерину ($6,15 \pm 0,08$ и $5,47 \pm 0,14$ ммоль/л, $p = 0,001$), липопротеидам высокой плотности ($1,5 \pm 0,06$ и $1,1 \pm 0,04$ ммоль/л, $p = 0,001$); равные — по липопротеидам

низкой плотности ($4,07 \pm 0,08$ и $4,1 \pm 0,15$ ммоль/л, $p = 0,88$); менее значимые по коэффициенту атерогенности ($3,41 \pm 0,18$ и $4,18 \pm 0,2$, $p = 0,007$) и С-реактивному белку ($3,41 \pm 0,18$ и $4,91 \pm 0,22$ мг/л, $p = 0,006$) по сравнению с показателями в Субарктике. Дислипидемия у работающих людей в Арктике выявлена по триглицеридам у 49,0%, в Субарктике — у 18,4%, по общему холестерину — у 98,1% и 57,7%, по липопротеинам низкой плотности — у 94,1% и 88,0% соответственно. Липопротеиды высокой плотности ниже нормы, соответственно, у 2,0% и 19,4%, что указывает на более высокий риск сердечных событий в условиях Субарктики. Риск сердечно-сосудистых заболеваний по С-реактивному белку в условиях Арктики — у 90% (средний у 23,5% и высокий — у 66,7%), Субарктики — у 100,0% (средний — у 7,7%, высокий — у 88,5%). Для профилактики сердечно-сосудистых заболеваний и принятия медицинских решений в условиях работ в Арктической зоне исследование липидов и СРБ крови необходимо проводить при каждом периодическом медицинском обследовании независимо от возраста.

Литература

1. Кухарчук В. В., Ежов М. В., Сергиенко И. В., Арабидзе Г. Г., Балахонова Т. В., Гуревич В. С. и др. Клинические рекомендации Евразийской ассоциации кардиологов (ЕАК)/Национального общества по изучению атеросклероза (НОА) по диагностике и коррекции нарушений липидного обмена с целью профилактики и лечения атеросклероза (2020). Евразийский кардиологический журнал. 2020; 2: 6–29. DOI: 10.38109/2225-1685-2020-2-6-29.
2. Уткина Е. А., Афанасьева О. И., Покровский С. Н. С-реактивный белок: патогенетические свойства и возможная терапевтическая мишень. Российский кардиологический журнал. 2021; 26 (6): 4138. DOI: 10.15829/1560-4071-2021-4138.
3. Melnikov IS, Kozlov SG, Saburova OS, Avtaeva YN, Guria KG, Gabbasov ZA. Monomeric C-reactive protein in atherosclerotic cardiovascular disease: advances and perspectives. Int J Mol Sci. 2023; 24 (3): 2079.
4. Avan A, Tavakoly Sany SB, Ghayour-Mobarhan M, Rahimi HR, Tajfard M, Gordon Ferns G. Serum C-reactive protein in the prediction of cardiovascular diseases: Overview of the latest clinical studies and public health practice. J Cell Physiol. 2018; 233 (11): 8508–25. DOI:10.1002/jcp.26791.
5. Shah PK. Inflammation, infection and atherosclerosis. Trends Cardiovasc Med. 2019; 29 (8): 468–72. DOI: 10.1016/j.tcm.2019.01.004.
6. Adukauskienė D, Čiginskienė A, Adukauskaitė A, Pentiokinienė D, Šlapikas R, Čeponienė I. Clinical relevance of high sensitivity C-reactive protein in cardiology Medicina (Kaunas). 2016; 52 (1): 1–10. DOI: 10.1016/j.medic.2015.12.001.
7. Нагибович О. А., Уховский Д. М., Жекалов А. Н. и др. Механизмы гипоксии в Арктической зоне Российской Федерации. Вестник Российской Военно-медицинской академии. 2016; 2 (54): 202–5.
8. Севостьянов Е. В. Особенности липидного и углеводного метаболизма человека на Севере (обзор литературы). Бюллетень сибирской медицины. 2013; 12 (1): 93–100.
9. Куркатов С. В., Тихонова И. В., Иванова О. Ю. Оценка риска воздействия атмосферных загрязнений на здоровье населения г. Норильска. Гигиена и санитария. 2015; 94 (2): 28–31.
10. Ревич Б. А. Риски здоровью населения в «горячих точках» от химического загрязнения Арктического макрорегиона. Проблемы прогнозирования. 2020; 2: 148–57.
11. Хазова Е. В., Булашова О. В., Амиров Н. Б. Нужно ли определять высокочувствительный С-реактивный белок у пациентов с хронической сердечной недостаточностью: клинические и прогностические аспекты. Вестник современной клинической медицины. 2022; 15 (4): 54–9. DOI: 10.20969/VSKM.2022.
12. Kramer F, Voss S, Roessig L, et al. Evaluation of high sensitivity C-reactive protein and uric acid in vericiguat-treated patients with heart failure with reduced ejection fraction. Eur J Heart Fail. 2020; 22 (9): 1675–83. DOI: 10.1002/ejhf.1787.
13. Постановление Правительства РФ от 29.12.2007 № 946 (ред. от 18.09.2020) «О продовольственном обеспечении военнослужащих и некоторых других категорий лиц, а также об обеспечении кормами (продуктами) штатных животных воинских частей и организаций в мирное время».
14. Федеральный закон от 13.07.2020 №193-ФЗ «О государственной поддержке предпринимательской деятельности в Арктической зоне Российской Федерации».
15. Гридин Л. А., Шишков А. А., Дворников М. В. Особенности адаптационных реакций человека в условиях Крайнего Севера. Здоровье населения и среда обитания. 2014; 4 (253): 4–6.
16. Депутат И. С., Дерябина И. Н., Нехорошкова А. Н., Грибанов А. В. Влияние климатоэкологических условий Севера на процессы старения. Журн. мед.-биол. исследований. 2017; 5 (3): 5–17.
17. Чащин В. П., Гудков А. Б., Чащин М. В., Попова О. Н. Предиктивная оценка индивидуальной восприимчивости организма человека к опасному воздействию холода. Экология человека. 2017; 5: 3–13.
18. Полякова Е. М., Чащин В. П., Мельцер А. В. Факторы риска нарушений здоровья у работников нефтедобывающего предприятия, занятых выполнением трудовых операций на открытой территории в холодный период года. Анализ риска здоровью. 2019; 4: 84–92.
19. Полякова Е. М., Мельцер А. В. Сравнительный анализ состояния здоровья работников, выполняющих трудовые операции на открытой территории в холодный период года, по результатам анкетирования. Профилактическая и клиническая медицина. 2019; 4 (73): 35–44.
20. Morris DM, Pilcher JJ, Powell RB. Task-dependent cold stress during expeditions in Antarctic environments. Int J Circumpolar Health. 2017; 76 (1): 1379306. DOI:10.1080/22423982.2017.1379306.
21. Гудков А. Б., Попова О. Н., Небученных А. А., Богданов М. Ю. Эколого-физиологическая характеристика климатических

- факторов Арктики. Обзор литературы. Морская медицина. 2017; 3 (1): 7–13.
22. Панин Л. Е. Обмен липопротеинов и атеросклероз. Бюллетень СО РАМН. 2006; 2 (120): 15–22.
 23. Кривошапкина З. Н., Миронова Г. Е., Семёнова Е. И., Олесова Л. Д., Яковлева А. И. Показатели липидного обмена у пришлых жителей Якутии в зависимости от сроков проживания на Севере. Якутский медицинский журнал. 2018; 2: 28–30. DOI: 10.25789/YMJ.2018.62.09.
 24. Гуревич В. С., Козиолова Н. А., Ежов М. В., Сергиенко И. В., Алиева А. С., Вавилова Т. В. и др. Нерешенные проблемы дислипидемии и резидуального сердечно-сосудистого риска. Атеросклероз и дислипидемии. 2022; 1 (46): 31–9. DOI: 10.34687/2219-8202.JAD.2022.01.0003.
 25. Потеряева О. Н., Усынин И. Ф. Дисфункциональные липопротеины высокой плотности при сахарном диабете 2 типа. Проблемы эндокринологии. 2022; 68 (4): 69–77. DOI: 10.14341/probl13118.
 26. Wong N, Nicholls S, Tan J, Bursill C. The role of high-density lipoproteins in diabetes and its vascular complications. *Int J Mol Sci.* 2018; 19 (6): 1680. DOI: 10.3390/ijms19061680.
 27. Агейкин А. В., Алмакаева А. Д. Липопротеиды высокой плотности как главный антиатерогенный фактор развития атеросклероза. Молодой ученый. 2015; 1 (81): 139–41.
 28. Yousuf O, Mohanty BD, Martin SS, Joshi PH, Blaha MJ, Nasir K, et al. High-sensitivity C-reactive protein and cardiovascular disease: a resolute belief or an elusive link? *J Am Coll Cardiol.* 2013; 62 (5): 397–408. DOI: 10.1016/j.jacc.2013.05.016.
 29. Denegri A, Boriani G. High Sensitivity C-reactive Protein (hsCRP) and its Implications in Cardiovascular Outcomes. *Curr Pharm Des.* 2021; 27 (2): 263–75. DOI: 10.2174/138161282666200717090334.
 30. Boncler M, Wu Y, Watala C. The Multiple Faces of C-Reactive Protein-Physiological and Pathophysiological Implications in Cardiovascular Disease. *Molecules.* 2019; 24 (11): 2062. DOI: 10.3390/molecules24112062.

References

1. Kukharchuk VV, Ezhov MV, Sergienko IV, Arabidze GG, Balakhonova TV, Gurevich VS, et al. Eurasian Association of Cardiology (EAC)/ Russian National Atherosclerosis Society (RNAS) Guidelines for the diagnosis and correction of dyslipidemia for the prevention and treatment of atherosclerosis (2020). *Eurasian heart journ.* 2020; 2: 6–29. DOI: 10.38109/2225-1685-2020-2-6-29. (Russian).
2. Utkina EA, Afanasyeva OI, Pokrovsky SN. C-reactive protein: pathogenetic characteristics and possible therapeutic target. *Russian Journal of Cardiology.* 2021; 26 (6): 4138. DOI: 10.15829/1560-4071-2021-4138. (Russian).
3. Melnikov IS, Kozlov SG, Saburova OS, Avtaeva YN, Guria KG, Gabbasov ZA. Monomeric C-reactive protein in atherosclerotic cardiovascular disease: advances and perspectives. *Int J Mol Sci.* 2023 Jan 20; 24 (3): 2079.
4. Avan A, Tavakoly Sany SB, Ghayour-Mobarhan M, Rahimi HR, Tajfard M, Gordon Ferns G. Serum C-reactive protein in the prediction of cardiovascular diseases: Overview of the latest clinical studies and public health practice. *J Cell Physiol.* 2018; 233 (11): 8508–25. DOI:10.1002/jcp.26791.
5. Shah PK. Inflammation, infection and atherosclerosis. *Trends Cardiovasc Med.* 2019; 29 (8): 468–72. DOI: 10.1016/j.tcm.2019.01.004.
6. Adukauskienė D, Čiginskienė A, Adukauskaitė A, Pentiokinienė D, Šlapikas R, Čeponienė I. Clinical relevance of high sensitivity C-reactive protein in cardiology *Medicina (Kaunas).* 2016; 52 (1): 1–10. DOI: 10.1016/j.medici.2015.12.001.
7. Nagibovich OA, Ukhovskiy DM, Zhekalov AN, et al. Mechanisms of hypoxia in Arctic zone of Russian Federation. *Bulletin Of The Russian Military Medical Academy.* 2016; 2 (54): 202–5. (Russian).
8. Sevostyanova YV. Some features of human lipid and carbohydrate metabolism in the North. *Bulletin of Siberian Medicine.* 2013; 12 (1): 93–100. (Russian).
9. Kurkatov SV, Tikhonova IV, Ivanova OYu. Assessment of the risk of environmental atmospheric pollutants for the health of the population of the city of Norilsk. *Hygiene and Sanitation.* 2015; 94 (2): 28–31. (Russian).
10. Revich BA. Riski zdorov'yu naseleniya v «goryachikh tochkakh» ot khimicheskogo zagryazneniya Arkticheskogo makroregiona. *Problemy prognozirovaniya.* 2020; 2: 148–57. (Russian).
11. Hazova EV, Bulashova OV, Amirov NB. Is it necessary to determine highly sensitive C-reactive protein in patients with chronic heart failure: clinical and prognostic aspects. *Bulletin of contemporary clinical medicine.* 2022; 15 (4): 54–9. DOI: 10.20969/VSKM.2022. (Russian).
12. Kramer F, Voss S, Roessig L, et al. Evaluation of high sensitivity C-reactive protein and uric acid in vericiguattreated patients with heart failure with reduced ejection fraction. *Eur J Heart Fail.* 2020; 22 (9): 1675–83. DOI: 10.1002/ehfj.1787.
13. Postanovlenie Pravitel'stva RF ot 29.12.2007 № 946 (red. ot 18.09.2020) «O prodovol'stvennom obespechenii voennosluzhashchikh i nekotorykh drugih kategoriy lits, a takzhe ob obespechenii kormami (produktami) shtatnykh zhivotnykh voinskikh chastey i organizatsiy v mirnoe vremya». (Russian).
14. Federal'nyy zakon ot 13.07.2020 №193-FZ «O gosudarstvennoy podderzhke predprinimatel'skoy deyatel'nosti v Arkticheskoy zone Rossyskoy Federatsii». (Russian).
15. Gridin LA, Shishov AA, Dvornikov MV. Features adaptation reactions of human in Far North. *Public Health and Life Environment.* 2014; 4 (253): 4–6. (Russian).
16. Deputat IS, Deryabina IN, Nekhoroshkova AN, Griбанov AV. Effect of Climatic and Ecological Conditions of the North on Ageing Processes. *Journal of Medical and Biological Research.* 2017; 5 (3): 5–17. (Russian).
17. Chashchin VP, Gudkov AB, Chashchin MV, Popova ON. Predictive Assessment of Individual Human Susceptibility to Damaging Cold Exposure. *Human Ecology.* 2017; 5: 3–13. (Russian).
18. Polyakova EM, Chashchin VP, Meltser AV. Risk factors causing health disorders among workers involved in oil extraction and performing their working tasks outdoors during a cold season. *Health Risk Analysis.* 2019; 4: 84–92. (Russian).
19. Polyakova EM, Meltser AV. Comparative analysis of health status of employees working in an open territory in t cold period of the year according to questionnaire results. *Preventive and clinical medicine* 2019; 4 (73): 35–44. (Russian).
20. Morris DM, Pilcher JJ, Powell RB. Task-dependent cold stress during expeditions in Antarctic environments. *Int J Circumpolar Health.* 2017; 76 (1): 1379306. DOI:10.1080/22423982.2017.1379306.
21. Gudkov AB, Popova ON, Nebuchennyh AA, Bogdanov MYu. Ecological and physiological characteristic of the Arctic climatic factors. *Review. Marine medicine.* 2017; 3 (1): 7–13. (Russian).
22. Panin LE. Lipoprotein metabolism and atherosclerosis. *The Siberian Scientific Medical Journal.* 2006; 2 (120): 15–22. (Russian).
23. Krivoshapkina ZN, Mironova GE, Semenova EI, Olesova LD, Yakovleva AI. Pokazateli lipidnogo obmena u prishlykh zhitel'ey Yakutii v zavisimosti ot srokov prozhivaniya na Severe. *Yakutskiy meditsinskiy zhurnal.* 2018; 2: 28–30. DOI: 10.25789/YMJ.2018.62.09. (Russian).
24. Gurevich VS, Koziolova NA, Ezhov MV, Sergienko IV, Alieva AS, Vavilova TV, et al. Unsolved problems of dyslipidemia and residual cardiovascular risk. *The Journal of Atherosclerosis and Dyslipidemias.* 2022; 1 (46): 31–9. DOI: 10.34687/2219-8202.JAD.2022.01.0003. (Russian).
25. Poteryaeva ON, Usynin IF. Dysfunctional high-density lipoproteins in diabetes mellitus. *Problems of endocrinology.* 2022; 68 (4): 69–77. DOI: 10.14341/probl13118. (Russian).
26. Wong N, Nicholls S, Tan J, Bursill C. The role of high-density lipoproteins in diabetes and its vascular complications. *Int J Mol Sci.* 2018; 19 (6): 1680. DOI: 10.3390/ijms19061680.

27. Ageykin AV, Almakaeva AD. Lipoproteidy vysokoy plotnosti kak glavnyy antiaterogennyy faktor razvitiya ateroskleroza. *Molodoy uchenyy*. 2015; 1 (81): 139–41. (Russian).
28. Yousuf O, Mohanty BD, Martin SS, Joshi PH, Blaha MJ, Nasir K, et al. High-sensitivity C-reactive protein and cardiovascular disease: a resolute belief or an elusive link? *J Am Coll Cardiol*. 2013; 62 (5): 397–408. DOI: 10.1016/j.jacc.2013.05.016.
29. Denegri A, Boriani G. High Sensitivity C-reactive Protein (hsCRP) and its Implications in Cardiovascular Outcomes. *Curr Pharm Des*. 2021; 27 (2): 263–75. DOI: 10.2174/1381612826666200717090334.
30. Boncler M, Wu Y, Watala C. The Multiple Faces of C-Reactive Protein-Physiological and Pathophysiological Implications in Cardiovascular Disease. *Molecules*. 2019; 24 (11): 2062. DOI: 10.3390/molecules24112062.

ИССЛЕДОВАНИЕ БИОРАСПРЕДЕЛЕНИЯ БИМЕДИЦИНСКОГО КЛЕТОЧНОГО ПРОДУКТА НА ОСНОВЕ ХОНДРОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА ПРИ ИМПЛАНТАЦИИ МЫШАМ ЛИНИИ BALB/C NUDE

А. С. Пикина¹✉, П. А. Голубинская¹, Е. С. Ручко², Е. В. Коженевская³, А. Д. Поспелов³, А. А. Бабаев³, А. В. Еремеев^{1,2}

¹ Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины имени Ю. М. Лопухина, Москва, Россия

² Институт биологии развития имени Н. К. Кольцова Российской Академии Наук, Москва, Россия

³ Нижегородский государственный университет имени Н. И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия

Несмотря на перспективность подхода клеточной терапии поврежденных хряща человека с помощью аутологичных хондроцитов, подобные технологии только начинают внедрять в медицинскую практику в Российской Федерации. В связи с этим разработка биомедицинских клеточных продуктов (БМКП) для восстановления хрящевой ткани достаточно актуальна, а использование органоидных технологий наиболее приближено к условиям нативной ткани. Согласно требованиям законодательства РФ, в рамках доклинических исследований необходимо изучение биораспределения, характеризующего миграционный потенциал клеток, их тропность к тканям организма при имплантации. Целью работы было исследовать биораспределение нового БМКП на основе хондроцитов человека в виде хондросфер после подкожной имплантации мышам линии Balb/c nude. На первом этапе осуществляли имплантацию 12 мышам, а также введение физиологического раствора 12 контрольным животным. В течение 90 дней проводили взвешивание и наблюдение, а затем выводили мышей из эксперимента для получения образцов органов и тканей для гистологического анализа импланта, оценки его состоятельности, интеграции. На втором этапе изучали биораспределение методом ПЦР для выявления ДНК человека в образцах тканей и органов. Хондросферы успешно интегрировались в окружающие ткани зоны инокуляции, формировали хрящевую ткань. Статистически значимых ($p < 0,05$) изменений в весе не зафиксировали. В образцах из зоны имплантации хондросфер была выявлена ДНК человека, которую не обнаруживали в других органах и тканях. БМКП через 90 дней после имплантации демонстрировал отсутствие биораспределения в другие ткани и органы мышей, что свидетельствует о безопасности разрабатываемого продукта.

Ключевые слова: биомедицинский клеточный продукт, хондроциты, биораспределение, доклинические исследования, хондросферы

Финансирование: научное исследование проведено в рамках государственного задания «Хондросфера», номер государственного учета НИОКТР АААА-А19-119052890054-4.

Благодарности: авторы выражают свою признательность научным сотрудникам лаборатории клеточной биологии ФГБУ ФНКЦ ФХМ ФМБА за методологическую поддержку в процессе исследования.

Вклад авторов: А. С. Пикина — обзор литературы, сбор и анализ литературных источников, написание текста статьи; П. А. Голубинская — получение и анализ данных, редактирование текста статьи; Е. С. Ручко — получение и анализ данных; Е. В. Коженевская — проведение работ в виварии; А. Д. Поспелов — гистологический анализ; А. А. Бабаев — курация экспериментальной части на животных; А. В. Еремеев — дизайн эксперимента, финальная корректировка текста статьи. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE.

Соблюдение этических стандартов: исследование было одобрено Комиссией по биоэтике Нижегородского государственного университета имени Н. И. Лобачевского (протокол № 73 от 17 апреля 2023 г.).

✉ **Для корреспонденции:** Арина Сергеевна Пикина
ул. Малая Пироговская, д. 1а, г. Москва, 119435, Россия; arina.pikina@yandex.ru

Статья получена: 05.11.2023 **Статья принята к печати:** 17.12.2023 **Опубликована онлайн:** 31.12.2023

DOI: 10.47183/mes.2023.057

ASSESSING BIODISTRIBUTION OF BIOMEDICAL CELLULAR PRODUCT BASED ON HUMAN CHONDROCYTES FOLLOWING IMPLANTATION TO BALB/C NUDE MICE

Pikina AS¹✉, Golubinskaya PA¹, Ruchko ES², Kozhenevskaya EV³, Pospelov AD³, Babayev AA³, Ereemeev AV^{1,2}

¹ Lopukhin Federal Research and Clinical Center of Physical-Chemical Medicine of Federal Medical Biological Agency, Moscow, Russia

² Koltzov Institute of Developmental Biology of Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

³ Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod, Nizhny Novgorod, Russia

Despite the prospects of the approach to cell therapy of cartilage damage in humans involving autologous chondrocytes, similar technologies are just beginning to be introduced into medical practice in the Russian Federation. In this regard, the development of biomedical cell products (BCPs) for cartilage tissue repair is quite topical, while the use of organoid technology is the most close to the native tissue conditions. According to requirements of legislation of the Russian Federation, it is necessary to assess biodistribution characterizing migration potential of the cells, their tropism for body tissues following implantation within the framework of preclinical trials. The study was aimed to assess biodistribution of novel BCP based on human chondrocytes in the form of chondrospheres after subcutaneous implantation in Balb/c nude mice. Implantation to 12 mice was performed during the first phase, along with administration of saline to 12 control animals. Weighting and follow-up were conducted for 90 days. Then mice were withdrawn from the experiment to collect samples of organs and tissues for histological analysis of the implant, estimation of its viability, integration. During the second phase biodistribution was assessed by PCR in order to detect human DNA in the organ and tissue samples. Chondrospheres successfully integrated in the tissues surrounding the inoculation zones and formed cartilage tissue. No significant ($p < 0.05$) changes in weight were reported. No human DNA found in chondrosphere implantation zones was detected in the samples collected from other organs and tissues. BCP demonstrated no biodistribution across other tissues and organs of mice 90 days after implantation, which suggested that the product developed was safe.

Keywords: biomedical cellular product, chondrocytes, biodistribution, preclinical trials, chondrospheres

Funding: the study was performed under the State Assignment "Chondrosphere", R&D project ID АААА-А19-119052890054-4.

Acknowledgments: the authors express their gratitude to the research staff of the laboratory of cell biology, Lopukhin Federal Research and Clinical Center of Physical-Chemical Medicine of FMBA of Russia, for methodological support provided during the study.

Author contribution: Pikina AS — literature review, literature source collection and analysis, manuscript writing; Golubinskaya PA — data acquisition and analysis, manuscript editing; Ruchko ES — data acquisition and analysis; Kozhenevskaya EV — carrying out work at the vivarium; Pospelov AD — histological analysis; Babayev AA — animal experiment management; Ereemeev AV — experimental design, final correction of the manuscript. All authors confirm compliance of authorship to ICMJE international criteria.

Compliance with the ethical standards: the study was approved by the Bioethics Commission of the Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod (protocol № 73 dated 17 April 2023).

✉ **Correspondence should be addressed:** Arina S. Pikina
Malaya Pirogovskaya, 1a, Moscow, 119435, Russia; arina.pikina@yandex.ru

Received: 05.11.2023 **Accepted:** 17.12.2023 **Published online:** 31.12.2023

DOI: 10.47183/mes.2023.057

Достижения последних лет в разработке различных подходов клеточной терапии повреждений хрящевой ткани позволяют лечить некоторые патологии суставов, в том числе связанные с многофакторными поражениями хряща человека [1]. Имплантация аутологичных хондроцитов считается достаточно успешным и многообещающим методом лечения повреждений хрящевой ткани с минимальным риском нежелательных явлений [2]. Принцип этой процедуры заключается в масштабировании и культивировании хондроцитов, полученных из биоптата неповрежденного участка суставного хряща пациента, а затем — пересадке клеток непосредственно в дефект [2]. С момента первого описания имплантации аутологичных хондроцитов в поврежденный участок суставного хряща человека интерес исследователей к клеточной терапии только возрастал [3], и в течение десятилетия появлялись новые методы модификации и оптимизации данного подхода [1]. Использование биомедицинских клеточных продуктов (БМКП) на основе аутологичных хондроцитов демонстрировало преимущество в эффективности по отношению к более традиционным методам — артроскопической санации или микроповреждениям [4–7]. На сегодняшний день ряд БМКП проходит доклинические или клинические испытания разных фаз [1, 2, 6, 8, 9], и несколько продуктов одобрены к применению для терапии очаговых поражений хряща человека [11–14].

Большими преимуществами по сравнению с другими разновидностями БМКП для терапии дефектов суставного хряща обладают сфероиды, которые представляют собой трехмерные структуры, образованные в результате самоагрегации клеток в определенных условиях культивирования [15]. Так, 3D-условия благоприятно сказываются на пролиферативной активности и фенотипической стабильности зрелых хондроцитов [9]. В отличие от суспензии аутологичных хондроцитов, которые становятся способными к выработке внеклеточного матрикса (ВКМ) только через определенное время после трансплантации, клетки в составе сфероидов способны к секреции компонентов ВКМ еще на этапе культивирования [16, 17]. Кроме того, аутологичные сфероиды не требуют использования посторонних биоматериалов, легко интегрируются в ткань в зоне повреждения, а после имплантации отсутствует необходимость в системной иммуносупрессии [15]. В совокупности перечисленные свойства сфероидных БМКП могут способствовать качественному заполнению дефекта хрящевой ткани. Таким образом, эффективность сфероидов на основе аутологичных хондроцитов была продемонстрирована на животных моделях [17], в клинических исследованиях [18, 19]. Сфероидные БМКП показали значительно больший терапевтический эффект с точки зрения структурного восстановления дефекта хряща по сравнению с процедурой микроповреждений [6, 7].

Один из одобренных на мировом рынке препаратов клеточной терапии восстановления дефектов суставного хряща человека — Spherotm (Co.don; Германия) — представляет собой сфероидный БМКП. На данный момент компания ОА «Генериум» по лицензии Co.don производит этот препарат и завершает III фазу клинических исследований в РФ [10]. В это же время аналогов подобных БМКП в Российской Федерации не представлено. Таким образом, единственный продукт, представляющий собой, по сути, трансфер технологии компании Co.don, в настоящее время проходит клинические исследования на территории РФ. Учитывая оптимистичные результаты

исследований зарубежных партнеров в области клеточной терапии, развитие и внедрение подобных технологий в исследовательскую и медицинскую практику в РФ представляется очень актуальным.

Основная задача работ с БМКП заключается в поддержании эффективности и соответствии критическим параметрам качества для обеспечения безопасности и ожидаемого эффекта, что необходимо спрогнозировать еще до начала клинических исследований. Поэтому БМКП, как и другие лекарственные препараты, должны отвечать строгим требованиям для одобрения регулирующими органами с целью дальнейших исследований и реализации [8]. Для этого необходимы разработка и проведение соответствующих методов анализа для оценки клеточного продукта до и после имплантации в рамках доклинических испытаний [19, 20]. Так, перед началом доклинических исследований над животными требуется выявить основные факторы риска, такие как туморогенность, онкогенность и биораспределение [21].

Биораспределение — один из важных критериев безопасности, характеризующий миграционный потенциал клеток в составе БМКП после имплантации, способность к образованию эктопической ткани и персистенции в/вне зоне(ы) введения [9, 22–24]. Оценку биораспределения обычно проводят на животных моделях с иммунодефицитом, при этом предпочтительна подкожная имплантация ввиду ее меньшей инвазивности [24]. Поскольку тестируемый продукт по своим свойствам должен быть максимально приближен к финальному варианту БМКП или даже идентичен ему, для оценки биораспределения также желательно избегать применения флуоресцентных меток или каких-либо других подходов, потенциально вносящих изменения в структуру и свойства продукта [8].

Целью настоящего исследования было изучение биораспределения разработанного нами сфероидного БМКП «Хондросфера», предназначенного для терапии поражений суставного хряща у человека, после подкожной имплантации иммунодефицитным мышам линии Balb/c Nude.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Нормативное регулирование

Настоящая работа представляет собой доклиническое исследование нового БМКП и проводилась согласно требованиям действующих нормативных регуляторов [21, 25–27]. Исследование осуществляли согласно утвержденному письменному плану и в соответствии со Стандартными операционными процедурами. Персонал, участвующий в эксперименте, обучен правильному и гуманному обращению с лабораторными животными.

Сфероидные БМКП

Исследуемые БМКП представляли собой 3D-культуру сфероидов на основе хондроцитов человека и были получены с использованием планшета с микролунками Aggre Well 800 (STEMCELL Technologies; Канада) по протоколу производителя. Количество клеток, приходившееся на одну микролунку планшета, составляло $4\text{--}5 \times 10^3$. Полученные сфероиды (клеточный или тканеинженерный продукт имеет название «Хондросфера») культивировали в мини-биореакторах на орбитальном 3D-шейкере (Infors HT; Швейцария) при 37°C и 5% CO_2 [28]. В качестве питательной среды использовали Advanced DMEM (Gibco, Thermo

Таблица 1. Используемые в работе праймеры

Название	Последовательность 5'→3'	Длина продукта
mActb-F	GAT GCA CAG TAG GTC TAA GTG GAG	121
mActb-R	CAC TCA GGG CAG GTG AAA CT	
CO1-F	CAA CCT CAA CAC CAC CTT C	269
CO1-R	CTC GTG TGT CTA CGT CTA TTC	

Fisher Scientific; США) с добавлением 10 нг/мл bFGF (STEMCELL Technologies; Канада), 100x GlutaMAX (Gibco, Thermo Fisher Scientific; США), 50x B27 (Gibco, Thermo Fisher Scientific; США), 1% инсулин-трансферрин-селенита (ИТС) («ПанЭко»; Россия), 50 мкг/мл аскорбиновой кислоты (Sigma Aldrich; США), 50 мкМ β-меркаптоэтанола, 50 мкг/мл плазмоцина, гентамицина («ПанЭко»; Россия) и 10 мл/л 100x-раствора пенициллина/стрептомицина («ПанЭко»; Россия). Культивирование сфероидов проводили в течение 28 суток, смену среды осуществляли раз в 4 суток.

Дизайн эксперимента

В проведенном исследовании безопасности была выбрана инбредная линия мышей Balb/c Nude с иммунодефицитом. БМКП вводили животным ($n = 12$; 6 самок, 6 самцов) подкожно однократно в область головы в одной дозе в виде пяти сфероидов в физиологическом растворе (группы 1 и 2). Дополнительно 12 мышей (6 самцов и 6 самок) использовали в качестве контрольных животных, которым подкожно в голову вводили 50 мкл физиологического раствора (группы 3 и 4). В течение эксперимента регулярно проводили взвешивание животных, а также измеряли размер инокулята в зоне имплантации. Через 90 календарных дней после введения 12 самок и 12 самцов были подвергнуты эвтаназии декапитацией под ингаляционным наркозом. Затем были извлечены образцы следующих органов и тканей: лимфатические узлы, щитовидная железа, аорта, сердце, легкие, тимус, пищевод, желудок, поджелудочная железа, тонкий кишечник, толстый кишечник, печень, селезенка, почки, мочевого пузыря, надпочечники, головной мозг, семенники, яичники, место введения, кровь, опухоль.

Умерщвленное животное обрабатывали 96% этанолом, все последующие этапы изъятия органов проводили в ламинарном боксе в асептических условиях.

Гистологический анализ

Фиксацию материала проводили в 10% формалине Histosafe (BioVitrum; Россия) в течение 24 ч, затем отмывали от избытков фиксатора под проточной водой 20 мин и пятикратно обезвоживали с помощью модифицированного изопропилового спирта «Блик» («БликМедиклПродакшн»; Россия). Далее образцы заключали в парафин. Гистологические срезы толщиной 4–5 мкм изготавливали на микротоме Microm HM325 (Microm; Германия). Депарафинизацию проводили по схеме: ксилол № 1 — 2 мин, ксилол № 2 — 2 мин, этанол 96% № 1 — 2 мин, этанол 96% № 2 — 2 мин, этанол 70% — 2 мин, дистиллированная вода — 2 мин. Гистологические срезы окрашивали гематоксилин-эозином (Гематоксилин Майера, эозин 1% водный раствор (BioVitrum; Россия)). Полученные препараты исследовали с помощью микроскопа Levenhuk 625 («Левенгук»; Россия).

Выделение геномной ДНК

Для выделения геномной ДНК из органов мышей и капиллярной крови человека, которую использовали в качестве положительного контроля человеческой ДНК, применяли набор «M-CORB-OOM» («Синтол»; Россия) согласно рекомендациям производителя. Для выделения использовали 10–20 мг фрагментов органов или 10–20 мкл капиллярной крови. В качестве отрицательного контроля использовали пробы без образцов органов и тканей. Элюцию геномной ДНК проводили в объеме 400 мкл элюирующего буферного раствора. Конечный объем раствора с выделенной геномной ДНК составил 400 мкл.

Полимеразная цепная реакция (ПЦР)

ПЦР проводили на термоциклере для амплификации нуклеиновых кислот CFX96 Touch (Bio-Rad; США) с использованием готовой смеси для ПЦР 5X Screen Mix («Евроген»; Россия) согласно инструкции производителя. В реакции использовали праймеры, специфичные к генам цитохром С оксидазы 1 (CO1), для обнаружения ДНК человека и бета-актина, специфичного для мыши (mActb), для определения мышинной ДНК (табл. 1).

Амплификацию проводили по следующему протоколу:

- 1) 95 °C — 5 мин;
- 2) 95 °C — 15 с;
- 3) 58 °C — 15 с;
- 4) 72 °C — 30 с.

Этапы 2, 3 и 4 повторяли 40 циклов.

Электрофорез в агарозном геле

Электрофорез ДНК проводили в 1%-м агарозном геле в буфере Tris-Acetate-EDTA (TAE) в камере для горизонтального электрофореза (Biorad; США). Для визуального детектирования продуктов амплификации применяли 0,5 мкг/мл бромистого этидия. Напряжение было выставлено на 120 В, время проведения электрофореза составляло 20 мин. Детекцию продуктов амплификации проводили в ультрафиолете с применением трансиллюминатора (Vilber; Германия).

Статистический анализ

Полученные результаты измерения массы испытуемых животных обрабатывали с помощью пакетов прикладных программ Microsoft Excel (Microsoft; США) и SPSS Statistics 17.0 (IBM; США). Для проверки нормального распределения признака применяли тест Шапиро-Уилка. В качестве метода сравнения использован U-тест Манна-Уитни. При множественных сравнениях применяли поправку Бонферрони. Различия между группами считали статистически достоверными при уровне значимости $p < 0,05$. Для построения графиков

использовали программное обеспечение GraphPad Prism (Dotmatics; США).

Действия с остатками БМКП

Незадействованные в эксперименте БМКП подвергали предварительному автоклавированию и утилизировали как отходы класса Б.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Морфометрический анализ

При регулярном взвешивании в течение 90 суток статистически значимых различий по весу животных не выявлено при сравнении групп, получавших БМКП, и контрольных групп (рис. 1).

Общеклиническое состояние животных опытных и контрольных групп не отличалось. Животные сохраняли активность и нормальное пищевое поведение.

Гистологический анализ

В результате гистологического окрашивания образцов ткани из зоны имплантации БМКП наблюдали стабильную хрящевую ткань с большим количеством хондроцитов и образованием лакун (рис. 2). Миграция клеток из зоны имплантации была минимальной.

Детекция ДНК человека в тканях и органах мыши

При анализе образцов цельной крови, образцов тканей и органов мышей ДНК человека была обнаружена только в области закала хондросфер (табл. 2). В остальных тканях и органах самцов и самок мышей следов анализируемого БМКП не было обнаружено ($LOQ < 0,001$ нг ДНК). Таким образом, характер биораспределения БМКП оптимален для рекомендованного пути введения.

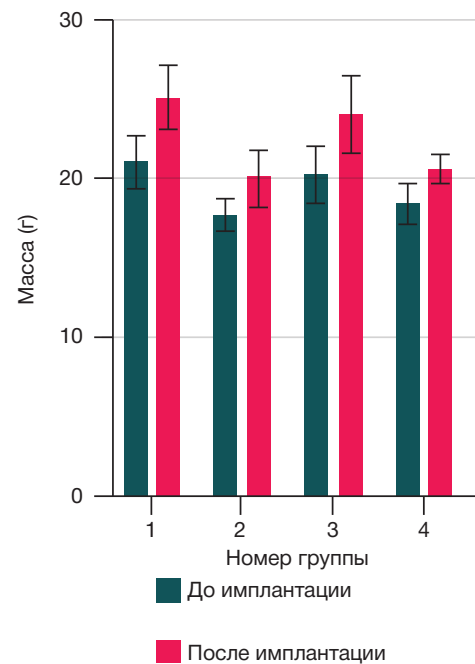


Рис. 1. Изменение массы тела экспериментальных животных по группам до и после эксперимента. 1, 2 — группы самцов и самок, которым имплантировали БМКП, $n = 12$; 3, 4 — группы самцов и самок, которым подкожно вводили физиологический раствор, $n = 12$. * — статистически значимые различия внутри групп исследования, $p < 0,05$

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Получение трехмерных сферических БМКП на основе аутологичных хондроцитов человека с помощью органоидной технологии представляется достаточно перспективным направлением в создании продуктов для клеточной терапии объемных очаговых дефектов гиалинового хряща [28]. Несмотря на то что разрабатываемый нами продукт аналогичен по составу продукту компании АО «Генериум», его получают по

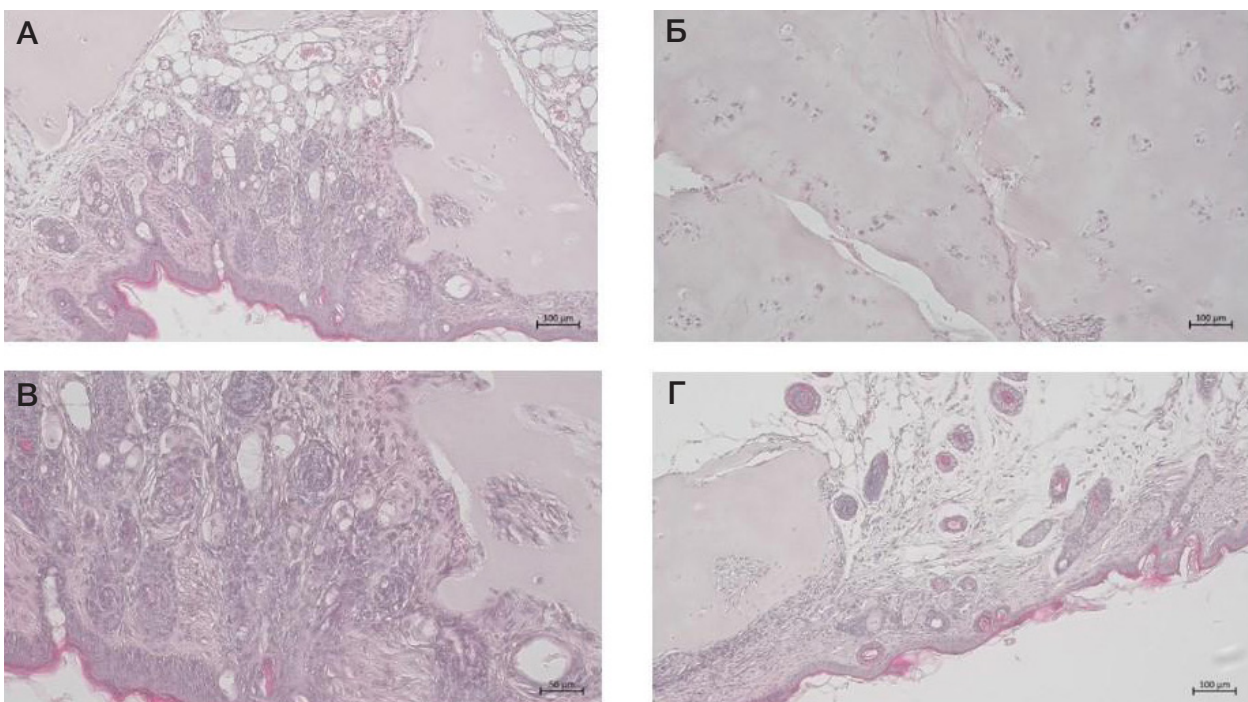


Рис. 2. Хондросферы в тканях мыши через 90 суток после имплантации. Окрашивание гематоксилин-эозином. Увеличение — 10х. Масштабный отрезок — 100 мкм

Таблица 2. Детекция ДНК человека

Орган/ткань	Номер группы (n = 24)			
	1	2	3	4
Лимфатические узлы	-----	-----	-----	-----
Щитовидная железа	-----	-----	-----	-----
Аорта	-----	-----	-----	-----
Сердце	-----	-----	-----	-----
Легкие	-----	-----	-----	-----
Тимус	-----	-----	-----	-----
Пищевод	-----	-----	-----	-----
Желудок	-----	-----	-----	-----
Поджелудочная железа	-----	-----	-----	-----
Тонкий кишечник	-----	-----	-----	-----
Печень	-----	-----	-----	-----
Селезенка	-----	-----	-----	-----
Почки	-----	-----	-----	-----
Мочевой пузырь	-----	-----	-----	-----
Надпочечники	-----	-----	-----	-----
Головной мозг	-----	-----	-----	-----
Семенники	-----	-----	-----	-----
Яичники	-----	-----	-----	-----
Место введения	++++++	++++++	-----	-----
Кровь	-----	-----	-----	-----
Опухоль	-----	-----	-----	-----

Примечание: были получены качественные данные, имеющие положительное значение (наличие человеческой ДНК) для образцов, обозначенных «+»; 1, 2 — группы, получавшие БМКП; 3, 4 — группы, получавшие физиологический раствор.

модифицированной технологии, что требует тестирования безопасности. Согласно существующим нормативам, исследование фармакокинетики БМКП включает анализ биораспределения, которое характеризует миграционный потенциал клеток в составе конструкта [27]. Ранее исследователи продукта Spherox™ в рамках регистрационных мероприятий после консультации с регулятором проводили исследование биораспределения своей разработки при имплантации иммунодефицитным животным [8]. Проведенный с помощью ПЦР анализ показал отсутствие человеческой ДНК в тканях и органах, удаленных от зоны подкожной имплантации. Таким образом, в рамках тестирования безопасности проведение исследования биораспределения БМКП, предназначенного для имплантации человеку, представляется целесообразным с помощью указанного подхода.

Цель нашего исследования состояла в изучении биораспределения разработанного сфероидного БМКП для терапии поражений суставного хряща человека на иммунодефицитных мышах. Насколько нам известно, это первое масштабное доклиническое исследование БМКП на основе аутологических хондроцитов в РФ.

При изучении биораспределения использовали мышей линии Balb/c Nude. Данная линия иммунодефицитных мышей широко используется в исследованиях ксенотрансплантатов, в том числе на основе хондроцитов человека [29–30]. Мы прибегали к подкожной имплантации сфероидов, поскольку эта процедура менее инвазивна, масштабируема и более проста в реализации, например, по сравнению с имплантацией в сустав мелкого грызуна. Дозу однократного введения БМКП рассчитывали, исходя из предполагаемой терапевтической дозы для человека

согласно размеру дефектов хрящевой ткани — 10–70 сфероидов на 1 см² поврежденной ткани [8]. Для мыши эта доза составила пять сфероидов на одно животное.

Для оценки формирования стабильной хрящевой ткани в месте введения БМКП места закола были исследованы с помощью гистологического анализа. Мы наблюдали образование хрящевой ткани через 90 суток после имплантации, что говорит об успешной интеграции сфероидов в тканях мыши. Морфометрические данные не показали значительных изменений массы тела у опытных групп, что говорит об отсутствии системного патологического действия. Кроме того, не наблюдали аномального роста ткани, связанного с онкогенными (на 3-й месяц наблюдения) или туморогенными процессами.

Для проверки распределения биоплаты органов и тканей мыши по прошествии 90 суток после имплантации были качественно оценены путем анализа на наличие экспрессии видоспецифичной для человека последовательности гена, кодирующего цитохром С оксидазу 1 (COI). Согласно полученным нами результатам, при однократном подкожном введении БМКП опытным мышам человеческая ДНК детектируется исключительно в месте введения, но не в остальных проанализированных тканях и органах. Таким образом, ДНК человека относится только к клеткам в составе самих имплантированных сфероидов. Тем не менее, в дальнейшем планируется исследование биораспределения и онкогенности БМКП в организме мыши при более длительном сроке после имплантации для оценки возможных отсроченных эффектов. Полученные на данном этапе результаты свидетельствуют об отсутствии процессов клеточной миграции, что позволяет судить о безопасности разработанного продукта по части биораспределения.

ВЫВОДЫ

В настоящей работе мы провели исследование биораспределения БМКП в виде хондросфер на основе хондроцитов человека путем подкожной имплантации мышам линии Balb/c Nude. В ходе исследования наблюдали образование стабильной, морфологически зрелой хрящевой ткани без признаков аномальной

пролиферации, а также отсутствие клеточной миграции за пределы области имплантации. Данные результаты позволяют сделать вывод о том, что разработанный БМКП характеризуется нормальным биораспределением в пределах зоны введения и хорошо интегрируется в окружающие ткани. Таким образом, данный продукт клеточной инженерии — «Хондросфера» — может быть рекомендован для дальнейших исследований.

Литература

- Ramezankhani R, Torabi S, Minaei N, Madani H, Rezaeiani S, Hassani SN, et al. Two Decades of Global Progress in Authorized Advanced Therapy Medicinal Products: An Emerging Revolution in Therapeutic Strategies. *Front Cell Dev Biol.* 2020; 8: 547653. DOI:10.3389/fcell.2020.547653.
- Kim J, Park J, Song SY, Kim E. Advanced Therapy medicinal products for autologous chondrocytes and comparison of regulatory systems in target countries. *Regen Ther.* 2022; 20: 126–37. DOI: 10.1016/j.reth.2022.04.004.
- Brittberg M, Lindahl A, Nilsson A, Ohlsson C, Isaksson O, Peterson L. Treatment of deep cartilage defects in the knee with ACL. *N Engl J Med.* 1994; 331 (14): 889–95.
- Fontana A, Bistolfi A, Crova M, Rosso F, Massazza G. Arthroscopic treatment of hip chondral defects: Autologous chondrocyte transplantation versus simple debridement —A pilot study. *Arthrosc — J Arthrosc Relat Surg.* 2012; 28 (3): 322–9. DOI: 10.1016/j.arthro.2011.08.304.
- Saris D, Price A, Widuchowski W, Bertrand-Marchand M, Caron J, Drogset JO, et al. Matrix-applied characterized autologous cultured chondrocytes versus microfracture: Two-year follow-up of a prospective randomized trial. *Am J Sports Med.* 2014; 42 (6): 1384–94. DOI: 10.1177/0363546514528093.
- Yoon KH, Yoo JD, Choi CH, Lee J, Lee JY, Kim SG, et al. Costal Chondrocyte-Derived Pellet-Type Autologous Chondrocyte Implantation versus Microfracture for Repair of Articular Cartilage Defects: A Prospective Randomized Trial. *Cartilage.* 2021; 13 (1): 1092S–1104S. DOI: 10.1177/1947603520921448.
- Hoburg A, Niemeyer P, Laute V, Zinser W, Becher C, Kolombe T, et al. Matrix-Associated Autologous Chondrocyte Implantation with Spheroid Technology Is Superior to Arthroscopic Microfracture at 36 Months Regarding Activities of Daily Living and Sporting Activities after Treatment. *Cartilage.* 2021; 13 (1): 437S–448S. DOI: 10.1177/1947603519897290.
- Zscharnack M, Krause C, Aust G, Thümmel C, Peinemann F, Keller T, et al. Preclinical good laboratory practice-compliant safety study to evaluate biodistribution and tumorigenicity of a cartilage advanced therapy medicinal product (ATMP). *J Transl Med.* 2015; 13 (1): 1–17. DOI: 10.1186/s12967-015-0517-x.
- Fickert S, Gerwien P, Helmert B, Schattenberg T, Weckbach S, Kaszkin-Bettag M, et al. One-Year Clinical and Radiological Results of a Prospective, Investigator-Initiated Trial Examining a Novel, Purely Autologous 3-Dimensional Autologous Chondrocyte Transplantation Product in the Knee. *Cartilage.* 2012; 3 (1): 27–42. DOI: 10.1177/1947603511417616.
- Spherox. European Medicines Agency. [cited 2023 Oct 26]. Available from: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/spherox>.
- Study Details. The Post-marketing Surveillance to Evaluate the Efficacy of CHONDROX (Autologous Cultured Chondrocyte) by Arthroscopy. *ClinicalTrials.gov.* [cited 2023 Oct 26]. Available from: <https://clinicaltrials.gov/study/NCT02539069?cond=Osteoarthritis&intr=Chondrocytes&page=2&rank=13>.
- Choi NY, Kim BW, Yeo WJ, Kim HB, Suh DS, Kim JS, et al. Gel-type autologous chondrocyte (Chondron) implantation for treatment of articular cartilage defects of the knee. *BMC Musculoskelet Disord.* 2010; 11. DOI: 10.1186/1471-2474-11-103.
- Pathak S, Chaudhary D, Reddy KR, Acharya KKV, Desai SM. Efficacy and safety of CARTIGROW® in patients with articular cartilage defects of the knee joint: a four year prospective study. *Int Orthop.* 2022; 46 (6): 1313–21. DOI: 10.1007/s00264-022-05369-2.
- Crowe R, Willers C, Cheng T, Wang L, Zheng MH. Evaluation of Intraoperative Retention of Autologous Chondrocytes on Type I/III Collagen Scaffold (Ortho-ACITM) for Cartilage Repair. *J Foot Ankle Res.* 2015; 8 (S2): 2015. DOI: 10.1186/1757-1146-8-s2-p10.
- Riedl M, Vadalà G, Papalia R, Denaro V. Three-dimensional, Scaffold-Free, Autologous Chondrocyte Transplantation: A Systematic Review. *Orthop J Sport Med.* 2020; 8 (9): 1–7. DOI: 10.1177/2325967120951152.
- Shah SS, Mithoefer K. Scientific Developments and Clinical Applications Utilizing Chondrons and Chondrocytes with Matrix for Cartilage Repair. *Cartilage.* 2021; 13 (1): 1195S–1205S. DOI: 10.1177/1947603520968884.
- Schubert T, Anders S, Neumann E. Long-term effects of chondrospheres on cartilage lesions in an autologous chondrocyte implantation model as investigated in the SCID mouse model. *Int J Mol Med.* 2009; 23 (4): 455–60. DOI: 10.3892/ijmm.
- Körsmeier K, Claßen T, Kamminga M, Rekowski J, Jäger M, Landgraeber S. Arthroscopic three-dimensional autologous chondrocyte transplantation using spheroids for the treatment of full-thickness cartilage defects of the hip joint. *Knee Surgery, Sport Traumatol Arthrosc.* 2016; 24 (6): 2032–7. DOI: 10.1007/s00167-014-3293-x.
- Niemeyer P, Laute V, Zinser W, John T, Becher C, Diehl P, et al. Safety and efficacy of matrix-associated autologous chondrocyte implantation with spheroid technology is independent of spheroid dose after 4 years. *Knee Surgery, Sport Traumatol Arthrosc.* 2020; 28 (4): 1130–43. DOI: 10.1007/s00167-019-05786-8.
- Bartz C, Meixner M, Giesemann P, Roël G, Bulwin GC, Smink JJ. An ex vivo human cartilage repair model to evaluate the potency of a cartilage cell transplant. *J Transl Med.* 2016; 14 (1): 1–15. DOI: 10.1186/s12967-016-1065-8.
- Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от 30 октября 2018 г. 512Н «Об утверждении правил надлежащей практики по работе с биомедицинскими клеточными продуктами». С. 1–71.
- Satué M, Schüler C, Ginner N, Erben RG. Intra-articularly injected mesenchymal stem cells promote cartilage regeneration, but do not permanently engraft in distant organs. *Sci Rep.* 2019; 9 (1): 1–10. DOI: 10.1038/s41598-019-46554-5.
- Marquina M, Collado JA, Pérez-Cruz M, Fernández-Pernas P, Fafián-Labora J, Blanco FJ, et al. Biodistribution and immunogenicity of allogeneic mesenchymal stem cells in a rat model of intraarticular chondrocyte xenotransplantation. *Front Immunol.* 2017; 8 (NOV): 1–14. DOI: 10.3389/fimmu.2017.01465.
- Erben RG, Silva-Lima B, Reischl I, Steinhoff G, Tiedemann G, Dalemans W, et al. White paper on how to go forward with cell-based advanced therapies in Europe. *Tissue Eng — Part A.* 2014; 20 (19–20): 2549–54. DOI: 10.1089/ten.tea.2013.0589.
- Федеральный закон от 23 июня 2016 г. №180-ФЗ «О биомедицинских клеточных продуктах».
- ГОСТ 33044-2014. Принципы надлежащей лабораторной практики. Межгосударственный стандарт. Дата введения: 1 августа 2015 г.
- Миронов А. Н., Бунятян Н. Д. Руководство по проведению

- доклинических исследований лекарственных средств. М.: Гриф и К, 2012; 944 с.
28. Ereemeev AV, Belikova LD, Ruchko EA, Volovikov EA, Zubkova OA, Emelin AM, et al. Brain Organoid Generation from Induced Pluripotent Stem Cells in Home-Made Mini Bioreactors. *J Vis Exp.* 2021; 2021 (178). DOI: 10.3791/62987.
 29. Chen Y, Ma M, Teng Y, Cao H, Yang Y, Wang Y, et al. Efficient manufacturing of tissue engineered cartilage: In vitro by a multiplexed 3D cultured method. *J Mater Chem B.* 2020; 8 (10): 2082–95. DOI: 10.1039/c9tb01484e.
 30. Apelgren P, Amoroso M, Lindahl A, Brantsing C, Rotter N, Gatenholm P, et al. Chondrocytes and stem cells in 3D-bioprinted structures create human cartilage in vivo. *PLoS One.* 2017; 12 (12): 1–16. DOI: 10.1371/journal.pone.0189428.

References

1. Ramezankhani R, Torabi S, Minaei N, Madani H, Rezaeiani S, Hassani SN, et al. Two Decades of Global Progress in Authorized Advanced Therapy Medicinal Products: An Emerging Revolution in Therapeutic Strategies. *Front Cell Dev Biol.* 2020; 8: 547653. DOI:10.3389/fcell.2020.547653.
2. Kim J, Park J, Song SY, Kim E. Advanced Therapy medicinal products for autologous chondrocytes and comparison of regulatory systems in target countries. *Regen Ther.* 2022; 20: 126–37. DOI: 10.1016/j.reth.2022.04.004.
3. Brittberg M, Lindahl A, Nilsson A, Ohlsson C, Isaksson O, Peterson L. Treatment of deep cartilage defects in the knee with ACL. *N Engl J Med.* 1994; 331 (14): 889–95.
4. Fontana A, Bistolfi A, Crova M, Rosso F, Massazza G. Arthroscopic treatment of hip chondral defects: Autologous chondrocyte transplantation versus simple debridement —A pilot study. *Arthrosc — J Arthrosc Relat Surg.* 2012; 28 (3): 322–9. DOI: 10.1016/j.arthro.2011.08.304.
5. Saris D, Price A, Widuchowski W, Bertrand-Marchand M, Caron J, Drogset JO, et al. Matrix-applied characterized autologous cultured chondrocytes versus microfracture: Two-year follow-up of a prospective randomized trial. *Am J Sports Med.* 2014; 42 (6): 1384–94. DOI: 10.1177/0363546514528093.
6. Yoon KH, Yoo JD, Choi CH, Lee J, Lee JY, Kim SG, et al. Costal Chondrocyte-Derived Pellet-Type Autologous Chondrocyte Implantation versus Microfracture for Repair of Articular Cartilage Defects: A Prospective Randomized Trial. *Cartilage.* 2021; 13 (1): 1092S–1104S. DOI: 10.1177/1947603520921448.
7. Hoburg A, Niemeyer P, Laute V, Zinser W, Becher C, Kolombe T, et al. Matrix-Associated Autologous Chondrocyte Implantation with Spheroid Technology Is Superior to Arthroscopic Microfracture at 36 Months Regarding Activities of Daily Living and Sporting Activities after Treatment. *Cartilage.* 2021; 13 (1): 437S–448S. DOI: 10.1177/1947603519897290.
8. Zscharnack M, Krause C, Aust G, Thümmel C, Peinemann F, Keller T, et al. Preclinical good laboratory practice-compliant safety study to evaluate biodistribution and tumorigenicity of a cartilage advanced therapy medicinal product (ATMP). *J Transl Med.* 2015; 13 (1): 1–17. DOI: 10.1186/s12967-015-0517-x.
9. Fickert S, Gerwien P, Helmert B, Schattenberg T, Weckbach S, Kaszkin-Bettag M, et al. One-Year Clinical and Radiological Results of a Prospective, Investigator-Initiated Trial Examining a Novel, Purely Autologous 3-Dimensional Autologous Chondrocyte Transplantation Product in the Knee. *Cartilage.* 2012; 3 (1): 27–42. DOI: 10.1177/1947603511417616.
10. Spherox. European Medicines Agency. [cited 2023 Oct 26]. Available from: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/spherox>.
11. Study Details. The Post-marketing Surveillance to Evaluate the Efficacy of CHONDRON (Autologous Cultured Chondrocyte) by Arthroscopy. *ClinicalTrials.gov.* [cited 2023 Oct 26]. Available from: <https://clinicaltrials.gov/study/NCT02539069?cond=Osteoarthritis&intr=Chondrocytes&page=2&rank=13>.
12. Choi NY, Kim BW, Yeo WJ, Kim HB, Suh DS, Kim JS, et al. Gel-type autologous chondrocyte (Chondron) implantation for treatment of articular cartilage defects of the knee. *BMC Musculoskelet Disord.* 2010; 11. DOI: 10.1186/1471-2474-11-103.
13. Pathak S, Chaudhary D, Reddy KR, Acharya KKV, Desai SM. Efficacy and safety of CARTIGROW® in patients with articular cartilage defects of the knee joint: a four year prospective study. *Int Orthop.* 2022; 46 (6): 1313–21. DOI: 10.1007/s00264-022-05369-2.
14. Crowe R, Willers C, Cheng T, Wang L, Zheng MH. Evaluation of Intraoperative Retention of Autologous Chondrocytes on Type I/III Collagen Scaffold (Ortho-ACITM) for Cartilage Repair. *J Foot Ankle Res.* 2015; 8 (S2): 2015. DOI: 10.1186/1757-1146-8-s2-p10.
15. Riedl M, Vadalà G, Papalia R, Denaro V. Three-dimensional, Scaffold-Free, Autologous Chondrocyte Transplantation: A Systematic Review. *Orthop J Sport Med.* 2020; 8 (9): 1–7. DOI: 10.1177/2325967120951152.
16. Shah SS, Mithoefer K. Scientific Developments and Clinical Applications Utilizing Chondrons and Chondrocytes with Matrix for Cartilage Repair. *Cartilage.* 2021; 13 (1): 1195S–1205S. DOI: 10.1177/1947603520968884.
17. Schubert T, Anders S, Neumann E. Long-term effects of chondrospheres on cartilage lesions in an autologous chondrocyte implantation model as investigated in the SCID mouse model. *Int J Mol Med.* 2009; 23 (4): 455–60. DOI: 10.3892/ijmm.
18. Körsmeier K, Claßen T, Kamminga M, Rekowski J, Jäger M, Landgraeber S. Arthroscopic three-dimensional autologous chondrocyte transplantation using spheroids for the treatment of full-thickness cartilage defects of the hip joint. *Knee Surgery, Sport Traumatol Arthrosc.* 2016; 24 (6): 2032–7. DOI: 10.1007/s00167-014-3293-x.
19. Niemeyer P, Laute V, Zinser W, John T, Becher C, Diehl P, et al. Safety and efficacy of matrix-associated autologous chondrocyte implantation with spheroid technology is independent of spheroid dose after 4 years. *Knee Surgery, Sport Traumatol Arthrosc.* 2020; 28 (4): 1130–43. DOI: 10.1007/s00167-019-05786-8.
20. Bartz C, Meixner M, Giesemann P, Roël G, Bulwin GC, Smink JJ. An ex vivo human cartilage repair model to evaluate the potency of a cartilage cell transplant. *J Transl Med.* 2016; 14 (1): 1–15. DOI: 10.1186/s12967-016-1065-8.
21. Prikaz Ministerstva zdравookhraneniya Rossiyskoy Federatsii ot 30 oktyabrya 2018 g. 512N «Ob utverzhdenii pravil nadlezhashchey praktiki po rabote s biomeditsinskimi kletochnymi produktami». P. 1–71. Russian.
22. Satué M, Schüller C, Ginner N, Erben RG. Intra-articularly injected mesenchymal stem cells promote cartilage regeneration, but do not permanently engraft in distant organs. *Sci Rep.* 2019; 9 (1): 1–10. DOI: 10.1038/s41598-019-46554-5.
23. Marquina M, Collado JA, Pérez-Cruz M, Fernández-Pernas P, Fafián-Labora J, Blanco FJ, et al. Biodistribution and immunogenicity of allogeneic mesenchymal stem cells in a rat model of intraarticular chondrocyte xenotransplantation. *Front Immunol.* 2017; 8 (NOV): 1–14. DOI: 10.3389/fimmu.2017.01465.
24. Erben RG, Silva-Lima B, Reischl I, Steinhoff G, Tiedemann G, Dalemans W, et al. White paper on how to go forward with cell-based advanced therapies in Europe. *Tissue Eng — Part A.* 2014; 20 (19–20): 2549–54. DOI: 10.1089/ten.tea.2013.0589.
25. Federal'nyy zakon ot 23 iyunya 2016 g. №180-FZ «O biomeditsinskikh kletochnykh produktakh». Russian.
26. GOST 33044-2014. Printsipy nadlezhashchey laboratornoy praktiki. Mezhdgosudarstvennyy standart. Data vvedeniya: 1 avgusta 2015 g. Russian.
27. Mironov AN, Bunyatyan ND. Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennykh sredstv. M.: Grif i K, 2012; 944 p. Russian.
28. Ereemeev AV, Belikova LD, Ruchko EA, Volovikov EA, Zubkova OA, Emelin AM, et al. Brain Organoid Generation from Induced Pluripotent Stem Cells in Home-Made Mini Bioreactors. *J Vis Exp.* 2021; 2021 (178). DOI: 10.3791/62987.

29. Chen Y, Ma M, Teng Y, Cao H, Yang Y, Wang Y, et al. Efficient manufacturing of tissue engineered cartilage: In vitro by a multiplexed 3D cultured method. *J Mater Chem B*. 2020; 8 (10): 2082–95. DOI: 10.1039/c9tb01484e.
30. Apelgren P, Amoroso M, Lindahl A, Brantsing C, Rotter N, Gatenholm P, et al. Chondrocytes and stem cells in 3D-bioprinted structures create human cartilage in vivo. *PLoS One*. 2017; 12 (12): 1–16. DOI: 10.1371/journal.pone.0189428.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ЭФФЕКТИВНОСТИ НОВЫХ ОБРАЗЦОВ МЕСТНЫХ ГЕМОСТАТИЧЕСКИХ СРЕДСТВ

В. А. Липатов¹, С. В. Лазаренко¹, Д. А. Северинов^{1✉}, А. А. Денисов¹, Е. Г. Чупахин², Е. Н. Анискина³

¹ Курский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации, Курск, Россия

² Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта, Калининград, Россия

³ Российский союз предприятий и организаций химического комплекса, Москва, Россия

Для остановки кровотечения из parenхиматозных органов брюшной полости применяют различные варианты местных гемостатических средств (на основе коллагена, желатина, целлюлозы и пр.). Целью работы было провести сравнительную оценку времени и объема кровотечения после травмы parenхиматозных органов брюшной полости с использованием новых образцов губчатых кровоостанавливающих средств на основе коллагена в сочетании с Na-KMЦ в остром эксперименте *in vivo*. Использовали новые образцы многокомпонентных полимерных губчатых имплантов (МПГИ) (на основе морского коллагена, в разных соотношениях по массе с натриевой солью карбоксиметилцеллюлозы – Na-KMЦ (15/85, 25/75, 50/50). Оценивали гемостатическую активность (время кровотечения и объем кровопотери) указанных изделий в эксперименте: крысам выполняли лапаротомию и резекцию левой доли печени (серия 1) и нижнего полюса селезенки (серия 2) в коагулометрическом измерении времени свертывания крови доноров-добровольцев. Наименьшие значения оцениваемых показателей (время кровотечения и объем кровопотери) в обеих сериях эксперимента обнаружены в группе 6 с использованием новых образцов МПГИ (Na-KMЦ+коллаген, в соотношении 50/50). Гипотеза об увеличении эффективности использования местных кровоостанавливающих средств при травме parenхиматозных органов за счет разработки комбинированных изделий (а именно на основе Na-KMЦ и коллагена глубоководного кальмара) получила подтверждение в эксперименте, в котором также доказано позитивное влияние внесения коллагена в состав МПГИ на скорость остановки кровотечения (при травме печени наименьший объем кровопотери и время остановки кровотечения — 41 с, а при травме селезенки — 57 с соответственно; $p \leq 0,05$).

Ключевые слова: гемостаз, гемостатические губки, полимеры, эксперимент *in vitro*, кровотечение, коллаген

Вклад авторов: В. А. Липатов — концепция и дизайн, написание текста, редактирование, утверждение окончательного варианта статьи; С. В. Лазаренко — экспериментальная часть, статистическая обработка, редактирование, утверждение окончательного варианта статьи; Д. А. Северинов — экспериментальная часть, редактирование, утверждение окончательного варианта статьи; А. А. Денисов — экспериментальная часть, написание текста, редактирование, анализ данных литературы; Е. Г. Чупахин, Е. Н. Анискина — экспериментальная часть, написание текста, анализ литературы.

Соблюдение этических стандартов: исследование одобрено этическим комитетом (протокол № 3 от 16 ноября 2020 г.), проведено с соблюдением международных и отечественных норм гуманного обращения с лабораторными животными.

✉ **Для корреспонденции:** Дмитрий Андреевич Северинов
ул. К. Маркса, д. 3, г. Курск, 305041, Россия; dmitry.severinov.93@mail.ru

Статья получена: 11.11.2023 **Статья принята к печати:** 21.12.2023 **Опубликована онлайн:** 31.12.2023

DOI: 10.47183/mes.2023.063

COMPARATIVE ANALYSIS OF EFFICACY OF THE NEW LOCAL HEMOSTATIC AGENTS

Lipatov BA¹, Lazarenko SV¹, Severinov DA^{1✉}, Denisov AA¹, Chupakhin EG², Aniskina EN³

¹ Department of operative surgery and topographic anatomy, Kursk State Medical University, Kursk, Russia

² Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russia

³ Russian Union of Chemical Complex Enterprises and Organizations, Moscow, Russia

Various local hemostatics (based on collagen, gelatin, cellulose, etc.) are used to stop bleeding from parenchymal organs of the abdominal cavity. In the context of an acute *in vivo* experiment, this study aimed to comparatively assess the time and volume of bleeding from a trauma of abdominal cavity's parenchymal organs covered with a new collagen-based spongy hemostatics combined with Na-CMC. We used new multicomponent polymer sponge implants (MPSI) based on marine collagen and carboxymethyl cellulose sodium salt, Na-CMC; the components were mixed in the ratios of 15/85, 25/75, 50/50. Hemostatic activity of the samples was assessed by bleeding time and blood loss volume. For the experiments, rats underwent laparotomy and resection of the left lobe of liver (series 1) and lower pole of spleen (series 2). In both series of experiments, the controlled parameters (bleeding time and blood loss volume) were smallest in group 6, where the MPSI were 50/50 Na-CMC/collagen. The hypothesis of higher efficacy of composite local hemostatic agents (namely, made of Na-CMC and deep-sea squid collagen) in cases of trauma of the parenchymal organs was confirmed experimentally, and same experiment has also shown that collagen in the composition of MPSI boosts bleeding arrest (for liver injury, the smallest blood loss and hemorrhage control time was 41 s, for spleen injury — 57 s, respectively; $p \leq 0.05$).

Keywords: hemostasis, hemostatic sponges, polymers, *in vitro* experiment, bleeding, collagen

Author contributions: Lipatov VA — concept and design, article authoring, editing, approval of its final version; Lazarenko SV — experimental part, statistical processing, article editing, approval of its final version; Severinov DA — experimental part, article editing, approval of its final version; Denisov AA — experimental part, article authoring, literature data analysis; Chupakhin EG, Aniskina EN — experimental part, article authoring, literature analysis.

Compliance with ethical standards: the study was approved by the Ethics Committee (Minutes #3 of November 16, 2020), conducted in compliance with international and national standards for care and use of laboratory animals.

✉ **Correspondence should be addressed:** Dmitry A. Severinov
K.Marksa, 3, Kursk, 305041, Russia; dmitry.severinov.93@mail.ru

Received: 11.11.2023 **Accepted:** 21.12.2023 **Published online:** 31.12.2023

DOI: 10.47183/mes.2023.063

В настоящее время сохраняется значительное количество пациентов, госпитализированных в хирургические стационары по поводу повреждения паренхиматозных органов брюшной полости [1, 2]. Данная категория пациентов требует особого внимания, так как их травмы могут осложняться массивным внутрибрюшным кровотечением. Несмотря на значительные диагностические возможности современных клиник (наличие аппаратов компьютерной томографии, тромбоэластографии в специализированных стационарах и др.) показатели летальности при повреждениях печени и селезенки остаются высокими (20–60% случаев) [3, 4]. Важную роль играет начало оказания помощи пациенту от момента травмы: чем меньше данный промежуток времени, тем более благоприятный прогноз [5].

Основной целью оказания помощи в таких случаях является эффективная остановка кровотечения, которую можно достигнуть не только интраоперационными хирургическими приемами, но и комбинацией кровоостанавливающих лекарственных средств [6]. Существуют различные варианты способов остановки кровотечения: от приема Прингла и атипичных резекций до ушивания раны поврежденного органа [7]. Однако на современном этапе предпочтение врачи отдают органосохраняющим операциям, которые стали возможны ввиду развития электрохирургии (а именно коагуляторов и высокоэнергетического оборудования для окончательного гемостаза), криохирургии (использование неравновесной или холодной плазмы) и разработки многокомпонентных полимерных губчатых имплантов (МПГИ), клеевых композиций (сульфакрилатные клеи) и др. [8]. К последним относят гели, губки, пластины, порошки, причем выбор формы изделия зависит от степени повреждения органа и локализации повреждения, варианта выполнения оперативного вмешательства (как правило, лапаротомия, лапароскопический доступ применяют крайне редко в urgentных ситуациях и он противопоказан при нестабильной гемодинамике) [9].

Известно множество полимеров и органических соединений, которые служат основой для таких изделий: желатин, коллаген, производные целлюлозы и др.

Такие МПГИ зарекомендовали себя как эффективные средства и их активно используют в клинической практике [10]. Актуальность исследований в данной области подтверждена большим числом публикаций отечественных и зарубежных авторов, посвященных тестированию МПГИ в эксперименте *in vitro et in vivo* ввиду стремления исследователей к получению наиболее эффективного кровоостанавливающего средства, которое будет обладать высокой адгезивной способностью и позволит в короткие сроки остановить кровотечение [11].

Цель исследования заключается в сравнительной оценке времени и объема кровотечения с использованием новых образцов губчатых кровоостанавливающих средств на основе коллагена в сочетании с Na-KMЦ в остром эксперименте *in vivo*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве материалов исследования использовали образцы новых МПГИ («Губка кровоостанавливающая комбинированная» заявка на патент РФ № 2023123284 от 07.09.2023), характеристика которых представлена ниже (табл. 1), а также используемых в клинической практике кровоостанавливающих средств.

Исследование выполняли на половозрелых крысах-самцах линии Вистар (массой 200–250 г) под общей ингаляционной анестезией, в двух сериях согласно числу травмируемых органов (печень и селезенка) по 60 животных в каждой (в 6 группах согласно числу видов тестируемых образцов) (табл. 1). Все оперативные вмешательства выполнены в стерильных условиях операционного блока лаборатории экспериментальной хирургии и онкологии НИИ Экспериментальной медицины ФГБОУ ВО КГМУ Минздрава России.

Травму печени моделировали по разработанному нами методу: производили срединную лапаротомию, после чего в рану выводили левую долю печени и выполняли ее краевую резекцию (10 × 5 × 5 мм) [12]. Травму селезенки моделировали аналогично, отсекая задний ее полюс соответствующих размеров.

Таблица 1. Характеристика исследуемых материалов и групп исследования

№	Название	Производитель	Состав	Форма выпуска
1	Tachocomb	Takeda Austria GmbH, 4020 Linz, Austria	Коллаген из сухожилий лошади; рибофлавин; лиофилизированный фибриноген человека; тромбина; аprotинина	Абсорбирующее гемостатическое средство, губка
2	Surgicel Fibrillar	Ethicon, Johnson & Johnson, USA	Волокна окисленной и восстановленной целлюлозы	Материал гемостатический рассасывающийся волокнистый
3	Na-KMЦ	Лаборатория экспериментальной хирургии и онкологии НИИ ЭМ КГМУ, ООО «АС РС», г. Калининград, Россия	Гель Na-KMЦ 1%-й	Губка, полученная путем лиофильного высушивания суспензии
4	Na-KMЦ + коллаген (85/15)		Суспензия коллагена глубоководного кальмара 3%-я; гель Na-KMЦ 1%-й, соотношение: коллаген/Na-KMЦ, равное в % масс. 15/85	Губка, полученная путем лиофильного высушивания суспензии
5	Na-KMЦ + коллаген (75/25)		Суспензия коллагена глубоководного кальмара 3%-я; гель Na-KMЦ 1%-й Соотношение: коллаген/Na-KMЦ, равное в % масс. 25/75	Губка, полученная путем лиофильного высушивания суспензии
6	Na-KMЦ + коллаген (50/50)		Суспензия коллагена глубоководного кальмара 3%-я, гель Na-KMЦ 1%-й, Соотношение: коллаген/Na-KMЦ, равное в % масс. 50/50	Губка, полученная путем лиофильного высушивания суспензии

Таблица 2. Значения оцениваемых показателей эффективности МПГИ, Ме [25;75]

№	Название группы	Серия 1: травма печени		Серия 2: травма селезенки	
		Время кровотечения, с	Объем кровопотери, $m_2 - m_1$, г	Время кровотечения, с	Объем кровопотери, $m_2 - m_1$, г
1	Tachocomb	93,5 [89,5; 104,75]	0,04 [0,03; 0,05]	105 [101,75; 109,75]	0,024 [0,019; 0,035]
2	Surgicel Fibrillar	85 [83,25; 96,5]	0,02 [0,021; 0,029]	95 [85,5; 101,5]	0,019 [0,017; 0,023]
3	Na-KMЦ	96 [60,25; 135]	0,019 [0,007; 0,038]	97,5 [85; 126,75]	0,016 [0,01; 0,027]
4	Na-KMЦ + коллаген (85/15)	65 [35,25; 80]	0,006 [0,005; 0,012]	130 [120; 156,75]	0,03 [0,027; 0,033]
5	Na-KMЦ + коллаген (75/25)	97 [80; 122,75]	0,025 [0,017; 0,028]	97 [80; 113,25]	0,015 [0,01; 0,021]
6	Na-KMЦ + коллаген (50/50)	41 [40; 50]	0,01 [0,007; 0,012]	57 [41,25; 70]	0,014 [0,007; 0,024]

На кровоточащую область разреза накладывали исследуемое средство, размерами 1,0 × 1,0 см с известной массой. В ходе эксперимента оценивали объем кровопотери (объем крови, впитанный одним образцом), время кровотечения. Объем кровопотери (M) определяли гравиметрическим методом по Е. М. Левитэ: разница в массе стерильного материала до операции (m_1 , г) и после (m_2 , г) его пропитывания кровью в ходе операции. Визуально регистрировали продолжительность кровотечения (t , с), отнимая от раны образец каждые 10 с, отметив окончание кровотечения отсутствием пропитывания тестируемого образца, момент остановки кровотечения фиксировали с помощью секундомера. Животных выводили из эксперимента путем CO_2 -индуцированной эвтаназии сразу после оперативного вмешательства.

Определяли показатели описательной статистики (медиана, 25-й и 75-й перцентили — Ме [25; 75]). В качестве основной методики определения уровня статистической значимости отличий использовали непараметрический критерий Манна-Уитни ввиду небольших размеров выборки в экспериментальных группах исследования ($n = 10$), ненормальным распределением выборки по Колмогорову-Смирнову, при допустимом для экспериментальных медико-биологических исследований уровне $p \leq 0,05$. В качестве программной среды использовали лицензионную версию программы Statistica 13 Pro (Dell Software Company; Round Rock, USA).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Согласно полученным в ходе исследования данным в серии 1 (травма печени), наименьшее значение времени

кровотечения было отмечено в экспериментальной группе 6 с использованием новых МПГИ на основе морского коллагена и Na-KMЦ, что в 2,3 раза меньше, чем группе 1 (пластина коллагеновая, которую широко применяют в клинической практике) (табл. 2, 3). Значимые различия обнаружены также практически во всех группах сравнения (не менее чем в 2 раза) и группой 6 (с наибольшей концентрацией коллагена — 50%). Помимо этого, при сравнении значений группы 4 (МПГИ с концентрацией коллагена 15%) и МПГИ, внедренных в клиническую практику (группы 1 и 2), отмечены значимые различия.

Описанные выше данные (сравнение значений показателя «Времени кровотечения») подтверждены результатами оценки показателя «Объем кровопотери» в указанных группах исследования (табл. 2, 4). Минимальный объем кровопотери зарегистрирован в группе 6, а наибольшие — в экспериментальной группе 3 (МПГИ без добавления коллагена).

Эффективность применения разработанных изделий подтверждают и данные исследования по травме селезенки (серия 2) (табл. 2, 5, 6). Статистически значимое уменьшение времени кровотечения (не менее чем в 1,5 раза) и объема кровопотери (в сравнении с прочими группами исследования) отмечено в случае применения МПГИ группы 6. В случае оценки показателя «время кровотечения» обнаружены значимые различия в сравнении с группой 4 и 6 (табл. 5). При оценке показателя «объем кровопотери» в данной серии эксперимента выявлены значимые различия (табл. 6).

Примечательно, что при оценке времени кровотечения в обеих сериях эксперимента не выявлено значимых различий между группой 5 новых образцов МПГИ и уже используемыми в клинической практике средствами. Но

Таблица 3. Уровень статистической значимости различий показателя «Время кровотечения» при травме печени, p

Название группы/ № группы		2	3	4	5	6
		Surgicel Fibrillar	Na-KMЦ	Na-KMЦ + коллаген (85/15)	Na-KMЦ + коллаген (75/25)	Na-KMЦ + коллаген (50/50)
1	Tachocomb	0,211	0,879	0,037*	0,622522	0,0004*
2	Surgicel Fibrillar		0,791	0,049*	0,363262	0,001*
3	Na-KMЦ			0,13	1	0,004*
4	Na-KMЦ + коллаген (85/15)				0,129	0,271
5	Na-KMЦ + коллаген (75/25)					0,003*

Примечание: * — статистически значимые различия ($p \leq 0,05$).

Таблица 4. Уровень статистической значимости отличий показателя «Объем кровопотери» при травме печени, *p*

Название группы/ № группы		2	3	4	5	6
		Surgicel Fibrillar	Na-KMЦ	Na-KMЦ + коллаген (85/15)	Na-KMЦ + коллаген (75/25)	Na-KMЦ + коллаген (50/50)
1	Tachocomb	0,001*	0,053	0,001*	0,003*	0,0002*
2	Surgicel Fibrillar		0,623	0,004*	0,85	0,0002*
3	Na-KMЦ			0,104	0,677	0,212
4	Na-KMЦ + коллаген (85/15)				0,006	0,623
5	Na-KMЦ + коллаген (75/25)					0,001*

Примечание: * — статистически значимые различия ($p \leq 0,05$).

различия обнаружены при оценке объема кровопотери в сравнении с группой 1. Стоит также отметить, что и между группами новых образцов МПГИ имеют место значимые различия в сериях эксперимента по обоим показателям.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В литературе широко представлены работы, посвященные оценке МПГИ на основе коллагена и производных целлюлозы (как правило, окисленная целлюлоза), которые уже внедрены в практику и являются своего рода стандартом для сравнения (к таким соответственно можно отнести Tachocomb и Surgicel Fibrillar). Тем не менее разработка новых образцов МПГИ в настоящее время — один из интенсивно развивающихся направлений ввиду высокого спроса на данные изделия и отсутствия удовлетворенности клинических специалистов имеющимися на рынке продуктами [13, 14]. Существуют целые школы и направления по изготовлению медицинских изделий, каждая из которых

продерживается определенного мнения относительно их состава. В большинстве случаев (зарубежными фирмами-производителями, зарекомендовавшими себя на рынке изделий медицинского назначения) в основе МПГИ используют коллаген животного происхождения или волокна окисленной и восстановленной целлюлозы, медицинский желатин и др. [15, 16].

Авторским коллективом накоплен опыт экспериментальной оценки МПГИ на основе морского коллагена (публикации об использовании которого в данном качестве в свободном доступе не представлены) и Na-KMЦ, которая известна своими положительными свойствами, такими как противовоспалительная активность, адгезивные свойства и гемостатический эффект [17, 18].

Учитывая полученные данные, можно говорить о том, что увеличение концентрации коллагена в составе МПГИ повышает его эффективность, уменьшая время кровотечения и объем кровопотери соответственно. Механизм кровоостанавливающего действия коллагена

Таблица 5. Уровень статистической значимости различий показателя «Время кровотечения» при травме селезенки, *p*

Название группы/ № группы		2	3	4	5	6
		Surgicel Fibrillar	Na-KMЦ	Na-KMЦ + коллаген (85/15)	Na-KMЦ + коллаген (75/25)	Na-KMЦ + коллаген (50/50)
1	Tachocomb	0,064	0,307	0,002*	0,472	0,0002*
2	Surgicel Fibrillar		0,791	0,0005*	0,791	0,0008*
3	Na-KMЦ			0,045*	0,733	0,003*
4	Na-KMЦ + коллаген (85/15)				0,006*	0,0002*
5	Na-KMЦ + коллаген (75/25)					0,012*

Примечание: * — статистически значимые различия ($p \leq 0,05$).

Таблица 6. Уровень статистической значимости различий показателя «Объем кровопотери» при травме селезенки, *p*

Название группы/ № группы		2	3	4	5	6
		Surgicel Fibrillar	Na-KMЦ	Na-KMЦ + коллаген (85/15)	Na-KMЦ + коллаген (75/25)	Na-KMЦ + коллаген (50/50)
1	Tachocomb	0,14	0,162	0,623	0,026*	0,054
2	Surgicel Fibrillar		0,623	0,028*	0,344	0,427
3	Na-KMЦ			0,121	0,571	0,678
4	Na-KMЦ + коллаген (85/15)				0,011*	0,017*
5	Na-KMЦ + коллаген (75/25)					0,791

Примечание: * — статистически значимые различия ($p \leq 0,05$).

изучен достаточно, и считается, что коллаген запускает процессы коагуляции и образования сгустка крови. Согласно нашим результатам, данное утверждение справедливо и при использовании изделий на основе морского коллагена глубоководного кальмара. Использование коллагена «морского» происхождения обладает рядом преимуществ, в частности низкой иммуногенной активностью (снижение риска анафилактических реакций, что возможно при использовании материалов на основе изделий из коллагена животного происхождения), при высокой гемостатической эффективности. Кровоостанавливающее действие коллагена потенцирует порозная структура Na-KMЦ, которая адсорбирует жидкий компонент крови, увеличивая концентрацию форменных элементов в зоне контакта травмированной поверхности и МПГИ.

Такие изделия могут быть выполнены на производственных базах отечественных производителей изделий медицинского происхождения, без использования дорогостоящего импортного сырья. Последующие

исследования данных изделий (реакция тканей макроорганизма, манипуляционные свойства МПГИ интраоперационно и в эксперименте *in vitro*) позволят оценить возможность и перспективность их внедрения в клиническую практику хирургических стационаров.

ВЫВОДЫ

Рабочей гипотезой исследования является предположение об увеличении эффективности МПГИ за счет внесения в его состав коллагена (в том числе и морского происхождения). Опираясь на полученные данные, можно утверждать, что гипотеза получила обоснование ввиду наличия статистически значимых различий и уменьшения времени кровотечения и объема кровопотери в группе с использованием МПГИ (состав которого представлен равными долями коллагена и Na-KMЦ). Результаты данной работы служат обоснованием для дальнейшего всестороннего тестирования разработанных МПГИ.

Литература

1. Abri B, Vahdati SS, Paknezhad S, et al. Blunt abdominal trauma and organ damage and its prognosis. *Journal of Analytical Research in Clinical Medicine*. 2016; 4 (4): 228–32. Available from: <https://doi.org/10.15171/jarcm.2016.038>.
2. Chiara O, Cimbanassi S, Bellanova G, et al. A systematic review on the use of topical hemostats in trauma and emergency surgery. *BMC Surgery*. 2018; 18 (1): 68. Available from: <https://doi.org/10.1186/s12893-018-0398-z>.
3. Hickman DA, Pawlowski CL, Sekhon UDS, et al. Biomaterials and advanced technologies for hemostatic management of bleeding. *Advanced materials*. 2017; 30 (4): 1–73. Available from: <https://doi.org/10.1002/adma.201700859>.
4. Li X, Li YC, Chen M, et al. Chitosan/rectorite nanocomposite with injectable functionality for skin hemostasis. *J Mater Chem B*. 2018; 6 (41): 1–6. Available from: <https://doi.org/10.1039/c8tb01085d>.
5. Huang H, Chen H, Wang X, et al. Degradable and bioadhesive alginate-based composites: an effective hemostatic agent. *ACS Biomater Sci Eng*. 2019; 5 (10): 5498–505.
6. Biranje SS, Madiwale PV, Patankar KC, et al. Hemostasis and anti-necrotic activity of wound-healing dressing containing chitosan nanoparticles. *Int J Biol Macromol*. 2019; 121: 936–46.
7. Липатов В. А., Фрончек Э. В., Григорьян А. Ю., Северинов Д. А., Наимзада М., Закутаева Л. Ю. Оценка эффективности новых образцов местных кровоостанавливающих средств на основе хитозана после резекции печени в эксперименте. *Российский медико-биологический вестник им. академика И.П. Павлова*. 2023; 1 (31): 89–96. Доступно по ссылке: <https://doi.org/10.17816/PAVLOVJ108094>.
8. Буркова Н. В., Киричук О. П., Кузнецов С. И. Анализ активационных возможностей и гемолитической активности пленок хитозана при их контакте с клеточными элементами венозной крови человека *in vitro*. *Смоленский медицинский альманах*. 2018; 4: 207–10.
9. Исмаилов Б. А., Садыков Р. А., Ким О.В. Гемостатический имплантат из производных целлюлозы. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. 2019; 9: 56–61. Доступно по ссылке: <https://doi.org/10.31146/1682-8658-ecg-169-9-56-61>.
10. Савицкий Д. С., Ткаченко А. Н. Патоморфологическое изучение гемостаза при травмах печени в эксперименте. *Профилактическая и клиническая медицина*. 2019; 2 (71): 46–51.
11. Chen K, Wang F, Liu S, et al. In situ reduction of silver nanoparticles by sodium alginate to obtain silver-loaded composite wound dressing with enhanced mechanical and antimicrobial property. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2020; 148: 501–09.
12. Чарыев Ю. О., Аскеров Э. М., Рыжова Т. С., Муравлянцева М. М. Гемостатические препараты местного действия в современной хирургической практике. *Тверской медицинский журнал*. 2022; 1: 31–41.
13. Липатов В. А., Гаврилюк В. П., Северинов Д. А., Григорьян А. Ю. Оценка эффективности гемостатических материалов в остром эксперименте *in vivo*. *Анналы хирургической гепатологии*. 2021; 26 (2): 137–43. <https://doi.org/10.16931/10.16931/1995-5464.2021-2-137-143>.
14. Zhu X, Wang J, Wu S, et al. Biological application of novel biodegradable cellulose composite as a hemostatic material. *Mediators of Inflammation*. 2022: 1–8. Available from: <https://doi.org/10.1155/2022/4083477>.
15. Земляной А. Б. Средство местного гемостаза — текучая активная гемостатическая матрица. *Хирургия. Журнал им. Н. И. Пирогова*. 2019; 5: 104–15. Available from: <https://doi.org/10.17116/hirurgia2019051104>.
16. Huang L, Liu GL, Kaye AD, et al. Advances in topical hemostatic agent therapies: a comprehensive update. *Adv Ther*. 2020; 37(10): 4132–4148. <https://doi.org/10.1007/s12325-020-01467-y>.
17. Alisherovich UK, Ugli KNB, Ugli KY, et al. Evaluation of the effectiveness of multi-stage surgical tactics in severe liver damage. *ReFocus*. 2023; 1 (2): 312–18. Available from: <https://doi.org/10.5281/zenodo.7592933>.
18. Tompeck AJ, Gajdhar AUR, Dowling M, et al. A comprehensive review of topical hemostatic agents: The good, the bad, and the novel. *J Trauma Acute Care Surg*. 2020; 88 (1): 1–21. Available from: <https://doi.org/10.1097/TA.0000000000002508>.

References

1. Abri B, Vahdati SS, Paknezhad S, et al. Blunt abdominal trauma and organ damage and its prognosis. *Journal of Analytical Research in Clinical Medicine*. 2016; 4 (4): 228–32. Available from: <https://doi.org/10.15171/jarcm.2016.038>.
2. Chiara O, Cimbanassi S, Bellanova G, et al. A systematic review on the use of topical hemostats in trauma and emergency surgery. *BMC Surgery*. 2018; 18 (1): 68. Available from: <https://doi.org/10.1186/s12893-018-0398-z>.

3. Hickman DA, Pawlowski CL, Sekhon UDS, et al. Biomaterials and advanced technologies for hemostatic management of bleeding. *Advanced materials*. 2017; 30 (4): 1–73. Available from: <https://doi.org/10.1002/adma.201700859>.
4. Li X, Li YC, Chen M, et al. Chitosan/rectorite nanocomposite with injectable functionality for skin hemostasis. *J Mater Chem B*. 2018; 6 (41): 1–6. Available from: <https://doi.org/10.1039/c8tb01085d>.
5. Huang H, Chen H, Wang X, et al. Degradable and bioadhesive alginate-based composites: an effective hemostatic agent. *ACS Biomater Sci Eng*. 2019; 5 (10): 5498–505.
6. Biranje SS, Madiwale PV, Patankar KC, et al. Hemostasis and anti-necrotic activity of wound-healing dressing containing chitosan nanoparticles. *Int J Biol Macromol*. 2019; 121: 936–46.
7. Lipatov VA, Fronchek JeV, Grigorjan AJu, Severinov DA, Naimzada M, Zakutaeva LJ. Ocenka jeffektivnosti novyh obrazcov mestnyh krovoostanavlivajushih sredstv na osnove hitozana posle rezekcii pecheni v jeksperimente. *Rossijskij mediko-biologicheskij vestnik im. akademika I. P. Pavlova*. 2023; 1 (31): 89–96. Dostupno po slylke: <https://doi.org/10.17816/PAVLOVJ108094>. Russian.
8. Burkova NV, Kirichuk OP, Kuznecov SI. Analiz aktivacionnyh vozmozhnostej i gemoliticheskoj aktivnosti plenok hitozana pri ih kontakte s kletochnymi jelementami venoznoj krovi cheloveka in vitro. *Smolenskij medicinskij al'manah*. 2018; 4: 207–10. Russian.
9. Ismailov BA, Sadykov RA, Kim OV. Gemostaticeskij implantat iz proizvodnyh cellulozy. *Jeksperimental'naja i klinicheskaja gastrojenterologija*. 2019; 9: 56–61. Dostupno po slylke: <https://doi.org/10.31146/1682-8658-ecg-169-9-56-61>. Russian.
10. Savickij DS, Tkachenko AN. Patomorfologicheskoe izuchenie gemostaza pri travmah pecheni v jeksperimente. *Profilakticheskaja i klinicheskaja medicina*. 2019; 2 (71): 46–51. Russian.
11. Chen K, Wang F, Liu S, et al. In situ reduction of silver nanoparticles by sodium alginate to obtain silver-loaded composite wound dressing with enhanced mechanical and antimicrobial property. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2020; 148: 501–09.
12. Charyev JuO, Askerov JeM, Ryzhova TS, Muravljanceva MM. Gemostaticheskie preparaty mestnogo dejstvija v sovremennoj hirurgicheskoy praktike. *Tverskoj medicinskij zhurnal*. 2022; 1: 31–41. Russian.
13. Lipatov VA, Gavriljuk VP, Severinov DA, Grigorjan AJu. Ocenka jeffektivnosti gemostaticeskikh materialov v ostrom jeksperimente in vivo. *Annaly hirurgicheskoy gepatologii*. 2021; 26 (2): 137–43. <https://doi.org/10.16931/10.16931/1995-5464.2021-2-137-143>. Russian.
14. Zhu X, Wang J, Wu S, et al. Biological application of novel biodegradable cellulose composite as a hemostatic material. *Mediators of Inflammation*. 2022: 1–8. Available from: <https://doi.org/10.1155/2022/4083477>.
15. Zemljanoj A. B. Sredstvo mestnogo gemostaza — tekuchaja aktivnaja gemostaticheskaja matrica. *Hirurgija. Zhurnal im. N. I. Pirogova*. 2019; 5: 104–15. Available from: <https://doi.org/10.17116/hirurgia2019051104>. Russian.
16. Huang L, Liu GL, Kaye AD, et al. Advances in topical hemostatic agent therapies: a comprehensive update. *Adv Ther*. 2020; 37(10): 4132–4148. <https://doi.org/10.1007/s12325-020-01467-y>.
17. Alisherovich UK, Ugli KNB, Ugli KY, et al. Evaluation of the effectiveness of multi-stage surgical tactics in severe liver damage. *ReFocus*. 2023; 1 (2): 312–18. Available from: <https://doi.org/10.5281/zenodo.7592933>.
18. Tompeck AJ, Gajdhar AUR, Dowling M, et al. A comprehensive review of topical hemostatic agents: The good, the bad, and the novel. *J Trauma Acute Care Surg*. 2020; 88 (1): 1–21. Available from: <https://doi.org/10.1097/TA.0000000000002508>.

МЕСТНОЕ ЛЕЧЕНИЕ КОНТАМИНИРОВАННОЙ КОЖНОЙ РАНЫ ОРИГИНАЛЬНОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ КОМБИНАЦИЕЙ В СОЧЕТАНИИ С МАГНИТОТЕРАПИЕЙ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

А. Г. Терехов , Т. А. Панкрушева, М. С. Чекмарева, Е. Н. Туренко, Е. Б. Артюшкова, Е. С. Мишина, А. Ю. Григорьян, А. А. Мятечкин

Курский государственный медицинский университет Минздрава России, Курск, Россия

Лечение контаминированных ран кожи в условиях ишемии поверхностных мягких тканей в современном мире — это проблема, которая представляет определенные трудности. Актуален поиск новых способов и средств лечения, обладающих мультинаправленным действием. Целью исследования было изучить особенности течения раневого процесса и эффективности воздействия на контаминированную кожную рану сочетанного применения разработанной комбинации. Экспериментальную работу проводили на трех группах крыс-самцов породы «Вистар», которым моделировали контаминированную кожную рану. В первой группе лечение не проводили, во второй использовали разработанную комбинацию — бензалкония хлорид, декспантенол, пентоксифиллин и натриевую соль карбоксиметилцеллюлозы, в сочетании с магнитотерапией, в третьей — мазь с диоксометилтетрагидропиримидином + хлорамфениколом и магнитотерапию. Для оценки течения раневого процесса использовали планиметрический метод, определяли кислотно-щелочной баланс, показатели микрогемодинамики и локальной температуры раневого ложа. По завершению исследования площадь ран во второй группе была меньше, чем в первой и третьей в 10,7 и 3,7 ($p < 0,05$) раза. Скорость заживления выше во второй группе — в 2,6 и 1,3 ($p < 0,05$) раза. Максимальные показатели микрогемодинамики и наименьшие значения pH отмечали во второй группе. Таким образом, сочетанное применение разработанной нами лекарственной комбинации и магнитотерапии благоприятно влияло на процесс заживления контаминированной кожной раны, что позволяет рекомендовать данный способ лечения для дальнейшего изучения на доклиническом уровне.

Ключевые слова: контаминированная рана, местное лечение ран, бензалкония хлорид, пентоксифиллин, раневой процесс

Вклад авторов: А. Г. Терехов — разработка концепции и дизайна исследования, анализ полученных данных, редактирование; Т. А. Панкрушева — разработка лекарственной комбинации, сбор данных; М. С. Чекмарева — разработка лекарственной комбинации, сбор данных; Е. Н. Туренко — сбор материала, статистическая обработка данных, анализ полученных данных, подготовка текста; Е. Б. Артюшкова — сбор материала, анализ полученных данных; Е. С. Мишина — сбор материала, статистическая обработка данных, анализ полученных данных; А. Ю. Григорьян — анализ полученных данных, подготовка текста, редактирование.

Соблюдение этических стандартов: исследование было одобрено этическим комитетом «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (протокол № 7 от 30 ноября 2020 г.). Серии экспериментов, проведенные на животных, условия их содержания соответствовали принципам Страсбургской конвенции по защите прав животных (Франция, 1986) и ГОСТу 33044-2014 «Принципы надлежащей лабораторной практики».

✉ **Для корреспонденции:** Алексей Геннадьевич Терехов
ул. Карла Маркса, д. 3, г. Курск, 305041, Россия; alexter4646@yandex.ru

Статья получена: 09.11.2023 **Статья принята к печати:** 19.12.2023 **Опубликована онлайн:** 31.12.2023

DOI: 10.47183/mes.2023.065

LOCAL TREATMENT OF A CONTAMINATED SKIN WOUND USING AN ORIGINAL DRUG COMBINATION AND MAGNETIC THERAPY IN AN EXPERIMENT

Terekhov AG , Pankrusheva TA, Chekmareva MS, Turenko EN, Artyushkova EB, Mishina ES, Grigoryan AYU, Myatechkin AA

Kursk State Medical University, Kursk, Russia

Currently, treatment of contaminated skin wounds aggravated by ischemia of superficial soft tissues is a problem that presents certain difficulties. The search for the new ways of treatment and drugs possessing a multidirectional effect is a relevant problem. In this study, we aimed to explore the peculiarities of wound evolution and the effectiveness of the designed combination of medicines and magnetic therapy in a contaminated skin wound case. For the experiment, we divided male Wistar rats into 3 groups and modeled a contaminated skin wound in each of the animals. In the first group, no treatment was performed, in the second, we used the developed combination (benzalkonium chloride, dexpanthenol, pentoxifylline and carboxymethylcellulose sodium salt, combined with magnetic therapy), in the third — ointment with dioxomethyltetrahydropyrimidine + chloramphenicol and magnetic therapy. Planimetry, acid-base balance registration, measurements of microhemocirculation and local temperature of the wound bed underpinned monitoring assessment of the wounds. At the end of the study, the wound area in the second group was 10.7 and 3.7 ($p < 0.05$) times smaller than in the first and third groups, respectively, and healing rate — 2.6 and 1.3 ($p < 0.05$) times faster. The maximum values of microhemocirculation and the lowest pH were registered in the second group. Thus, combination of drugs and magnetotherapy we designed promoted healing of a contaminated skin wound, which allows recommending this treatment method for further study at the preclinical level.

Keywords: contaminated wound, local wound treatment, benzalkonium chloride, pentoxifylline, wound process

Author contribution: Terekhov AG — study concept and design, analysis of the resulting data, editing; Pankrusheva TA — design of the drug combination, data collection; Chekmareva MS — design of the drug combination, data collection; Turenko EN — collection of material, statistical data processing, analysis of the resulting data, article preparation; Artyushkova EB — collection of material, analysis of the resulting data; Mishina ES — collection of material, statistical data processing, analysis of the resulting data; Grigoryan AYU — analysis of the resulting data, article preparation, editing; Myatechkin AA — analysis of the resulting data, article preparation, editing.

Compliance with the ethical standards: the study was approved by the Ethics Committee of the Kursk State Medical University (Minutes #7 of November 30, 2020). The series of animal experiments, the conditions of their detention met the requirements of the Strasbourg Convention for the Protection of Animal Rights (France, 1986) and GOST 33044-2014 Principles of good laboratory practice.

✉ **Correspondence should be addressed:** Alexey G. Terekhov
Karla Marxa, 3, Kursk, 305041, Russia; alexter4646@yandex.ru

Received: 09.11.2023 **Accepted:** 19.12.2023 **Published online:** 31.12.2023

DOI: 10.47183/mes.2023.065

Лечение контаминированной раны в современном мире — это проблема, которая доставляет определенные трудности в хирургической практике врача. Хронические раны при сахарном диабете, хронической артериальной недостаточности приводят к инвалидизации пациентов, косметическим дефектам, а также создают условия для распространения инфекции, повышающей угрозу развития язвенно-некротического процесса и в последующем гангрены и ампутации [1]. Ежегодное число ампутаций конечности варьирует от 13,7 до 32,3 на каждые 100 тыс. населения экономически развитых стран, а последствия ампутации приводят к летальности в 50% случаев в течение первого года, что определяет актуальность решения этой проблемы в современной хирургии [2, 3]. Данная группа пациентов нуждается в лечении в стационарных условиях. Ведение открытых ран подразумевает использование перевязочных средств, которые должны отвечать определенным требованиям: препятствовать попаданию микроорганизмов в рану, к тому же в состав перевязочных средств не должны входить компоненты, оказывающие токсическое, аллергическое, мутагенное и канцерогенное действие [4]. Основными критериями, которым должен руководствоваться врач при выборе метода лечения, являются сокращение сроков заживления, предотвращение развития осложнений, эстетический вид рубца, что дает почву для поиска новых способов лечения ран, разработки комбинаций препаратов и поиска оптимального сочетания медикаментозного и физиотерапевтического воздействия на раневой процесс [4].

Таким образом, на первый план встает вопрос о создании новой многокомпонентной лекарственной комбинации, которая будет отвечать всем вышеперечисленным требованиям. В качестве основы возможно использование натриевой соли карбоксиметилцеллюлозы (Na-KМЦ), на которой иммобилизируют действующие вещества. По данным литературы, на основе Na-KМЦ изготавливают пленки, которые ускоряют образование и созревание новой ткани, активно влияют на процессы фибриллогенеза, а также обладают выраженным стимулирующим действием на репаративные процессы в инфицированных ранах кожи [5]. Гели на основе Na-KМЦ также применяют в качестве средства профилактики интраоперационного высыхания брюшины и образования послеоперационных спаек при операциях на органах, имеющих серозное покрытие [6].

В основу комбинации целесообразно включить также компонент, который будет усиливать регенерацию кожи, один из таких — это декспантенол. Данный препарат при местном нанесении переходит в пантотеновую кислоту, которая, в свою очередь, входит в состав кофермента А. Все оксидоредуктазы нуждаются в коферменте, без которого невозможны окислительно-восстановительные процессы. Декспантенол усиливает дифференцировку эпидермиса и пролиферацию дермальных фибробластов, тем самым поддерживая регенерацию кожи [7]. Эти особенности привели к разработке различных местных препаратов, содержащих декспантенол, которые широко используют в области дерматологии. Местно декспантенол также рекомендован для лечения мелких и поверхностных ран [8].

В качестве антисептического препарата желательнее использовать бактерицидный антисептик, так как к антисептикам реже развивается резистентность у патогенной микрофлоры; один из хорошо зарекомендовавших себя — бензалкония хлорид. Механизм его действия заключается в уменьшении поверхностного натяжения на

границе раздела двух сред. Впоследствии отрицательно заряженные частицы притягиваются к нему, что ведет к нарушению целостности мембран клеток, денатурации внутриклеточных белков, а также к расстройству процессов обмена веществ в клетках, приводя к выходу жизненно важных элементов в межклеточное пространство, что и ведет к элиминации микроорганизмов [9].

Учитывая, что мы ведем речь о процессе заживления контаминированной раны, перспективным видится включение в комбинацию компонента, улучшающего микроциркуляцию тканей, одним из которых является пентоксифиллин. Согласно проведенным исследованиям, пентоксифиллин улучшает реологические свойства крови путем снижения вязкости плазмы и цельной крови повышения эластичности мембран эритроцитов и подавления агрегации эритроцитов, уменьшения агрегации тромбоцитов. Препарат также оказывает противовоспалительное и антиоксидантное действие [10]. Многие исследователи рекомендуют для улучшения заживления ткани в комплекс лечения включать физические факторы, например, магнитотерапию, так как использование внешнего магнитного поля способствует адресной доставке лечебного нанокомплекса и поддержанию оптимальной концентрации препарата в ране [10, 11].

Следовательно, цель данного исследования — изучение особенностей течения раневого процесса и эффективности воздействия на контаминированную кожную рану сочетанного применения комбинации бензалкония хлорида, декспантенола, пентоксифиллина и магнитотерапии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Были проведены экспериментальные исследования *in vivo* на 90 белых крысах-самцах породы «Вистар». Выделены три группы по 30 животных в каждой. Масса каждой крысы составляла $180,0 \pm 20,0$ г. Всем животным давали ингаляционный наркоз в условиях стерильной операционной на базе Лаборатории экспериментальной хирургии и онкологии НИИ Экспериментальной медицины, производили моделирование контаминированной кожной раны в условиях ишемии по разработанному нами способу (решение о выдаче патента на изобретение «Способ моделирования кожной раны в условиях ишемии» по заявке 2023124868/14).

При моделировании раны выполняли доступ к бедренному сосудисто-нервному пучку на медиальной поверхности бедра под паховой связкой. Кетгутотом 4/0 была выполнена перевязка *a. femoralis* с резекцией ее ствола на протяжении 1/3 в дистальном направлении от паховой связки. Затем на той же конечности через семь суток после выполненной резекции ствола *a. femoralis*, на вырбитом от шерсти участке кожи, обработав операционное поле антисептическим раствором и выполнив гидропрепаровку 0,9% раствором NaCl (5 мл), в средней трети переднелатеральной поверхности бедра иссекали кожный лоскут до поверхностной фасции в виде круга диаметром 14 мм по трафарету. Выполняли контроль гемостаза, накладывали асептическую повязку. В течение четырех дней рану не обрабатывали и укрывали повязкой «Cosmopor» (впитывающую подушечку перед применением удаляли), что создавало условия для ее контаминации. Для стандартизации процесса лечения на животных надевали специальный защитный воротник

для крыс. Животных содержали в индивидуальных боксах (клетках) для исключения контакта друг с другом, на стандартном пищевом рационе, замену подстилки всем животным производили один раз в сутки. На пятый день после иссечения кожного лоскута начинали лечение, с этого момента шел отсчет времени эксперимента. Факт формирования контаминированной раны в условиях ишемии подтверждали микробиологическим исследованием и данными лазерной доплеровской флоуметрии пораженной конечности.

Группы исследования:

- 1) первая группа — контрольная, лечение не проводили;
- 2) вторая группа — сочетанное лечение комбинацией «бензалкония хлорид + декспантенол + пентоксифиллин (местно) + Na-KMЦ и магнитотерапия»;
- 3) третья группа — лечение мазью с диоксометилтетрагидропиримидином + хлорамфениколом в сочетании с магнитотерапией.

Согласно реестру лекарственных средств, мазь с диоксометилтетрагидропиримидином + хлорамфениколом оказывает противовоспалительное и противомикробное действие, активна в отношении грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов. Легко проникает вглубь тканей без повреждения биологических мембран, стимулирует процессы регенерации. В присутствии гноя и некротических масс антибактериальное действие сохраняется. Стоит также отметить, что данный препарат широко используют и в амбулаторной практике.

Комбинации препаратов и физиотерапевтических методов лечения:

- 1) бензалкония хлорид 0,02 г + декспантенол 5 г + раствор пентоксифиллина 2% до 100 г (местно) + NaKMЦ 4,0 г и магнитотерапия;
- 2) мазь с диоксометилтетрагидропиримидином + хлорамфениколом и магнитотерапия.

Во второй группе на раневой дефект наносили 0,5 мл геля соответствующей комбинации, а также проводили магнитотерапию в заданном режиме. В третьей группе использовали 0,5 мл мази с диоксометилтетрагидропиримидином + хлорамфениколом и магнитотерапию в заданном режиме. Для проведения данной процедуры использовали магнито-ИК-светолазерный терапевтический аппарат «Милта-Ф-8-01» (Бином; Россия) (ГОСТ25052-87) в режиме магнитотерапии. При лечении использовали частоты 80, 150, 300, 600, 1500, 5000 Гц; мощность — 50 мВт; длительность сеанса — 6 мин (1 мин на каждой частоте), кратность — 1 раз в день.

Лечение ран производили посредством ежедневных перевязок в стерильных условиях в течение 10 дней с использованием вышеперечисленных комбинаций.

В качестве методов исследования применяли: планиметрический (процент уменьшения площади, скорость заживления), используя программу Lesion Meter.

Процент уменьшения площади ран от исходного размера вычисляли по формуле:

$$\text{ПУП} = \frac{S_0 - S}{S_0} \times 100\%,$$

где ПУП — процент уменьшения площади; S_0 — исходная средняя площадь ран на начало лечения, мм^2 ; S — средняя площадь ран на момент измерения, мм^2 .

Скорость заживления ран вычисляли по формуле:

$$\text{СЗ} = \frac{\text{ПУП}_1 - \text{ПУП}_0}{T},$$

где СЗ — скорость заживления; ПУП_1 — процент уменьшения площади ран от исходной на момент измерения; ПУП_0 — процент уменьшения площади ран при предыдущем измерении; T — число дней между измерениями.

Состояние микрогемодинамики раны и окружающей ткани оценивали с помощью лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ), измерения выполняли на лазерном анализаторе капиллярного кровотока (модуль LDF100C, Biopac system Inc.; США) со специальным программным обеспечением для стационарного компьютера (Acq Knowledge 4.2 for MP150), используя датчик TSD-144. Определение кислотно-щелочного баланса проводили путем регистрации значений показателя pH на поверхности ран с помощью pH-метра PH98110 (Kellilong; Китай); измерение локальной температуры выполняли посредством инфракрасного термометра WF-5000 (B.Well; Швейцария) [12, 13].

Фиксирование результатов экспериментального исследования производили на 1-е, 3-и, 5-е, 8-е, 10-е сутки. Статистическую обработку результатов исследования осуществляли с помощью программ Microsoft Excel 2014 и Statistica 13.0. Количественные признаки представляли как медиан, 25 и 75 перцентили (Me (25; 75)). Для статистического анализа полученных результатов применяли критерий Краскела–Уоллиса с последующим сравнением средних рангов по группам. Различия считали статистически достоверными при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Из анализа планиметрических показателей течения раневого процесса можно заключить, что на первые сутки процент уменьшения площади (ПУП) достоверно не отличался во всех трех исследуемых группах. В динамике наблюдали постепенное уменьшение ПУП в каждой группе с каждым днем эксперимента, особенно стоит отметить, что уже на третий день во второй группе ПУП был минимальным по сравнению с другими группами (различия статистически значимы) (рис. 1). Данные на 3-и сутки исследования составили: в первой группе 21,26% (20,6; 25,19), во второй — 61,54% (57,47; 65,77), в третьей — 33,18% (30,6; 36,36). Таким образом, ПУП раны во второй группе достоверно больше, чем в первой в 2,9 раза и чем в третьей — в 1,8 раз. На 5-е сутки достоверно показатели во второй группе 73,5% (76,85; 81,41) больше, чем в первой 34,69% (28,13; 39,87) и третьей 53,33% (47,85; 55,77) группах, в 2,1 и 1,4 раза, соответственно. Во второй группе 95,74% (89,45; 99,92) к концу наблюдения ПУП ран на 10-е сутки был достоверно больше, чем в контрольной 56,22% (54,53; 61,91), в 1,7 раза, чем в третьей группе 84,59% (73,35; 86,78) — в 1,1 раз.

Согласно полученным данным (табл. 1), показатель скорости заживления во второй группе в первые трое суток был достоверно больше, чем в контрольной и третьей группах, в 2,2 и 1,4 раза соответственно. На 5–8-е сутки исследования также лидирует вторая группа, так как в ней показатель скорости заживления был достоверно больше, чем в контрольной, в 2,8 раза, чем в третьей, — в 1,3 раза. К концу наблюдения, на 8–10-е сутки, во второй группе достоверно быстрее изменялась динамика в положительную сторону — в 1,9 раз, чем в первой группе и в 1,2 раза, чем в третьей.

При сравнении средневзвешенных значений ЛДФ поверхности ран было отмечено, что показатели

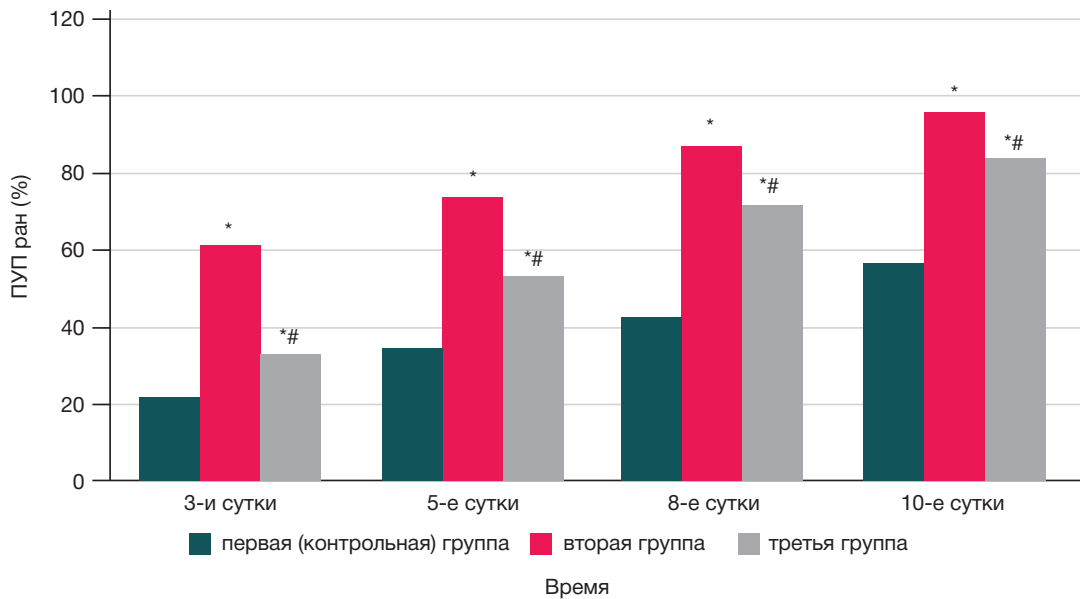


Рис. 1. Процент уменьшения площади (%), Ме (25; 75). * — $p < 0,05$ при сопоставлении первой (контрольной) группы с остальными группами; # — $p < 0,05$ при сопоставлении второй группы с третьей группой

второй группы достоверно ($p < 0,05$) отличались от третьей и первой группы на 3-е, 5-е, 8-е и 10-е сутки (рис. 2). На третьи сутки достоверно вторая группа (304,74 (288,21; 320,1) перфузионных единиц (пф. ед.)) лидировала в 1,2 и 1,03 раза по сравнению с первой (253,18 (245,39; 260,27) пф. ед.) и третьей (293,77 (278,51; 307,01) пф. ед.). Данные 5-х суток первой группы (269,26 (263,15; 275,79) пф. ед.), второй (371,69 (366,58; 377,17) пф. ед.), третьей (341,07 (334,61; 345,88) пф. ед.). Следовательно, во второй группе значения в 1,4 и 1,08 раз больше, чем в первой и третьей группах. По сравнению с первой группой (289,18 (284,97; 292,76) пф. ед.), на 8-е сутки показатель ЛДФ во второй группе (461,17 (457,33; 463,07) пф. ед.) был выше в 1,6 раза. По сравнению с третьей группой (403,84 (399,66; 407,39) пф. ед.), показатель ЛДФ во второй был выше в 1,1 раза. К концу исследования, на 10-е сутки, во второй (505,11 (499,29; 511,71) пф. ед.) группе значения были достоверно выше, чем в первой (301,45 (296,23; 307,01) пф. ед.) и в третьей (436,93 (431,59; 443,34) пф. ед.), в 1,7 и 1,1 раз соответственно.

Из анализа данных определения кислотно-щелочного баланса ран следует, что достоверно наименьшие показатели pH раны отмечались во второй группе по сравнению с первой и третьей на протяжении 3, 5, 8 и 10 суток лечения ($p < 0,05$) (табл. 2). На 3-и сутки pH во второй группе были достоверно меньше в 1,2 раза, чем в первой, и в 1,1 раз, чем в третьей. На 5-е сутки значения изменялись с такой же динамикой: во второй группе были достоверно меньше в 1,2 раза, чем в первой, и в 1,1 раз, чем в третьей. При сравнении контрольной группы с

третьей наименьшие показатели pH отмечали во второй группе, наибольшую разницу достоверно прослеживали на 10-е сутки — в 1,4 и 1,3 раза.

Из анализа результатов термометрии раневого ложа следует, что на первые сутки исследования достоверных отличий по изменению динамики локальной температуры ран во всех исследуемых группах не наблюдалось (рис. 3). На 3-и сутки лечения достоверно наименьшие показатели локальной температуры отмечали во второй (34,15 (33,6; 34,5) °C) и третьей группах (33,95 (33,7; 34,3) °C) по сравнению с контрольной (35,25 (35,1; 36,05) °C), в 1,03 раза в обеих группах. На 8-е сутки достоверно наименьшие показатели локальной температуры наблюдали во второй (36,55 (36,45; 36,8) °C) и третьей (36,83 (35,45; 37,3) °C) группах, по сравнению с контрольной (37,85 (37,5; 38,8) °C), в 1,03 раза. Контрольная группа оказалась наименее результативной по сравнению со второй и третьей. Так, температура на 10-е сутки (38,92 (38,3; 39,3) °C) увеличилась в 1,2 раза по сравнению с первыми сутками (33,75 (33,2; 34,3 °C)).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Из анализа планиметрических данных следует, что достоверно наибольшие показатели ПУП в течение всего периода исследования отмечали во второй группе. По данным скорости заживления, показатель во 2-й группе с 1-х по 5-е сутки был достоверно больше, чем в контрольной и 3-й группе, в 2,6 и 1,4 раза соответственно. Наибольшие показатели ЛДФ отмечали во 2-й группе, и

Таблица 1. Динамика заживления ран у экспериментальных животных в процессе лечения, Ме (25; 75)

Группа	Скорость заживления, %/сут			
	1–3-и сутки	3–5-е сутки	5–8-е сутки	8–10-е сутки
	$n = 24$	$n = 18$	$n = 12$	$n = 6$
Первая (контрольная)	9,05 (7,75; 2,66)	5,17 (3,66; 7,93)	2,61 (1,90; 3,19)	3,52 (2,74; 3,88)
Вторая	20,38 (18,80; 22,67)*	15,99 (11,99; 16,11)*	8,70 (6,98; 9,46)*	7,02 (4,91; 8,2)*
Третья	14,22 (11,39; 15,32)*, **	11,96 (6,73; 11,38)*, **	6,66 (3,69; 8,56)*, **	5,91 (3,85; 9,14)*, **

Примечание: * — $p < 0,05$ при сопоставлении контрольной группы с остальными группами; ** — $p < 0,05$ при сопоставлении второй группы с третьей группой.

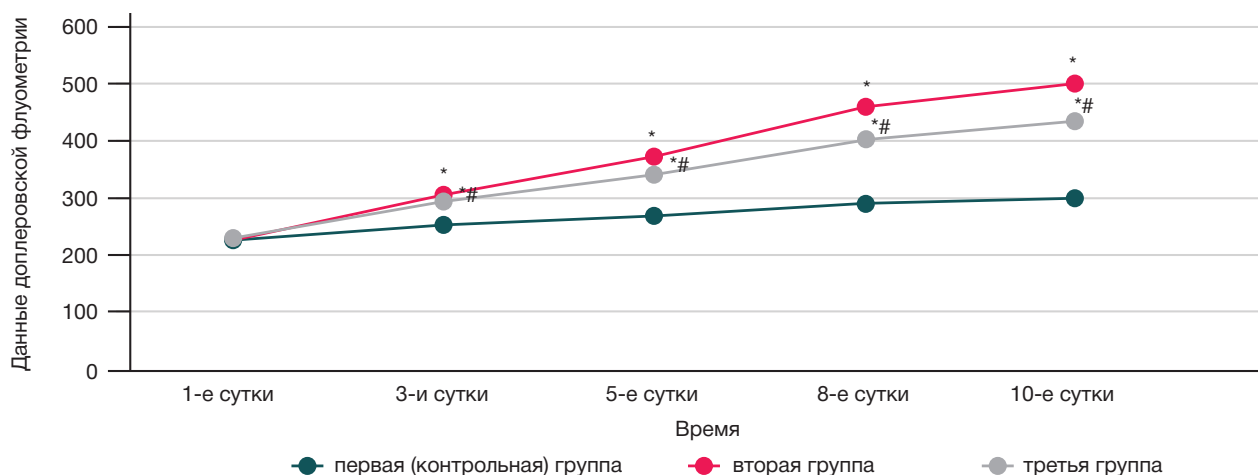


Рис. 2. Динамика лазерной доплеровской флоуметрии (пф. ед.), Ме (25; 75). * — $p < 0,05$ при сопоставлении первой (контрольной) группы с остальными группами; # — $p < 0,05$ при сопоставлении второй группы с третьей группой

они были выше, чем в 1-й и 3-й группах, в 1,3 и 1,2 раза соответственно, что говорило о наилучшем местном кровоснабжении раневого дефекта во второй группе. Согласно представленным данным кислотно-щелочного баланса ран, достоверно наименьшие показатели pH раны отмечали во 2-й группе по сравнению с 1-й и 3-й на протяжении 3-10-х суток, что указывало на создание кислой среды, которая неблагоприятно воздействовала на патогенные микроорганизмы. По данным термометрии, достоверно наименьшие показатели локальной температуры отмечали во 2-й и 3-й группах по сравнению с первой на 8-е и 10-е сутки, тогда как в контрольной группе в области раневого ложа температура неуклонно росла, что, возможно, свидетельствовало о выраженном воспалительном процессе.

Применяемые в нашей комбинации компоненты доказали эффективность в ускорении течения раневого процесса и в работах других авторов.

Так, местное применение пентоксифиллина улучшало локальный кровоток поврежденной ткани, что способствовало сокращению продолжительности заживления раневого дефекта [14]. Было доказано благоприятное влияние пентоксифиллина на заживление ожоговых ран при его местном использовании [15]. В другом исследовании указывали на активное заживление ран при лечении мазью, содержащей декспантенол, после фракционной абляционной CO_2 лазерной шлифовки фотоповрежденной кожи в рандомизированном проспективном клиническом исследовании. Авторы установили, что в условиях сухой кожи декспантенол способен в некоторой степени компенсировать пониженную гидратацию за счет увеличения содержания воды и положительного влияния на молекулярную подвижность липидных пластов и белков рогового слоя

[16]. Ряд авторов также исследовал физико-химические свойства и лечебный эффект бензалкония хлорида. Было обнаружено, что данный антисептик демонстрирует отчетливо выраженную противомикробную активность не только по отношению к патогенным бактериям, но и грибам рода *Candida* [17]. В проведенном исследовании эффективности воздействия бензалкония хлорида, иммобилизованного на основе полиэтиленоксида, на гнойно-воспалительный процесс мягких тканей были получены положительные данные, а также было отмечено увеличение скорости заживления кожного дефекта в первую фазу раневого процесса при применении данного антисептика [18].

Были проведены исследования, указывающие на благоприятное воздействие магнитотерапии на течение раневого процесса. Было установлено, что применение импульсного электромагнитного поля у пациентов с диабетической ангиопатией в 1,5 раза ускоряло заживление раны по сравнению с нелеченной [19]. В другом исследовании авторы указали на благоприятное воздействие терапевтического магнитного резонанса на заживление трофических язв, так, в опытной группе заживление происходило в течение 44 дней, а в контрольной — 97 дней [20].

ВЫВОДЫ

В ходе проведения экспериментального исследования на основании планиметрических данных, результатов исследования микрогемодиализации ран, определения кислотно-щелочного баланса, термометрии раневого ложа можно сказать, что наиболее эффективное заживление ран происходило во второй группе, где лечение проводили по предложенному нами способу. Следовательно, сочетанное применение комбинации «бензалкония

Таблица 2. Изменение показателя pH ран, Ме (25; 75)

Группа	1-е сутки $n = 30$	3-и сутки $n = 24$	5-е сутки $n = 18$	8-е сутки $n = 12$	10-е сутки $n = 6$
Первая (контрольная)	7,7 (7,54; 7,91)	7,54 (7,38; 7,71)	7,22 (7,18; 7,36)	7,275 (7,18; 7,36)	7,22 (7,11; 7,32)
Вторая	7,56 (7,02; 7,45)	6,5 (6,55; 6,83)*	6,28 (6,33; 6,512)*	5,42 (5,55; 6,245)*	5,01 (4,82; 5,95)*
Третья	7,63 (7,54; 7,99)	7,33 (7,20; 7,37)#	7,27 (6,93; 7,52)#	6,83 (6,55; 6,935)#	6,58 (6,43; 6,84)*, #

Примечание: * — $p < 0,05$ при сопоставлении контрольной группы с остальными группами; # — $p < 0,05$ при сопоставлении второй группы с третьей группой.

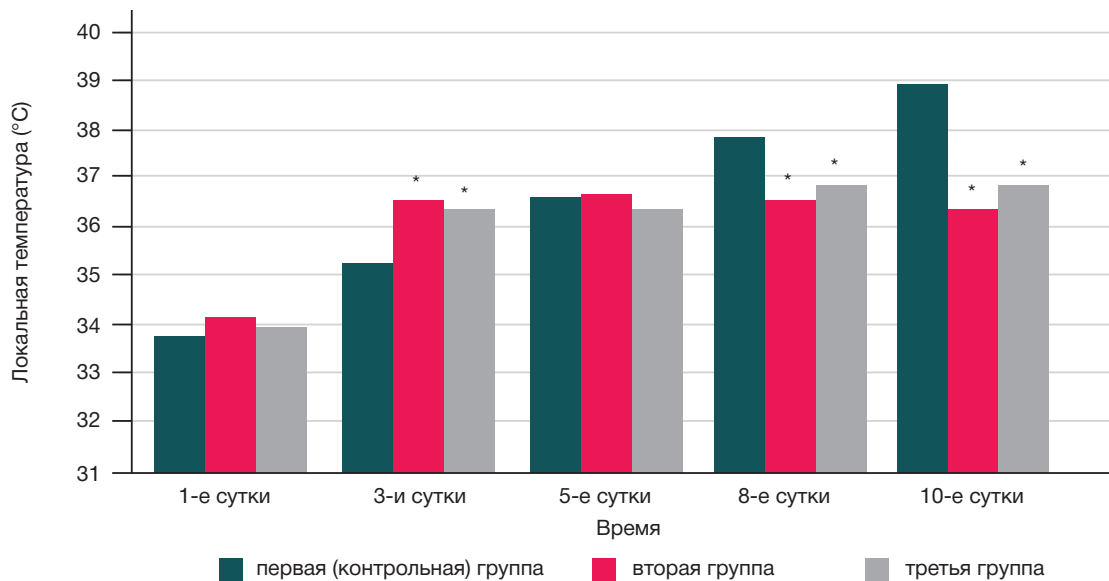


Рис. 3. Динамика локальной температуры ран (°C), Ме (25; 75); * — $p < 0,05$ при сопоставлении первой (контрольной) группы с остальными группами; # — $p < 0,05$ при сопоставлении второй группы с третьей группой

хлорид + декспантенол + NaКМЦ + пентоксифиллин» и магнитотерапии можно рекомендовать для дальнейшего

доклинического исследования в аспекте лечения контаминированных кожных ран.

Литература

- Марков С. Н., Спиридонов А. А., Слепов А. В. Возможность применения жировой аутооткати для этапного закрытия раны голени. Раны и раневые инфекции. Журнал имени профессора Б. М. Костюченко. 2021; 8 (3): 46–51.
- Куликович Ю. К., Лызикив А. А., Каплан М. Л., Коваленко А. А., Усенкова В. В. Отдаленные результаты профундопластики у пациентов с атеросклеротическим поражением артерий нижних конечностей в зависимости от состояния дистального русла. Проблемы здоровья и экологии. 2023; 20 (3): 46–52.
- Mansur HJ, Gatea FK. Effects of Topical Pentoxifylline on Induced Thermal Burn in Mice. International Journal of Pharmaceutical Quality Assurance. 2021; 12 (3): 299–305. DOI: 10.25258/ijpqa.12.3.26.
- Королёв Д. В., Плехова Н. Г., Шуматов В. Б. Местное лечение инфицированных ран в зависимости от фазы раневого процесса. Здоровье и образование в XXI веке. 2023; 25 (7): 69–75.
- Шуршина А. С., Кулиш Е. И. Изучение процесса диффузии в пленках натриевая соль карбоксиметилцеллюлозы — лекарственное вещество. Изв. Саратов. ун-та Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2021; 21 (4): 382–90.
- Липатов В. А., Кудрявцева Т. Н., Северинов Д. А. Применение карбоксиметилцеллюлозы в экспериментальной хирургии паренхиматозных органов. Наука молодых – Eruditio Juvenium. 2020; 8 (2): 269–83. DOI: 10.23888/hmj202082269-283.
- Proksch E, Berardesca E, Misery L, Engblom J, Bouwstra J. Dry Skin Management: Practical Approach in Light of Latest Research on Skin Structure and Function. J Dermatolog Treat. 2020; 31 (7): 716–22. DOI: 10.1080/09546634.2019.1607024.
- Jean-Yves Maillard. Impact of benzalkonium chloride, benzethonium chloride and chloroxyleneol on bacterial antimicrobial resistance. Journal of Applied Microbiology. 2022; 133 (6): 3322–46.
- Dion MW, Hussey DH, Osborne JW. The effect of pentoxifylline on early and late radiation injury following fractionated irradiation in C3H mice. Int J Radiat Oncol Biol Phys. 1989; 17 (1): 101–7. DOI: 10.1016/0360-3016(89)90376-3. PMID: 2745184.
- Чупин А. В., Пизова Н. В., Коршунов Д. А. Пентоксифиллин при сосудистой патологии. РМЖ. 2023; 3: 15–20.
- Богатиков А. А., Добрецов К. Г., Мелихова М. В., Рожко М. А., Лапина Н. В., Столяр С. В. и др. Новый способ лечения ожоговых ран с помощью адресной доставки лекарственных веществ магнитным наноносителем (экспериментальная часть). Журнал СВУ. Биология. 2022; 15 (3): 422–36.
- Shanmugaraj K, Keerthanaa B. Influence of Autologous Platelet Concentrates on the Dynamics of Regenerative Processes in Treatment of Trophic Ulcers of Lower Extremities. Indian Journal of Public Health. 2019; 10 (11): 1851.
- Васильев П. В., Маргарянц Н. Б., Ерофеев Н. П. Лазерная доплеровская флоуметрия в исследовании микролимфодинамики. Современные технологии в медицине. 2019; 11 (2): 92–7.
- Aghajani A, Kazemi T, Enayatifard R, Amiri FT, Narenji M. Investigating the skin penetration and wound healing properties of niosomal pentoxifylline cream. Eur J Pharm Sci. 2020; 151: 105434.
- Moreira VM, et al. Pentoxifylline/Chitosan Films on Wound Healing: In Vitro/In Vivo Evaluation. Pharmaceutics. 2023; 15 (4): 1122.
- Григорьян А. Ю., Бежин А. И., Панкрушева Т. А., Жилиева Л. В., Мишина Е. С. Выбор оптимальной основы для комбинации с бензалкония хлоридом для лечения гнойных ран (экспериментальное исследование). ВММТ. 2021; 28 (2): 35–9.
- Шутов Ю. М., Шумков О. А., Верятин Я. А. Оценка стимулирующего влияния обогащенной тромбоцитами аутоплазмы и оптимизации резорбционной функции лимфатической системы на заживление трофической язвы венозной этиологии. Медицина. Социология. Философия. Прикладные исследования. 2023; 1: 15–23.
- Бежин А. И., Липатов В.А., Фрончек Э. В. и др. Применение хитозан-коллагенового комплекса с нано-частицами серебра и химотрипсином в лечении гнойно-некротических ран. Вестник новых медицинских технологий. 2019; 26 (3): 23–8. DOI: 10.21626/vestnik/2019-2/01.
- Amareswari VH, Padma K, Dharmarajan P, Shivakumar S, Dhillip KS. Evaluation of Efficacy of Pulsed Electromagnetic Field Therapy as an Adjuvant Therapy in Healing of Diabetic Foot Ulcers. International Journal of Physiology. 2020; 8 (2): 6–12. DOI: 10.37506/ijop.v8i2.1234.
- Dixit S, Ahmad I, Gular K, Eid RA, Reddy RS, Ribeiro IL, et al.

Efficacy of single versus multiple exposure by electromagnetic modalities on gram-negative and positive bacterial strains in an

in-vitro model. *Saudi J Biol Sci.* 2021; 28 (3): 1678–86. DOI: 10.1016/j.sjbs.2020.12.004.

References

1. Markov SN, Spiridonov AA, Slepov AV. The possibility of using autologous adipose tissue for the stage shin wound closing. *Wounds and wound infections. The Prof. BM Kostyuchenok Journal.* 2021; 8 (3): 46–51. Russian.
2. Kulikovich JK, Lyzikov AA, Kaplan ML, Kovalenko AA, Usiankova VV. Long-term results of profundoplasty in patients with atherosclerotic lesions of the arteries of the lower extremities, depending on the state of the distal bed. *Health and Ecology Issues.* 2023; 20 (3): 46–52. Russian.
3. Mansur HJ, Gatea FK. Effects of Topical Pentoxifylline on Induced Thermal Burn in Mice. *International Journal of Pharmaceutical Quality Assurance.* 2021; 12 (3): 299–305. DOI: 10.25258/ijpqa.12.3.26.
4. Korolev DV, Shumatov VB, Plekhova NG. Local treatment of infected wounds depending on the phase of the wound process. *Health & education millennium.* 2023; 25 (7): 69–75. Russian.
5. Shurshina AS, Kulish EI. Study of the diffusion process in films sodium salt of carboxymethyl cellulose — drug. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology.* 2021; 21 (4): 382–90. Russian.
6. Lipatov VA, Kudryavtseva TN, Severinov DA. Application of cellulose derivatives in experimental surgery of parenchymal organs. *Science of the young (Eruditio Juvenium).* 2020; 8 (2): 269–83. DOI: 10.23888/hmj202082269-283. Russian.
7. Proksch E, Berardesca E, Misery L, Engblom J, Bouwstra J. Dry Skin Management: Practical Approach in Light of Latest Research on Skin Structure and Function. *J Dermatolog Treat.* 2020; 31 (7): 716–22. DOI: 10.1080/09546634.2019.1607024.
8. Jean-Yves Maillard. Impact of benzalkonium chloride, benzethonium chloride and chloroxylenol on bacterial antimicrobial resistance. *Journal of Applied Microbiology.* 2022; 133 (6): 3322–46.
9. Dion MW, Hussey DH, Osborne JW. The effect of pentoxifylline on early and late radiation injury following fractionated irradiation in C3H mice. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1989; 17 (1): 101–7. DOI: 10.1016/0360-3016(89)90376-3. PMID: 2745184.
10. Chupin AV, Pizova NV, Korshunov DA. Pentoxifylline in vascular pathology. *RMJ.* 2023; 3: 15–20. Russian.
11. Bogatkov AA, Dobretsov KG, Melikhova MV, Rozhko MA, Lapina NV, Stolyar SV, et al. A new method for treating burn wounds using targeted delivery of medicinal substances by magnetic nanocarrier (experimental part). *J. Sib. Fed. Univ. Biol.* 2022; 15 (3): 422–36. Russian.
12. Shanmugaraj K, Keerthana B. Influence of Autologous Platelet Concentrates on the Dynamics of Regenerative Processes in Treatment of Trophic Ulcers of Lower Extremities. *Indian Journal of Public Health.* 2019; 10 (11): 1851.
13. Vasilev PV, Margaryants NB, Erofeev NP. Laser doppler flowmetry in the microlymphodynamics study. *Sovremennye tehnologii v medicine.* 2019; 11 (2): 92–7. Russian.
14. Aghajani A, Kazemi T, Enayatifard R, Amiri FT, Narenji M. Investigating the skin penetration and wound healing properties of niosomal pentoxifylline cream. *Eur J Pharm Sci.* 2020; 151: 105434.
15. Moreira VM, et al. Pentoxifylline/Chitosan Films on Wound Healing: In Vitro/In Vivo Evaluation. *Pharmaceutics.* 2023; 15 (4): 1122.
16. Grigoryan AY, Bezhin AI, Pankrusheva TA, Zhilyaeva LV, Mishina ES. Selection of the optimal basis for combination with benzalkonium chloride for the treatment of purulent wounds (experimental study). *Journal of New Medical Technologies.* 2021; 28 (2): 35–9. Russian.
17. Shutov YuM, Shumkov OA, Veryatin YaA. Evaluation of the stimulating effect of platelet-enriched autoplasm and optimization of the resorption function of the lymphatic system on the healing of a trophic ulcer of venous etiology. *Medicine. Sociology. Philosophy. Applied research.* 2023; 1: 15–23. Russian.
18. Bezhin AI, Lipatov VA, Fronchek EV, et al. Application chitosan-collagen complex nano-particles of silver and chymotrypsin in the treatment of purulent necrotic wounds. *Journal of New Medical Technologies.* 2019; 26 (3): 23–8. DOI: 10.21626/vestnik/2019-2/01. Russian.
19. Amareswari VH, Padma K, Dharmarajan P, Shivakumar S, Dhilip KS. Evaluation of Efficacy of Pulsed Electromagnetic Field Therapy as an Adjuvant Therapy in Healing of Diabetic Foot Ulcers. *International Journal of Physiology.* 2020; 8 (2): 6–12. DOI: 10.37506/ijop.v8i2.1234.
20. Dixit S, Ahmad I, Gular K, Eid RA, Reddy RS, Ribeiro IL, et al. Efficacy of single versus multiple exposure by electromagnetic modalities on gram-negative and positive bacterial strains in an in-vitro model. *Saudi J Biol Sci.* 2021; 28 (3): 1678–86. DOI: 10.1016/j.sjbs.2020.12.004.

СЕМЕЙНЫЙ СЛУЧАЙ НАСЛЕДУЕМОЙ ХРОМОСОМНОЙ ИНТЕГРАЦИИ ВГЧ-6А С ПРОВЕДЕНИЕМ ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА

О. В. Голева¹✉, Л. Г. Данилов², А. В. Кусакин^{1,4}, Ю. А. Эйсмонт¹, И. В. Бабаченко¹, Н. С. Тянь¹, А. Б. Чухловин⁵, А. В. Крылов¹, О. С. Готов^{1,3,4}

¹ Детский научно-клинический центр инфекционных болезней Федерального медико-биологического агентства, Санкт-Петербург, Россия

² Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

³ Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д. О. Отта, Санкт-Петербург, Россия

⁴ Университет ИТМО, Санкт-Петербург, Россия

⁵ Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия

В статье рассмотрен семейный случай хромосомной интеграции ВГЧ-6А, которая является важной и актуальной темой в области генетики и медицины. Целью исследования было проверить гипотезу о хромосомной интеграции ВГЧ-6А и его вертикальной передаче у пациента с длительным обнаружением вируса во время рекуррентных респираторных заболеваний, а также в бессимптомный период, при отсутствии жалоб на здоровье. Проведено секвенирование геномной ДНК отца пациента, построено филогенетическое дерево путем выравнивания 270 геномных сборок ВГЧ-6А/В из базы данных GenBank. В результате исследования установлен семейный случай передачи хиВГЧ-6А. Показано, что обнаруженный хиВГЧ-6А, наблюдаемый на филогенетическом древе, находится в тесном контакте с двумя другими хромосомно-интегрированными последовательностями ВГЧ-6А, о которых сообщали московские исследователи. Исследование подтвердило хромосомную интеграцию ВГЧ-6А. Дальнейшее точное хромосомное картирование хиВГЧ-6А/В было бы полезно для исключения вероятных соматических заболеваний, связанных с изменением структуры хромосом при интеграции ВГЧ-6, в частности ВГЧ-6А, а также для идентификации участков инсерции, специфичных для различных географических точек.

Ключевые слова: вирус герпеса человека 6А/В (ВГЧ-6А/В), хромосомная интеграция, хиВГЧ-6А/В, унаследованный герпесвирус, филогенетика

Вклад авторов: О. В. Голева, И. В. Бабаченко, Н. С. Тянь — планирование исследования, сбор, анализ, интерпретация данных, подготовка черновика рукописи; Л. Г. Данилов — проведение биоинформатического анализа, поиск аналитических материалов; А. В. Кусакин — планирование исследования, анализ литературы, сбор, анализ, интерпретация данных, проведение биоинформатического анализа, построение филогенетического древа, подготовка черновика рукописи; Ю. А. Эйсмонт, А. Б. Чухловин — планирование исследования, сбор, анализ, интерпретация данных; А. В. Крылов — сбор, анализ, интерпретация данных; О. В. Готов — курирование исследования, анализ, интерпретация данных, подготовка черновика рукописи.

Соблюдение этических стандартов: исследование одобрено этическим комитетом ФГБУ ДНКЦИБ ФМБА России (протокол № 107 от 27 ноября 2018 г.) и выполнено согласно Хельсинкской декларации последнего пересмотра. Получено письменное информированное согласие пациентов и их законных представителей на участие в исследовании.

✉ **Для корреспонденции:** Ольга Владимировна Голева
ул. Профессора Попова, д. 9, г. Санкт-Петербург, 197022, Россия; golev.ao@mail.ru

Статья получена: 18.08.2023 **Статья принята к печати:** 19.09.2023 **Опубликована онлайн:** 26.10.2023

DOI: 10.47183/mes.2023.043

FAMILIAL CASE OF INHERITED HUMAN HERPESVIRUS 6A WITH PHYLOGENETIC ASSESSMENT

Goleva OV¹✉, Danilov LG², Kusakin AV^{1,4}, Eismont YuA¹, Babachenko IV¹, Tian NS¹, Chukhlovina AB⁵, Krylov AV¹, Glotov OS^{1,3,4}

¹ Pediatric Research and Clinical Center for Infectious Diseases of the Federal Medical Biological Agency, Saint Petersburg, Russia

² Saint Petersburg State University, Saint Petersburg, Russia

³ Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology, Saint Petersburg, Russia

⁴ ITMO University, Saint Petersburg, Russia

⁵ Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, Saint Petersburg, Russia

The paper reports a familial case of HHV-6A chromosomal integration being an important and relevant issue of genetics and medicine. The study was aimed to test the hypothesis of HHV-6A chromosomal integration and vertical transmission in patient with persistent virus detection during recurrent respiratory diseases and the asymptomatic period when there were no health complaints. Sequencing of the patient's father genome DNA was performed, and a phylogenetic tree was constructed by aligning 270 HHV-6A/B genome assemblies from the GenBank database. As a result, a familial case of ciHHV-6A transmission was identified. It was found that the detected ciHHV-6A observed on the phylogenetic tree was closely related to other two chromosomally integrated HHV-6A sequences reported by Moscow researchers. The study confirmed HHV-6A chromosomal integration. Further precise chromosome mapping of ciHHV-6A would be useful in terms of excluding probable somatic disorders associated with the chromosome structure alteration following HHV-6, particularly HHV-6A, integration, as well as for identification of insertion sites specific for various geographic locations.

Keywords: human herpesvirus 6A/B (HHV-6A/B), chromosomal integration, ciHHV-6A/B, inherited herpesvirus, phylogenetics

Author contribution: Goleva OV, Babachenko IV, Tian NS — study planning, data acquisition, analysis and interpretation, manuscript draft; Danilov LG — bioinformatics analysis, search for analytical papers; Kusakin AV — study planning, literature review, data acquisition, analysis and interpretation, bioinformatics analysis, constructing a phylogenetic tree, manuscript draft; Eismont YuA, Chukhlovina AB — study planning, data acquisition, analysis and interpretation; Krylov AV — data acquisition, analysis and interpretation; Glotov OS — research supervision, data analysis and interpretation, manuscript draft.

Compliance with ethical standards: the study was approved by the Ethics Committee of the Pediatric Research and Clinical Center for Infectious Diseases of FMBA of Russia (protocol № 107 dated November 27, 2018) and conducted in accordance with the latest edition of the Declaration of Helsinki. Patients and their legal representatives submitted the informed consent to the study participation.

✉ **Correspondence should be addressed:** Olga V. Goleva
Professor Popov, 9, Saint Petersburg, 197022, Russia; golev.ao@mail.ru

Received: 18.08.2023 **Accepted:** 19.09.2023 **Published online:** 26.10.2023

DOI: 10.47183/mes.2023.043

Бетагерпесвирус человека 6A/B (ВГЧ-6A/B) широко распространен в человеческой популяции. В 1986 г. группа ученых из лаборатории Национального института онкологии (США) выделила вирус у больных с лимфопрролиферативными заболеваниями, определив его как В-лимфотропный человеческий вирус, однако позже были установлены его сродство к Т-лимфоцитам и принадлежность к семейству *Herpesviridae*, подсемейство *Betaherpesvirinae*, род *Roseolovirus* [1]. Передача вируса осуществляется преимущественно контактно-бытовым путем со слюной, реже воздушно-капельным, половым путем и при трансплантации органов. Основной клеткой-мишенью вируса является CD4⁺ Т-лимфоцит. ВГЧ-6 проникает в клетки посредством рецептор-опосредованного эндоцитоза, после чего происходит репликация вируса. После первичной инфекции вирусная ДНК сохраняется в мононуклеарных клетках периферической крови [2, 3]. ВГЧ-6A/B может быть триггером иммуносупрессивных и хронических аутоиммунных процессов [4].

В 2012 г. Международный комитет по таксономии вирусов (ICTV) ратифицировал разделение ВГЧ-6 на два самостоятельных таксономических варианта — ВГЧ-6A и ВГЧ-6B [5, 6]. Несмотря на то что геномы этих вирусов гомологичны на 90%, они различаются фенотипически, тропны к разным клеточным рецепторам и в большинстве случаев имеют разные клинические проявления [7]. ВГЧ-6A является менее изученным вирусом, его приобретают в более позднем возрасте и чаще выявляют у иммунокомпрометированных лиц. Предполагают, что этот вирус ассоциирован с таким нейрогенеративным заболеванием, как болезнь Альцгеймера [3, 8]. ВГЧ-6B распространен повсеместно, более 90% населения инфицируются им в течение первых трех лет жизни, а реактивация может произойти в любом возрасте [3]. Вирусы имеют различную тропность к иммунокомпетентным клеткам. Так, для проникновения в клетку ВГЧ-6A использует рецепторы CD46 и способен поражать Т-хелперы, цитотоксические Т-лимфоциты и натуральные киллеры, ВГЧ-6B, напротив, использует CD134-рецепторы и не способен персистировать в цитотоксических Т-лимфоцитах [9, 10].

Геном ВГЧ-6A и B состоит из двухцепочечной ДНК средней длины около 160 кб. Примечательно, что геном ВГЧ-6A короче генома ВГЧ-6B, он составляет приблизительно 159 кб против 162 кб соответственно [11]. Большинство генов расположены в уникальном сегменте, который фланкирован последовательностями прямых повторов (ПП). В свою очередь, ПП окружены *pac1* и *pac2*, которые являются цис-действующими сигналами для упаковки вируса [11, 12]. Число открытых рамок считывания (ОРС) зависит от типа вируса (A/B) и метода детекции. На основе последовательности ранее были предсказаны около 115–119 ОРС [11, 13], но, используя современные методы *Ribo-seq* и *RNA-seq*, ученые [8] смогли обнаружить 268 новых ОРС в ВГЧ-6A и 216 — ВГЧ-6B. Сходство нуклеотидных последовательностей между ВГЧ-6A и ВГЧ-6B в среднем составляет 90%. Наиболее консервативными генами являются *U39* и *U48*, которые кодируют гликопротеины оболочки *gB* и *gH* соответственно. Их нуклеотидные последовательности совпадают на 94%, а аминокислотные последовательности — на 96% [11, 14]. При этом наиболее изменчивые гены расположены ближе к концам генома, они в основном кодируют белки, которые предположительно участвуют в иммуномодуляции, сигнализации (хемотаксис) и проникновении вирусов [12].

Преимущественным методом диагностики ВГЧ-6A/B считается полимеразная цепная реакция (ПЦР), однако на сегодняшний день нет четко установленной границы между определением латентной и активной вирусной инфекции по ее результатам. Отсутствие ДНК ВГЧ-6A/B в плазме или сыворотке крови не означает, что в тканях (например, в сердце, щитовидной железе, головном мозге) нет персистирующих вирусов в низкой концентрации. Диагностическое значение также имеет выявление специфических антител класса IgM и IgG в сыворотке крови [16]. Исследователями [17] предложены тест-системы, учитывающие разные рамки считывания для ВГЧ-6A (*U11*, *p100*) и ВГЧ-6B (*101K*).

Способность ВГЧ-6 интегрироваться в субтеломерную область клеточной хромосомы была обнаружена в 1993 г. [18]. К настоящему времени известно, что интеграция вируса чаще происходит в теломерных участках хромосом 1q, 6q, 9q, 10q, 11p, 17p, 18p, 19q, 22q, Xp, однако механизмы до конца не изучены [19–23]. При встраивании ВГЧ-6 в геном половых клеток возможна передача вируса следующим поколениям с образованием унаследованной хромосомно-интегрированной формы ВГЧ-6A/B (унаследованный *хиВГЧ-6A/B*) в соответствии с законами Менделя [24]. *ХиВГЧ-6A/B* также может передаваться при трансплантации клеток, органов и тканей. Распространенность *хиВГЧ-6A/B* варьирует от 0,2% в Японии и 0,6% в Канаде до 1–3% в Европе и зависит от географических факторов и анализируемой популяции пациентов [25, 26].

Описаны случаи реактивации ВГЧ-6A/B из интегрированного состояния на фоне иммунодефицитных состояний, беременности с развитием клинически манифестных форм [2, 27, 28]. Во время беременности реактивация вируса из хромосомно-интегрированного состояния может приводить к возрастанию риска самопроизвольных абортов [29]. Британское исследование, проведенное в 2020 г., показало, что у женщин с инфицированными *хиВГЧ-6A/B* плодами в 2,5–3 раза повышен риск преэклампсии [30]. Биологические и медицинские последствия хромосомной интеграции ВГЧ-6A и ВГЧ-6B в настоящее время изучаются. Так, например, теломеры, связанные с эндогенным ВГЧ-6A/B, зачастую склонны к внезапным делециям, которые приводят к их укорочению. В результате наблюдается преждевременное старение клеток и нарушение тканевого гомеостаза [31–33]. Нестабильность генома может быть причиной развития онкологических заболеваний.

Целью работы было проверить гипотезу о хромосомной интеграции ВГЧ-6A и его вертикальной передаче у пациента с длительным обнаружением вируса во время рекуррентных респираторных заболеваний, а также в бессимптомный период, при отсутствии жалоб на здоровье.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Объектами исследования стали пять членов семьи — мать (36 лет), отец (39 лет), трое сыновей (4 года, 6 лет, 14 лет). Семья проживает в г. Кириши Ленинградской области.

Выделение нуклеиновых кислот и выявление ВГЧ-6A/B

При проведении исследования отбирали назофарингеальные мазки и венозную кровь для молекулярно-генетических исследований и иммуноферментного анализа. Для выявления в назофарингеальных мазках специфических фрагментов нуклеиновых кислот (НК) гриппа А, В, респираторно-синцитиального вируса, вирусов парагриппа 1–4 типов,

сезонных коронавирусов, метапневмовируса, риновирусов, а также ДНК аденовирусов групп В, С, Е и бокавирусов использовали реагенты «АмплиСенс Influenzavirus A/B-FL» и «АмплиСенс ОРВИ-скрин-FL» (ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора; Россия) для мультиплексной ПЦР с гибридационно-флуоресцентной детекцией продуктов амплификации. Выявление ДНК вируса Эпштейна-Барр (ВЭБ), ВГЧ-6А/В и цитомегаловируса (ЦМВ) в крови и мазках слизистой ротоглотки проводили с помощью ПЦР в режиме реального времени (РВ-ПЦР) с использованием набора «АмплиСенс EBV/CMV/HHV6-скрин-FL» (ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора; Россия). Определение вирусной нагрузки ВГЧ-6А/В в исследуемых биоматериалах регистрировалось в диапазоне 22–38 циклов амплификации (Ct) и выражалось в геном-эквиваленте в 1 мл нативного образца после преаналитической обработки (ГЭ/мл). Диагностически значимыми были результаты в диапазоне 35 циклов (10^3 – 10^4 ГЭ/мл). Для выделения ДНК использовали венозную кровь, помещенную в пробирки К2-ЭДТА для взятия образцов крови. Соскоб со слизистой ротоглотки помещали в «Транспортную среду с муколитиком (ТСМ)» («ИЛС»; Россия). ДНК из венозной крови выделяли на автоматической станции для очистки нуклеиновых кислот MagNa Pure (Roche; Швейцария) с использованием стандартного метода прободготовки. Очистку материала из мазка слизистой ротоглотки проводили с помощью набора для выделения «РеалБест экстракция 100» («Вектор-Бест»; Россия). Подготовка образцов, их выделение были выполнены согласно инструкциям производителей. Контроль выделения осуществляли на спектрофотометре NanoStar (BMG; Германия); количественную оценку выделенного материала проводили на флуориметре Quantus (Promega; США).

Для проверки наличия и качества ДНК в выделенном образце использовали стандартный клеточный ген GAPDH [34]. Амплификацию проводили на амплификаторе CFX-96 (BioRad; США) с помощью набора «Готовая смесь для ПЦР qPCRmix-HS» («Евроген»; Россия).

Выявление антител классов IgM и IgG к перечисленным герпесвирусам выполняли в рамках стандартного лабораторного обследования методом качественного иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием коммерческих наборов «ВектоВЭБ-VCA-IgM/G» и «ВектоЦМВ-IgM/G» («Вектор-Бест»; Россия) и полуколичественного ИФА с использованием коммерческих наборов «HHV-6-IgM/G-ИФА-БЕСТ» («Вектор-Бест»; Россия) на аппарате открытого типа «Lasurit» (Dy nex Technologies Inc.; США). Результат представлен коэффициентом позитивности (КП), выраженным в условных единицах (у.е.) согласно инструкции изготовителя тест-системы.

В качестве дополнительного материала использовали образец спермы, полученной от отца семейства. С помощью среды для выделения жизнеспособных сперматозоидов SupraSperm System (ORIGIO; США) методом центрифугирования в градиенте плотности были получены сперматозоиды. Выделение ДНК из сперматозоидов выполняли путем экстракции ДНК фенол-хлороформом. Оценка качества полученной ДНК выполняли с помощью прибора 4200 TapeStation System и набора Genomic DNA ScreenTape (Agilent Technologies; США), концентрацию измеряли на флуориметре QuantiFluor dsDNA System (Promega; США).

Прочие лабораторные исследования

В дополнение к стандартным диагностическим исследованиям проводили дифференциацию вариантов

ВГЧ-6А/В с использованием праймеров, описанных [34]. Праймеры проверили на выравнивание с эталонными последовательностями ВГЧ-6 с помощью программы BLAST (NCBI; США):

ВГЧ6 A/B FP: 5'-GACAATCACATGCCTGGATAATG-3';
 ВГЧ-6A RP, 5'-TGGTAATGTAATTGTGTGTTGTTTТА-3';
 ВГЧ-6B RP, 5'-TGGTAATGTAAGTGTGCGTTATTTTC-3';
 ВГЧ6 probe, 5'-FAM-AGCAGCTGGCGAAAGCTGTGC-TAMRA-3'.

Подготовка NGS библиотек

Библиотеки для секвенирования были подготовлены для двух приборов с целью получения длинных и коротких прочтений. Длинные прочтения получали с помощью прибора MinION (Oxford Nanopore Technologies; Великобритания). Библиотеки готовили согласно протоколу для полногеномного секвенирования с использованием набора реагентов для подготовки образцов SQK-LSK109 (Oxford Nanopore Technologies; Великобритания) и модуля NEBNext (New England Biolabs Inc.; США) для подготовки библиотек Oxford Nanopore Technologies (NEBNext). Короткие прочтения получали в ходе секвенирования на приборе MGISEQ 2000 (MGI Tech Co.; Китай). Подготовку библиотек выполняли согласно руководству [35].

Оценку качества полученных библиотек выполняли при помощи наборов D1000 ScreenTape и High Sensitivity D1000 ScreenTape (Agilent Technologies; США), концентрацию измеряли на флуориметре Quantus с использованием набора QuantiFluor dsDNA System (Promega; США).

Секвенирование ДНК

Для полногеномного секвенирования на приборе MinION использовали проточную ячейку для нанопорового секвенирования R10 (FLO-MIN111) (Agilent Technologies; США).

Полногеномное секвенирование на приборе MGISEQ 2000 было выполнено с помощью комплекта расходных материалов и реагентов DNBSEQ-G400 CoolMPS High-throughput Sequencing Set (PE100, 320 G) (MGI Tech Co.; Китай). Для полногеномного секвенирования была выделена одна дорожка.

Сборка генома

Данные, полученные с платформы Nanopore, использовали для сборки вирусного генома. Сборка генома была выполнена с использованием пользовательского конвейера: связанные с герпесвирусом прочтения извлекли с помощью программы Cookiecutter [36], используя в качестве референса московский штамм (GenBank ID: MK630134, MK630133) [37], так как он характеризуется большой глубиной покрытия (500x). Далее в исследовании использовали только участок гена gB (U39), который в этих последовательностях собран полностью. Прочтения были собраны с помощью программы SPAdes [38], собранные контиги скомпонованы вручную посредством поиска полной референсной последовательности в BLAST [39].

Филогенетический анализ

Нуклеотидная последовательность гена ВГЧ-6А glycoprotein B (gB, U39) (Gene ID: 1487917) была использована для филогенетического анализа. В анализ были включены все доступные последовательности из 270 сборок вирусов

Таблица 1. Лабораторные маркеры герпесвирусных инфекций при поступлении в стационар

Биоматериал	Маркеры герпесвирусной инфекции	Результаты обследования пациентов	
		С.Т., 4 года	С.А., 6 лет
Кровь	ДНК ВЭБ IgG (VCA) ВЭБ	Положительно Положительно	Положительно Положительно
Кровь	ДНК ВГЧ-6А	Отрицательно	105*
Соскоб с ротоглотки	ДНК ВГЧ-6А	Отрицательно	104*
Кровь	ДНК ВГЧ-6В	103*	Отрицательно
Соскоб с ротоглотки	ДНК ВГЧ-6В	104*	Отрицательно
Кровь	IgG ВГЧ-6	Отрицательно	6,9**

Примечания: * — ГЭ/мл; ** — у. е.

герпеса (как 6А, так и 6В), имеющих в базе данных GenBank. Для выравнивания последовательностей использовали алгоритм MAFFT v7.505 с моделью замещения параметров Кимуры – 1 [40]. Затем полученные выравнивания были упорядочены для построения дерева с помощью метода Neighbor-Joining (Jukes-Cantor, Bootstrap resampling = 100) [41].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В декабре 2018 г. ребенок С. А., 6 лет, вместе с братом С. Т., 4 года, поступили в Детский научно-клинический центр инфекционных болезней с первичным диагнозом «острый ринофарингит, тонзиллит, средней степени тяжести». В мазках со слизистой ротоглотки методом ПЦР не были обнаружены маркеры респираторных вирусов, а также бактериологическим методом не были выявлены бактериальные возбудители. Учитывая положительные результаты ПЦР-анализа на герпесвирусы, диагноз был уточнен как «герпесвирусная инфекция сочетанной этиологии (ВГЧ-6 + ВЭБ), острый ринофаринготонзиллит, средней степени тяжести». В периферической крови обоих пациентов была обнаружена ДНК ВГЧ-6А/В и ВЭБ. Положительные тесты на ДНК ВЭБ в клетках крови, наряду с поздними IgG к капсидному антигену (VCA) ВЭБ в сыворотке крови, доказали реактивацию вируса. Данные лабораторных анализов, представленные в табл. 1, были получены при обследовании в первые дни после поступления детей в стационар.

Маркеры ЦМВ (ДНК, IgM, IgG) у пациентов обнаружены не были. Между тем, генотипирование ВГЧ-6 в крови и мазках из ротоглотки подтвердило наличие варианта ВГЧ-6А у С. А. и ВГЧ-6В в диагностически значимых концентрациях у его брата С. Т. При этом у С. Т. антитела к ВГЧ-6А/В в сыворотке крови отсутствовали, что могло быть связано с ранним периодом острой вирусной инфекции, до начала синтеза антител, или с их низкой

концентрацией, находившейся за пределами аналитической чувствительности используемой диагностической тест-системы, тогда как у 6-летнего пациента выявлены высокие концентрации IgG к ВГЧ-6А/В (6,9 у.е.), что может указывать на большую длительность течения инфекции.

Повторное обследование этих пациентов было проведено во время контрольного визита 14 августа 2019 г. (табл. 2).

При обследовании обоих пациентов через восемь месяцев ДНК ВЭБ в крови не обнаружили. Антитела класса IgG к ВГЧ-6А/В в крови определяли в диагностических концентрациях, однако у ребенка С.А. в крови и соскобе из ротоглотки регистрировали в динамике сохранение вирусной нагрузки ВГЧ-6А, в то время как у ребенка С. Т. ДНК ВГЧ-6В ни в крови, ни в соскобе обнаружен не был. Оба ребенка на момент повторного обследования были клинически здоровы. Факт постоянного выделения ВГЧ-6А из крови и соскоба ротоглотки у наблюдаемого 6-летнего пациента мог быть связан с интеграцией генома вируса в ДНК человеческих клеток, что требовало дальнейшего подтверждения.

Чтобы доказать хромосомную интеграцию ВГЧ-6А, на обследование пригласили родителей (мать, 36 лет, отца, 39 лет) и старшего брата наблюдаемых пациентов (С. А., 14 лет), не предъявлявших жалоб на состояние здоровья на момент проведения скрининговых тестов (табл. 3).

Таким образом, мы обнаружили, что клинически бессимптомные отец и старший брат пациента также характеризовались высокой вирусной нагрузкой ВГЧ-6А в крови и мазках из ротоглотки в диагностически значимых концентрациях. При этом ДНК ВГЧ-6А и ВГЧ-6В не были обнаружены в биоматериале матери. В связи с обнаружением одинаково высокого содержания ДНК ВГЧ-6А в биопробах двух старших братьев и отца мы заподозрили наследственную передачу хВГЧ-6А от отца к детям. Из-за технической невозможности выполнения исследований волосных фолликулов, ногтевых пластин

Таблица 2. Лабораторные маркеры герпесвирусных инфекций при повторном обследовании через восемь месяцев

Биоматериал	Маркеры герпесвирусной инфекции	Результаты обследования пациентов	
		С.Т., 4 года	С.А., 6 лет
Кровь	ДНК ВЭБ	Отрицательно	Отрицательно
Кровь	ДНК ВГЧ-6А	Отрицательно	106*
Соскоб с ротоглотки	ДНК ВГЧ-6А	Отрицательно	104*
Кровь	ДНК ВГЧ-6В	Отрицательно	Отрицательно
Соскоб с ротоглотки	ДНК ВГЧ-6В	Отрицательно	Отрицательно
Кровь	IgG ВГЧ-6	5,4**	6,1**

Примечания: * — ГЭ/мл; ** — у. е.

Таблица 3. Лабораторные маркеры герпесвирусной инфекции у других членов семьи

Биоматериал	Маркеры герпесвирусной инфекции	Результаты обследования пациентов		
		С. А., 14 лет	Мать, 36 лет	Отец, 39 лет
Кровь	ДНК ВГЧ-6А	106*	Отрицательно	106*
Соскоб с ротоглотки	ДНК ВГЧ-6А	104*	Отрицательно	105*
Семенная жидкость	ДНК ВГЧ-6А	–	–	106*
Кровь	ДНК ВГЧ-6В	Отрицательно	Отрицательно	Отрицательно
Соскоб с ротоглотки	ДНК ВГЧ-6В	Отрицательно	Отрицательно	Отрицательно

Примечания: * — ГЭ/мл.

для получения ответа на вопрос о возможной вертикальной передаче хВГЧ-6А было решено получить биоматериал от родителя, отличный от крови, в котором отсутствовали бы лейкоциты и цитоплазматическая ДНК, то есть сперму, как в исследовании [42]. ДНК сперматозоидов подвергали РВ-ПЦР, отделяли от остального эякулята, после чего выделяли ДНК. После этого была выявлена нагрузка ВГЧ-6А в 106 ГЭ/мл, что эквивалентно концентрации вируса в других биоматериалах. Это также подтверждает факт хромосомной интеграции.

Впоследствии мы попытались собрать геном этого изолята ВГЧ-6А. Для подтверждения хромосомной интеграции ВГЧ-6А и проведения филогенетического анализа был секвенирован геном ВГЧ-6А с получением коротких и длинных прочтений областей вирусных генов.

Структура генома и положение на филогенетическом древе

Мы получили сборку генома ВГЧ-6А, однако покрытие прочтений не превышало 3–4 прочтения на каждый нуклеотид, поэтому сборку генома для отдельных генов проводили вручную.

Для определения филогенетического положения нового изолята вируса мы выбрали ген gB, который традиционно используют для сравнения филогенетических деревьев вируса герпеса [43]. Для этого сходные последовательности этого гена искали среди родственных геномных сборок с помощью программы локального выравнивания BLAST, а затем на основе полученных результатов проводили ручную сборку. Для анализа филогенетической идентичности были использованы последовательности из 270 геномных сборок вируса герпеса. Согласно филогении, построенной для гена gB, полученный штамм вируса оказался очень похожим на два штамма, представленные московской группой (GenBank ID: MK630134, MK630133) (рис.). Важной особенностью этих штаммов является то, что они интегрированы в геном человека. Этот вывод может подтвердить наши результаты, которые свидетельствуют об интеграции нового описанного штамма в геном хозяина.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Первый случай интеграции ВГЧ-6А/В в хромосому был описан еще в первой половине 90-х годов. После этого вирус неоднократно обнаруживали в ряде человеческих хромосом: 1q, 6q, 9q, 10q, 11p, 17p, 18p, 19q, 22q и Xp [19–23]. Отмечают, что интеграция свойственна как ВГЧ-6А, так и ВГЧ-6В, она наблюдается в теломерных участках хромосомы. В работе [43] показано, что интегрированный ВГЧ-6А существует в неактивном состоянии до конца жизни человека. Интегрированный вирус может реактивироваться

под воздействием различных факторов, что более характерно для ВГЧ-6В, и запустить инфекционный процесс. Показано, что хВГЧ-6А/В разбивается на клады, характеризующиеся определенными хромосомой и локусом, в которые встраивается вирус.

В ходе выполнения исследования мы столкнулись со случаем длительного выявления ДНК ВГЧ-6А в биоматериале (венозная кровь и назофарингеальный мазок) пациента, проводя исследования как при первичном поступлении в стационар, так и повторно, через восемь месяцев, в период отсутствия жалоб на состояние здоровья. При этом вирусная нагрузка в венозной крови и назофарингеальном мазке оставалась высокой (10^5 – 10^6 ГЭ/мл и 10^4 ГЭ/мл соответственно). На основе полученных данных была заподозрена хромосомная интеграция ВГЧ-6А. Последующее клиническое и лабораторное обследование остальных членов семьи позволило выявить сопоставимые высокие значения вирусной нагрузки в аналогичных биоматериалах как старшего брата, так и отца пациента. Кроме того, у отца ВГЧ-6А был обнаружен в половых клетках. Таким образом, была выдвинута гипотеза, что вирус мог не только интегрирован в хромосому, но и передан наблюдаемому ребенку по наследству по отцовской линии.

Для уточнения происхождения ВГЧ-6А, обнаруженного в половых клетках отца, был проведен филогенетический анализ на основе последовательности гена gB, кодирующего один из гликопротеинов оболочки вируса. Установлено, что исследуемый ВГЧ-6А находится в близком родстве с двумя собранными последовательностями хВГЧ-6А, выделенного группой исследователей [37] в Москве в 2017 г. (GenBank ID: MK630134, MK630133). Полученные данные подтвердили родство исследованного нами вируса с другими хВГЧ-6А, включенными в базу данных GenBank.

ВЫВОДЫ

Актуальным направлением дальнейших исследований может стать определение точного расположения хВГЧ-6А в локусе хромосомы методом FISH для исключения возможного развития соматических патологий, вызванных нарушением структуры хромосомы при встраивании в нее ВГЧ-6А, с течением времени, а также для установления закономерности встраивания в зависимости от географического местоположения выявляемых случаев. Дальнейшие исследования также позволят принять или опровергнуть выдвинутую ранее гипотезу соответствия последовательности вирусного генома месту встраивания в хромосому человека, что поможет избежать использования дорогостоящего и трудозатратного метода FISH и адаптировать исследования для клинической практики.

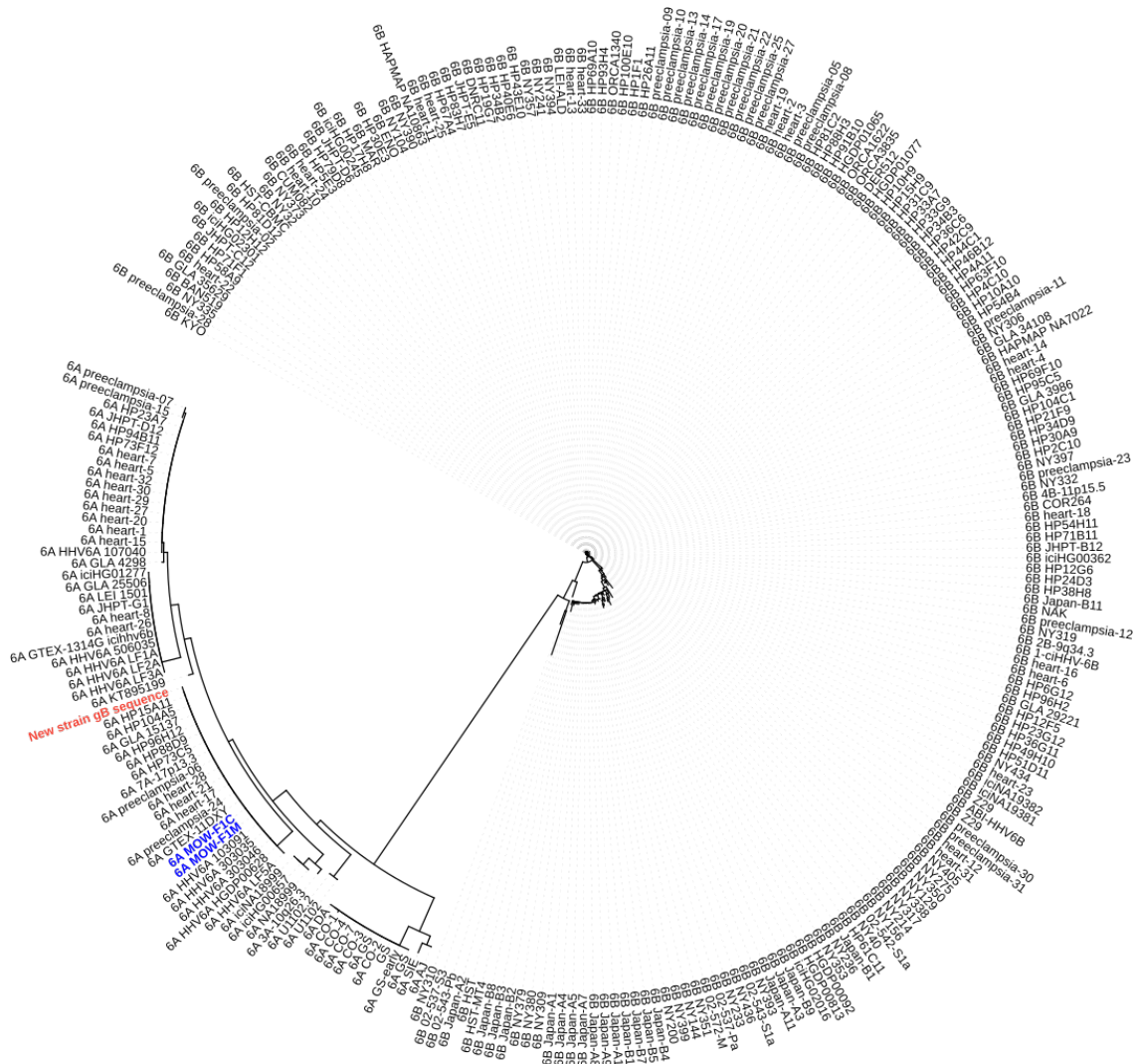


Рис. Филогенетическое положение нового штамма вируса герпеса 6 типа по отношению к другим штаммам герпеса на основе гена gB: положение нового вируса выделено на дереве красным, два штамма вируса из Москвы отмечены синим

Литература

1. Salahuddin SZ, Ablashi DV, Markham PD, Josephs SF, Sturzenegger S, Kaplan M, et al. Isolation of a new virus, HBLV, in patients with lymphoproliferative disorders. *Science*. 1986; 234 (4776): 596–601. DOI: 10.1126/science.2876520.
2. Eliassen E, Krueger G, Luppi M, Ablashi D. Lymphoproliferative syndromes associated with human herpesvirus-6a and human herpesvirus-6b. *Mediterr J Hematol Infect Dis*. 2018;10 (1): e2018035. DOI: 10.4084/MJHID.2018.035.
3. King O, Al Khalili Y. Herpes Virus Type 6. [Updated 2023 Aug 8]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK540998/>.
4. Broccolo F, Fusetti L, Ceccherini-Nelli L. Possible role of human herpesvirus 6 as a trigger of autoimmune disease. *Scientific World Journal*. 2013; (2013): 867389. DOI: 10.1155/2013/867389.
5. Adams MJ, Carstens EB. Ratification vote on taxonomic proposals to the International Committee on Taxonomy of Viruses (2012). *Arch Virol*. 2012; 157 (7): 1411–22. DOI:10.1007/s00705-012-1299-6.
6. International Committee on Taxonomy of Viruses: ICTV [Internet]. 2023 [cited 2023 Sep 13]. Available from: <https://ictv.global/vmr>.
7. Eliassen E, Hemond CC, Santoro JD. HHV-6-associated neurological disease in children: epidemiologic, clinical, diagnostic, and treatment considerations. *Pediatr Neurol*. 2020; (105): 10–20. DOI: 10.1016/j.pediatrneurol.2019.10.004.
8. Finkel Y, Schmiel D, Tai-Schmiel J, Nachshon A, Winkler R, Dobesova M, et al. Comprehensive annotations of human herpesvirus 6A and 6B genomes reveal novel and conserved genomic features. *Elife*. 2020; (9): e50960. DOI: 10.7554/eLife.50960.
9. Mori Y. Recent topics related to human herpesvirus 6 cell tropism. *Cellular microbiology*. 2009; (11): 1001–6. DOI: 10.1111/j.1462-5822.2009.01312.x.
10. Tang H, Serada S, Kawabata A, Ota M, Hayashi E, Naka T, et al. CD134 is a cellular receptor specific for human herpesvirus-6B entry. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2013; 110 (22): 9096–9. DOI: 10.1073/pnas.1305187110.
11. Dominguez G, Dambaugh TR, Stamey FR, Dewhurst S, Inoue N, Pellett PE. Human herpesvirus 6B genome sequence: coding content and comparison with human herpesvirus 6A. *J Virol*. 1999; 73 (10): 8040–52. DOI: 10.1128/JVI.73.10.8040-8052.1999.
12. Gompels UA, Kasolo FC. HHV-6 Genome: similar and different. In: Kreuger G, Ablashi DV, editors. *Human Herpesvirus-6*. London: Elsevier; 2006. pp. 23–46.

13. Isegawa Y, Mukai T, Nakano K, Kagawa M, Chen J, Mori Y, et al. Comparison of the complete DNA sequences of human herpesvirus 6 variants A and B. *J Virol.* 1999; 73 (10): 8053–63. DOI: 10.1128/JVI.73.10.8053-8063.1999.
14. Achour A, Malet I, Le Gal F, Dehée A, Gautheret-Dejean A, Bonnafous P, et al. Variability of gB and gH genes of human herpesvirus-6 among clinical specimens. *J Med Virol.* 2008; 80 (7): 1211–21. DOI: 10.1002/jmv.21205.
15. HHV-6 Foundation [Internet]. HHV-6A/B Testing [cited 2022 March 16]. Available from: <https://hhv-6foundation.org/patients/hhv-6-testing-for-patients>.
16. Agut H, Bonnafous P, Gautheret-Dejean A. Laboratory and clinical aspects of human herpesvirus 6 infections. *Clin Microbiol Rev.* 2015; 28 (2): 313–35. DOI: 10.1128/CMR.00122-14.
17. Higashimoto Y, Ohta A, Nishiyama Y, Ihira M, Sugata K, Asano Y, et al. Development of a human herpesvirus 6 species-specific immunoblotting assay. *J Clin Microbiol.* 2012; 50 (4): 1245–51. DOI: 10.1128/JCM.05834-11.
18. Luppi M, Marasca R, Barozzi P, Ferrari S, Ceccherini-Nelli L, Batoni G, et al. Three cases of human herpesvirus-6 latent infection: integration of viral genome in peripheral blood mononuclear cell DNA. *J Med Virol.* 1993; 40 (1): 44–52. DOI: 10.1002/jmv.1890400110.
19. Daibata M., Taguchi T, Nemoto Y, et al. Inheritance of chromosomally integrated human herpesvirus 6 DNA. *Blood.* 1999; (94): 1545–9. DOI: 10.1182/blood.V94.5.1545.
20. Nacheva EP, Ward KN, Brazma D, et al. Human herpesvirus 6 integrates within telomeric regions as evidenced by five different chromosomal sites. *J Med Virol.* 2008; (80): 1952–8. DOI: 10.1002/jmv.21299.
21. Clark DA, Nacheva EP, Leong HN, Brazma D, Li YT, Tsao EH, et al. Translocation of integrated human herpesvirus 6 through stem cell transplantation: implications for laboratory diagnosis. *J Infect Dis.* 2006; 193 (7): 912–6. DOI: 10.1086/500838.
22. Hubacek P, Virgili A, Ward KN, Pohlreich D, Keslova P, Goldova B, et al. HHV-6 DNA throughout the tissues of two stem cell transplant patients with chromosomally integrated HHV-6 and fatal CMV pneumonitis. *Br J Haematol.* 2009; 145 (3): 394–8. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2009.07622.x
23. Ohye T, Kawamura Y, Inagaki H, Yoshikawa A, Ihira M, Yoshikawa T, et al. A simple cytogenetic method to detect chromosomally integrated human herpesvirus-6. *J Virol Methods.* 2016; (228): 74–8. DOI: 10.1016/j.jviromet.2015.11.001.
24. Мелехина Е. В., Домонова Э. А., Гоптарь И. А., Шигулина О. Ю., Горелов А. В. Первый в России случай наследственной передачи хромосомно-интегрированного вируса герпеса человека 6В (Human betaherpesvirus 6В). Вопросы практической педиатрии. 2019; 14 (1): 33–40. DOI: 10.20953/1817-7646-2019-1-33-40.
25. Greninger AL, Naccache SN, Pannaraj P, Jerome KR, Dien Bard J, Ruderman JW. The brief case: inherited chromosomally integrated human herpesvirus-6 (HHV-6) in the age of multiplex HHV-6 testing. *J Clin Microbiol.* 2019; 57 (10): e02016–18. DOI: 10.1128/JCM.02016-18.
26. Clark DA. Clinical and laboratory features of human herpesvirus 6 chromosomal integration. *Clin Microbiol Infect.* 2016; 22 (4): 333–9. DOI: 10.1016/j.cmi.2015.12.022.
27. Prusty BK, Krohne G, Rudel T. Reactivation of chromosomally integrated human herpesvirus-6 by telomeric circle formation. *PLoS Genet.* 2013; 9 (12): e1004033. DOI: 10.1371/journal.pgen.1004033.
28. Endo A, Watanabe K, Ohye T, Suzuki K, Matsubara T, Shimizu N, et al. Molecular and virological evidence of viral activation from chromosomally integrated human herpesvirus 6A in a patient with X-linked severe combined immunodeficiency. *Clin Infect Dis.* 2014; 59 (4): 545–8. DOI: 10.1093/cid/ciu323.
29. Miura H, Kawamura Y, Ohye T, Hattori F, Kozawa K, Ihira M, et al. Inherited chromosomally integrated human herpesvirus 6 is a risk factor for spontaneous abortion. *J Infect Dis.* 2021; 223 (10): 1717–23. DOI: 10.1093/infdis/jiaa606.
30. Gaccioli F, Lager S, de Goffau MC, Sovio U, Dopierala J, Gong S, et al. Fetal inheritance of chromosomally integrated human herpesvirus 6 predisposes the mother to pre-eclampsia. *Nat Microbiol.* 2020; 5 (7): 901–8. DOI: 10.1038/s41564-020-0711-3.
31. Kumata R, Ito J, Sato K. Inherited chromosomally integrated HHV-6 possibly modulates human gene expression. *Virus Genes.* 2020; 56 (3): 386–9. DOI: 10.1007/s11262-020-01745-5.
32. Kaufner BB, Flamand L. Chromosomally integrated HHV-6: impact on virus, cell and organismal biology. *Curr Opin Virol.* 2014; (9): 111–8. DOI: 10.1016/j.coviro.2014.09.010.
33. Huang Y, Hidalgo-Bravo A, Zhang E, Cotton VE, Mendez-Bermudez A, Wig G, et al. Human telomeres that carry an integrated copy of human herpesvirus 6 are often short and unstable, facilitating release of the viral genome from the chromosome. *Nucleic Acids Res.* 2014; 42 (1): 315–27. DOI: 10.1093/nar/gkt840.
34. Gravel A, Sinnott D, Flamand L. Frequency of chromosomally-integrated human herpesvirus 6 in children with acute lymphoblastic leukemia. *PLoS One.* 2013; 8 (12): e84322. DOI: 10.1371/journal.pone.0084322.
35. MGI Documents [Internet]. Available from: https://en.mgi-tech.com/download/files/haio_id/1/type_id/1/p/1.
36. Starostina E, Tamazian G, Dobrynin, P, O'Brien S, Komissarov A. Cookiecutter: a tool for kmer-based read filtering and extraction. *BioRxiv.* 2015: 024679. DOI: 10.1101/024679.
37. Домонова Э. А., Сильвейстрова О. Ю., Гоптарь И. А., Кулешов К. В., Пасхина И. Н., Никифорова А. В. и др. Первый случай выявления и лабораторного подтверждения наследственной передачи хромосомно-интегрированного Human betaherpesvirus 6A в Российской Федерации. *Инфекционные болезни.* 2019; 17 (3): 5–14.
38. Pribelski A, Antipov D, Meleshko D, Lapidus A, Korobeynikov A. Using SPAdes de novo assembler. *Curr Protoc Bioinformatics.* 2020; 70 (1): e102. DOI: 10.1002/cpbi.102.
39. Madden T. The BLAST sequence analysis tool. National Centre for Biotechnology Information. Bethesda, 2003. 15 p.
40. Rozewicki J, Li S, Amada KM, Standley DM, Katoh K. MAFFT-DASH: integrated protein sequence and structural alignment. *Nucleic Acids Res.* 2019; 47 (W1): W5–W10. DOI: 10.1093/nar/gkz342.
41. Robinson O, Dylus D, Dessimoz C. Phylo.io: Interactive viewing and comparison of large phylogenetic trees on the web. *Mol Biol Evol.* 2016; 33 (8): 2163–6. DOI: 10.1093/molbev/msw080.
42. Godet AN, Soignon G, Koubi H, Bonnafous P, Agut H, Poirot C, et al. Presence of HHV-6 genome in spermatozoa in a context of couples with low fertility: what type of infection? *Andrologia.* 2015; 47 (5): 531–5.
43. Aswad A, Aimola G, Wight D, et al. Evolutionary history of endogenous human herpesvirus 6 reflects human migration out of Africa. *Mol Biol Evol.* 2021; (38): 96–107. DOI: 10.1093/molbev/msaa190.

References

1. Salahuddin SZ, Ablashi DV, Markham PD, Josephs SF, Sturzenegger S, Kaplan M, et al. Isolation of a new virus, HBLV, in patients with lymphoproliferative disorders. *Science.* 1986; 234 (4776): 596–601. DOI: 10.1126/science.2876520.
2. Eliassen E, Krueger G, Luppi M, Ablashi D. Lymphoproliferative syndromes associated with human herpesvirus-6a and human herpesvirus-6b. *Mediterr J Hematol Infect Dis.* 2018;10 (1): e2018035. DOI: 10.4084/MJHID.2018.035.
3. King O, Al Khalili Y. Herpes Virus Type 6. [Updated 2023 Aug 8]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK540998/>.
4. Broccolo F, Fusetti L, Ceccherini-Nelli L. Possible role of human herpesvirus 6 as a trigger of autoimmune disease. *Scientific World Journal.* 2013; (2013): 867389. DOI: 10.1155/2013/867389.
5. Adams MJ, Carstens EB. Ratification vote on taxonomic

- proposals to the International Committee on Taxonomy of Viruses (2012). *Arch Virol.* 2012; 157 (7): 1411–22. DOI:10.1007/s00705-012-1299-6.
6. International Committee on Taxonomy of Viruses: ICTV [Internet]. 2023 [cited 2023 Sep 13]. Available from: <https://ictv.global/vmr>.
 7. Eliassen E, Hemond CC, Santoro JD. HHV-6-associated neurological disease in children: epidemiologic, clinical, diagnostic, and treatment considerations. *Pediatr Neurol.* 2020; (105): 10–20. DOI: 10.1016/j.pediatrneurol.2019.10.004.
 8. Finkel Y, Schmiedel D, Tai-Schmiedel J, Nachshon A, Winkler R, Dobesova M, et al. Comprehensive annotations of human herpesvirus 6A and 6B genomes reveal novel and conserved genomic features. *Elife.* 2020; (9): e50960. DOI: 10.7554/eLife.50960.
 9. Mori Y. Recent topics related to human herpesvirus 6 cell tropism. *Cellular microbiology.* 2009; (11): 1001–6. DOI: 10.1111/j.1462-5822.2009.01312.x.
 10. Tang H, Serada S, Kawabata A, Ota M, Hayashi E, Naka T, et al. CD134 is a cellular receptor specific for human herpesvirus-6B entry. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2013; 110 (22): 9096–9. DOI: 10.1073/pnas.1305187110.
 11. Dominguez G, Dambaugh TR, Stamey FR, Dewhurst S, Inoue N, Pellett PE. Human herpesvirus 6B genome sequence: coding content and comparison with human herpesvirus 6A. *J Virol.* 1999; 73 (10): 8040–52. DOI: 10.1128/JVI.73.10.8040-8052.1999.
 12. Gompels UA, Kasolo FC. HHV-6 Genome: similar and different. In: Kreuger G, Ablashi DV, editors. *Human Herpesvirus-6*. London: Elsevier; 2006. pp. 23–46.
 13. Isegawa Y, Mukai T, Nakano K, Kagawa M, Chen J, Mori Y, et al. Comparison of the complete DNA sequences of human herpesvirus 6 variants A and B. *J Virol.* 1999; 73 (10): 8053–63. DOI: 10.1128/JVI.73.10.8053-8063.1999.
 14. Achour A, Malet I, Le Gal F, Dehée A, Gautheret-Dejean A, Bonnafous P, et al. Variability of gB and gH genes of human herpesvirus-6 among clinical specimens. *J Med Virol.* 2008; 80 (7): 1211–21. DOI: 10.1002/jmv.21205.
 15. HHV-6 Foundation [Internet]. HHV-6A/B Testing [cited 2022 March 16]. Available from: <https://hhv-6foundation.org/patients/hhv-6-testing-for-patients>.
 16. Agut H, Bonnafous P, Gautheret-Dejean A. Laboratory and clinical aspects of human herpesvirus 6 infections. *Clin Microbiol Rev.* 2015; 28 (2): 313–35. DOI: 10.1128/CMR.00122-14.
 17. Higashimoto Y, Ohta A, Nishiyama Y, Ihira M, Sugata K, Asano Y, et al. Development of a human herpesvirus 6 species-specific immunoblotting assay. *J Clin Microbiol.* 2012; 50 (4): 1245–51. DOI: 10.1128/JCM.05834-11.
 18. Luppi M, Marasca R, Barozzi P, Ferrari S, Ceccherini-Nelli L, Batoni G, et al. Three cases of human herpesvirus-6 latent infection: integration of viral genome in peripheral blood mononuclear cell DNA. *J Med Virol.* 1993; 40 (1): 44–52. DOI: 10.1002/jmv.1890400110.
 19. Daibata M., Taguchi T, Nemoto Y, et al. Inheritance of chromosomally integrated human herpesvirus 6 DNA. *Blood.* 1999; (94): 1545–9. DOI: 10.1182/blood.V94.5.1545.
 20. Nacheva EP, Ward KN, Brazma D, et al. Human herpesvirus 6 integrates within telomeric regions as evidenced by five different chromosomal sites. *J Med Virol.* 2008; (80): 1952–8. DOI: 10.1002/jmv.21299.
 21. Clark DA, Nacheva EP, Leong HN, Brazma D, Li YT, Tsao EH, et al. Transmission of integrated human herpesvirus 6 through stem cell transplantation: implications for laboratory diagnosis. *J Infect Dis.* 2006; 193 (7): 912–6. DOI: 10.1086/500838.
 22. Hubacek P, Virgii A, Ward KN, Pohreich D, Keslova P, Goldova B, et al. HHV-6 DNA throughout the tissues of two stem cell transplant patients with chromosomally integrated HHV-6 and fatal CMV pneumonitis. *Br J Haematol.* 2009; 145 (3): 394–8. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2009.07622.x
 23. Ohye T, Kawamura Y, Inagaki H, Yoshikawa A, Ihira M, Yoshikawa T, et al. A simple cytogenetic method to detect chromosomally integrated human herpesvirus-6. *J Virol Methods.* 2016; (228): 74–8. DOI: 10.1016/j.jviromet.2015.11.001.
 24. Melehina EV, Domonova JeA, Goptar IA, Shipulina OJu, Gorelov AV. Pervyj v Rossii sluchaj nasledstvennoj peredachi hromosomno-integrirovannogo virusa gerpesa cheloveka 6B (Human betaherpesvirus 6B). *Voprosy prakticheskoy pediatrii.* 2019; 14 (1): 33–40. DOI: 10.20953/1817-7646-2019-1-33-40.
 25. Greninger AL, Naccache SN, Pannaraj P, Jerome KR, Dien Bard J, Ruderman JW. The brief case: inherited chromosomally integrated human herpesvirus 6 (HHV-6) in the age of multiplex HHV-6 testing. *J Clin Microbiol.* 2019; 57 (10): e02016–18. DOI: 10.1128/JCM.02016-18.
 26. Clark DA. Clinical and laboratory features of human herpesvirus 6 chromosomal integration. *Clin Microbiol Infect.* 2016; 22 (4): 333–9. DOI: 10.1016/j.cmi.2015.12.022.
 27. Prusty BK, Krohne G, Rudel T. Reactivation of chromosomally integrated human herpesvirus-6 by telomeric circle formation. *PLoS Genet.* 2013; 9 (12): e1004033. DOI: 10.1371/journal.pgen.1004033.
 28. Endo A, Watanabe K, Ohye T, Suzuki K, Matsubara T, Shimizu N, et al. Molecular and virological evidence of viral activation from chromosomally integrated human herpesvirus 6A in a patient with X-linked severe combined immunodeficiency. *Clin Infect Dis.* 2014; 59 (4): 545–8. DOI: 10.1093/cid/ciu323.
 29. Miura H, Kawamura Y, Ohye T, Hattori F, Kozawa K, Ihira M, et al. Inherited chromosomally integrated human herpesvirus 6 is a risk factor for spontaneous abortion. *J Infect Dis.* 2021; 223 (10): 1717–23. DOI:10.1093/infdis/jiaa606.
 30. Gaccioli F, Lager S, de Goffau MC, Sovio U, Dopierala J, Gong S, et al. Fetal inheritance of chromosomally integrated human herpesvirus 6 predisposes the mother to pre-eclampsia. *Nat Microbiol.* 2020; 5 (7): 901–8. DOI:10.1038/s41564-020-0711-3.
 31. Kumata R, Ito J, Sato K. Inherited chromosomally integrated HHV-6 possibly modulates human gene expression. *Virus Genes.* 2020; 56 (3): 386–9. DOI:10.1007/s11262-020-01745-5.
 32. Kaufert BB, Flamand L. Chromosomally integrated HHV-6: impact on virus, cell and organismal biology. *Curr Opin Virol.* 2014; (9): 111–8. DOI: 10.1016/j.coviro.2014.09.010.
 33. Huang Y, Hidalgo-Bravo A, Zhang E, Cotton VE, Mendez-Bermudez A, Wig G, et al. Human telomeres that carry an integrated copy of human herpesvirus 6 are often short and unstable, facilitating release of the viral genome from the chromosome. *Nucleic Acids Res.* 2014; 42 (1): 315–27. DOI:10.1093/nar/gkt840.
 34. Gravel A, Sinnett D, Flamand L. Frequency of chromosomally-integrated human herpesvirus 6 in children with acute lymphoblastic leukemia. *PLoS One.* 2013; 8 (12): e84322. DOI: 10.1371/journal.pone.0084322.
 35. MGI Documents [Internet]. Available from: https://en.mgi-tech.com/download/files/ha0_id/1/type_id/1/p/1.
 36. Starostina E, Tamazian G, Dobrynin, P, O'Brien S, Komissarov A. Cookiecutter: a tool for kmer-based read filtering and extraction. *BioRxiv.* 2015: 024679. DOI: 10.1101/024679.
 37. Domonova JeA, Silvestrova OJu, Goptar IA, Kuleshov KV, Pashina IN, Nikiforova AV, et al. Pervyj sluchaj vyjavlenija i laboratornogo podtverzdenija nasledstvennoj peredachi hromosomno-integrirovannogo Human betaherpesvirus 6A v Rossijskoj Federacii. *Infekcionnye bolezni.* 2019; 17 (3): 5–14.
 38. Prijbelski A, Antipov D, Meleshko D, Lapidus A, Korobeynikov A. Using SPAdes de novo assembler. *Curr Protoc Bioinformatics.* 2020; 70 (1): e102. DOI:10.1002/cpbi.102.
 39. Madden T. The BLAST sequence analysis tool. *National Centre for Biotechnology Information.* Bethesda, 2003. 15 p.
 40. Rozewicki J, Li S, Amada KM, Standley DM, Katoh K. MAFFT-DASH: integrated protein sequence and structural alignment. *Nucleic Acids Res.* 2019; 47 (W1): W5–W10. DOI:10.1093/nar/gkz342.
 41. Robinson O, Dylus D, Dessimoz C. Phylo.io: Interactive viewing and comparison of large phylogenetic trees on the web. *Mol Biol Evol.* 2016; 33 (8): 2163–6. DOI:10.1093/molbev/msw080.
 42. Godet AN, Soignon G, Koubi H, Bonnafous P, Agut H, Poirot C, et al. Presence of HHV-6 genome in spermatozoa in a context of couples with low fertility: what type of infection? *Andrologia.* 2015; 47 (5): 531–5.
 43. Aswad A, Aimola G, Wight D, et al. Evolutionary history of endogenous human herpesvirus 6 reflects human migration out of Africa. *Mol Biol Evol.* 2021; (38): 96–107. DOI:10.1093/molbev/msaa190.

КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫЕ ПРЕДИКТОРЫ ТЯЖЕЛОЙ ВНЕБОЛЬНИЧНОЙ ПНЕВМОНИИ У ДЕТЕЙ ДО ЧЕТЫРЕХ ЛЕТ

Е. А. Козырев¹✉, И. В. Бабаченко^{1,2}, А. В. Орлов³, Э. А. Мартенс^{1,3}, Е. В. Никитина¹, Н. С. Тянь^{1,2}, Е. Д. Орлова¹

¹ Детский научно-клинический центр инфекционных болезней Федерального медико-биологического агентства, Санкт-Петербург, Россия

² Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

³ Северо-Западный государственный медицинский университет имени И. И. Мечникова Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

Внебольничная пневмония (ВП) — одна из ведущих причин заболеваемости и смертности детей. В настоящее время отсутствует единый подход к определению тяжести ВП у детей, что затрудняет ее раннюю диагностику и терапию. Целью работы было определить клинико-лабораторные предикторы тяжелой ВП у детей до четырех лет. У 72 госпитализированных с ВП детей в возрасте от одного месяца до трех лет 11 месяцев проводили анализ клинических данных, показателей гемограммы, уровня С-реактивного белка с помощью непараметрических методов оценки статистических гипотез, однофакторного корреляционного анализа, кросстабуляции (Statistica 10.0), логистической регрессии и ROC-анализа (SPSS Statistics 20.0). Тяжелая ВП выявлена у 16,7% детей. Причинами тяжести были дыхательная недостаточность (ДН) II и III степени (58,3 и 16,7% случаев соответственно), сепсис (25%). Выявлены значимые клинические предикторы тяжелой ВП: наличие рвоты (отношение шансов OR — 4,2), тахипноэ (OR — 28,3), втяжение уступчивых мест грудной клетки (OR — 6), синдром бронхообструкции (БОС; OR — 4) и отсутствие ринита (OR — 0,21). Изолированная оценка показателей гемограммы и уровня С-реактивного белка не позволяла прогнозировать степень тяжести ВП. Построена модель прогнозирования тяжелой ВП у детей до четырех лет, включающая наличие ринита, тахипноэ, количество лейкоцитов (чувствительность и специфичность — 91,7%). Таким образом, на современном этапе основной причиной тяжести ВП у детей до четырех лет является ДН, в патогенезе которой преобладает БОС. Физикальное обследование с оценкой синдромов ринита и ДН остается ведущим в диагностике тяжелой ВП. Модель прогнозирования тяжелой ВП может способствовать оптимизации тактики лечения.

Ключевые слова: внебольничная пневмония, дети, оценка тяжести, прогноз, предиктор

Вклад авторов: Е. А. Козырев — набор пациентов для исследования, анализ литературы, обработка полученных данных, подготовка рукописи; И. В. Бабаченко — планирование исследования, обработка полученных данных, редактирование текста; А. В. Орлов — набор пациентов для исследования, редактирование текста; Э. А. Мартенс, Е. В. Никитина — выполнение лабораторной части исследования, редактирование текста; Н. С. Тянь, Е. Д. Орлова — набор пациентов для исследования, редактирование текста.

Соблюдение этических стандартов: исследование одобрено этическим комитетом Детского научно-клинического центра инфекционных болезней Федерального медико-биологического агентства (протокол № 141 от 03 декабря 2020 г.) и этическим комитетом Детской городской больницы Святой Ольги (протокол № 55 от 30 марта 2021 г.). В отношении всех участников исследования родителями (законными представителями) было подписано информированное согласие на участие ребенка в исследовании.

✉ **Для корреспонденции:** Евгений Александрович Козырев
ул. Профессора Попова, д. 9, г. Санкт-Петербург, 197022, Россия; kozyrev_zhenya@mail.ru

Статья получена: 23.07.2023 **Статья принята к печати:** 30.11.2023 **Опубликована онлайн:** 31.12.2023

DOI: 10.47183/mes.2023.056

CLINICAL AND LABORATORY PREDICTORS OF SEVERE COMMUNITY-ACQUIRED PNEUMONIA IN CHILDREN UNDER FOUR YEARS OF AGE

Kozyrev EA¹✉, Babachenko IV^{1,2}, Orlov AV³, Martens EA^{1,3}, Nikitina EV¹, Tian NS^{1,2}, Orlova ED¹

¹ Pediatric Research and Clinical Center for Infectious Diseases of the Federal Medical Biological Agency, Saint Petersburg, Russia

² Saint Petersburg State Pediatric Medical University, Saint Petersburg, Russia

³ Mechnikov North-Western State Medical University, Saint Petersburg, Russia

Community-acquired pneumonia (CAP) is a major cause of pediatric morbidity and mortality. Currently, there is no common approach to determination of CAP severity in children, which hampers early diagnosis and treatment of the disease. The study was aimed to determine clinical and laboratory predictors of severe CAP in children under 4 years of age. Analysis of clinical data, parameters of complete blood count (CBC), C-reactive protein (CRP) using nonparametric methods for hypothesis testing, univariate correlation analysis, cross-tabulation (Statistica 10.0), logistic regression, and ROC analysis (SPSS Statistics 20.0) was performed in 72 children aged 1 month to 3 years 11 months admitted to hospital due to CAP. Severe CAP was diagnosed in 16.7% of children. Causes of severe CAP included respiratory distress (moderate — 58.3%, severe — 16.7% of cases) and sepsis (25%). We identified significant clinical predictors of severe CAP: vomiting (OR 4.2), tachypnea (OR 28.3), chest wall retractions (OR 6), wheezing (OR 4), and the absence of rhinitis (OR 0.21). Isolated assessment of the CBC and CRP did not allow to predict CAP severity. We have developed a prediction model predicting severe CAP in children under 4 years of age based on the presence of rhinitis, tachypnea, as well as leukocyte count (sensitivity and specificity 91.7%). Thus, currently the main cause of severe CAP in children under 4 years of age is respiratory distress, in which wheezing predominates. Physical examination with an emphasis on detection of rhinitis and respiratory distress is essential for diagnosing severe CAP. The use of a pneumonia severity prediction model may contribute to improvement of management of CAP in patients under 4 years of age.

Keywords: community-acquired pneumonia, children, severity assessment, prognosis, predictor

Author contribution: Kozyrev EA — patient enrollment, literature review, data processing, manuscript writing; Babachenko IV — study planning, data processing, manuscript editing; Orlov AV — patient enrollment, manuscript editing; Martens EA, Nikitina EV — laboratory tests, manuscript editing; Tian N, Orlova ED — patient enrollment, manuscript editing.

Compliance with ethical standards: the study was approved by the Ethics Committee of the Pediatric Research and Clinical Center for Infectious Diseases of FMBA of Russia (protocol № 141 dated 03 December 2020) and the Ethics Committee of the St.Olga City Children's Hospital (protocol № 55 dated 30 March 2021). The informed consent in clinical research was obtained in all cases.

✉ **Correspondence should be addressed:** Evgeny A. Kozyrev
Professora Popova, 9, Saint Petersburg, 197022, Russia; kozyrev_zhenya@mail.ru

Received: 23.07.2023 **Accepted:** 30.11.2023 **Published online:** 31.12.2023

DOI: 10.47183/mes.2023.056

Внебольничная пневмония (ВП) остается ведущей инфекционной причиной заболеваемости и смертности у детей. По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), до пандемии новой коронавирусной инфекции в мире регистрировали около 150 млн случаев ВП у детей в возрасте до 5 лет. Тяжелое течение отмечено в 7–13% случаев ВП, что ежегодно обуславливает до 20 млн госпитализаций и до 1 млн летальных исходов. Наибольшему риску развития пневмонии тяжелой степени тяжести подвержены дети до года, особенно в странах Южной Азии и Африки [1, 2]. В России в 2019 г., по данным Роспотребнадзора, заболеваемость ВП составила 518,9 на 100 тыс. населения с наибольшими показателями у детей — 977,5 на 100 тыс.; смертность при ВП — 3,73 на 100 тыс. населения, в том числе у детей — 0,28 на 100 тыс. [3]. До настоящего времени показатели средней многолетней заболеваемости и смертности при ВП не имели тенденции к снижению, что связано с высокой изменчивостью респираторных патогенов и повышением удельного веса детей групп риска по развитию ВП (недоношенность, наличие врожденных пороков развития, органической патологии центральной нервной системы и др.) [4]. Появление новых этиопатогенов оказывает значимое влияние на эпидемиологические показатели ВП и клиническую манифестацию заболевания, в том числе степень его тяжести. Так, в первый год пандемии новой коронавирусной инфекции (2020) число летальных случаев увеличилось почти в 12 раз и составило 44,45 на 100 тыс. населения [3, 5].

В настоящее время отсутствует единый подход к определению тяжести ВП у детей. Этому способствуют полиморфизм клинических проявлений заболевания, существенное влияние реактивности детского организма на характер инфекционного процесса, а также изменчивость этиологической структуры ВП с течением времени. Убедительно показанное возрастание удельного веса вирусных пневмоний у детей до 5 лет и снижение частоты локальных осложнений (эмпиема плевры, деструкция легочной ткани) обуславливают необходимость переоценки вклада различных симптомов в тяжесть заболевания [6, 7]. Предложены различные критерии тяжести ВП у детей. Согласно ВОЗ тяжелую ВП диагностируют при отказе ребенка от питья, наличии повторной рвоты, судорог, летаргии, стридора или тяжелой белково-калорийной недостаточности. Британское торакальное общество (BTS) предложило 12 критериев тяжести пневмонии у детей, Общество детских инфекционных заболеваний/Американское общество инфекционных заболеваний (PIDS/IDSA) — четыре больших и 11 малых критериев, но их диагностическая ценность требует уточнения [8, 9]. Так, более половины детей, которые по критериям PIDS/IDSA имели тяжелую ВП, не требовали госпитализации [10]. По мнению большинства авторов, гипоксемия, нарушенный ментальный статус, возраст ребенка менее 3–6 месяцев, одышка, мультилобарные инфильтраты и плевральный выпот на рентгенограмме органов грудной клетки (ОГК) являются чувствительными, но малоспецифичными предикторами тяжелого течения ВП [9].

Диагностическое значение лабораторных биомаркеров при тяжелой ВП у детей изучено недостаточно, а имеющиеся данные противоречивы. В ряде работ убедительно показано, что изолированный лейкоцитоз является достоверным предиктором тяжелой ВП у детей [11, 12]. Выявлена ассоциация лейкопении менее 4×10^9 кл/л с осложненным течением ВП и повышенной смертностью

(отношение шансов OR — 6,5; 95%-й доверительный интервал (ДИ) 2,7–15,6) [13]. Показано, что абсолютное количество нейтрофилов (ANC) может быть предиктором системных осложнений, в том числе бактериемии, при ВП у детей. Повышение концентрации С-реактивного белка (CRP) и прокальцитонина сыворотки ассоциировано с тяжелым течением ВП, в том числе развитием осложнений (эмпиемы плевры, деструкции легочной ткани, бактериемии), только при типичной бактериальной этиологии заболевания [14, 15]. При этом не выявлена взаимосвязь CRP и прокальцитонина сыворотки с тяжестью ВП, в том числе развитием гипоксемии, одышки и тахикардии [16].

Цель исследования — определить клинико-лабораторные предикторы тяжелой ВП у детей до четырех лет.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

В период с января 2021 г. по июнь 2022 г. на базе Детского научно-клинического центра инфекционных болезней Федерального медико-биологического агентства (ФГБУ ДНКЦИБ ФМБА России) и Детской городской больницы Святой Ольги (ДГБ Св. Ольги) проведено клиническое наблюдение 72 детей с внебольничной пневмонией (ВП). Критерии включения: возраст пациентов от одного месяца до 3 лет 11 месяцев 29 дней; наличие клинико-анамнестических и объективных данных, позволяющих заподозрить пневмонию; выявление инфильтрации на рентгенограммах ОГК; соответствие пневмонии критериям внебольничной (возникла вне стационара или в первые 72 ч с момента госпитализации); длительность антибактериальной терапии на момент поступления в стационар не более 24 ч. Критерии исключения: наличие хронической соматической патологии (в том числе заболеваний дыхательной и сердечно-сосудистой систем, сахарного диабета, подтвержденного иммунодефицита и др.); факт предшествующей госпитализации в течение 14 дней; положительный результат анализа отделяемого носо- и ротоглотки на новый коронавирус SARS-CoV-2 методом ПЦР. Медиана и межквартильный размах (Me (IQR)) возраста детей составили 2,53 (1,71–2,99) лет, соотношение мальчики/девочки — 1,17/1. Me (IQR) времени до поступления в стационар составили 3 (2–4) суток. Критерии тяжелой пневмонии — нарушение витальных функций с необходимостью перевода ребенка в отделение интенсивной терапии: тяжелая прогрессирующая дыхательная недостаточность (ДН), нарушение сознания, периферической микроциркуляции и системной гемодинамики, которые определяли совместно с врачом-реаниматологом.

При поступлении в стационар проводили стандартный сбор жалоб и анамнеза болезни (длительность заболевания, наличие и характер лихорадки, кашля, катаральных изменений со стороны верхних дыхательных путей (ВДП), явлений интоксикации, одышки, рвоты, диареи, болей в животе, грудной клетке), уточняли факт применения антибактериальных средств на амбулаторном этапе, наличие вакцинации против пневмококковой, гемофильной инфекций и гриппа. При физикальном обследовании оценивали наличие и выраженность синдромов лихорадки, интоксикации, ДН, локальных изменений в легких по данным перкуссии и аускультации, бронхообструктивного синдрома (БОС), катаральных изменений со стороны ВДП (по данным осмотра оториноларинголога), лимфопролиферативного синдрома, гепато- и спленомегалии. Состояние периферической

микроциркуляции определяли на основании времени капиллярного наполнения (ВКН), нормой считали ВКН < 2 с. Симптомами ДН были тахипноэ, диспноэ (затруднение дыхания, раздувание крыльев носа, участие вспомогательной мускулатуры в акте дыхания, хрипящее дыхание, втяжение уступчивых мест грудной клетки), цианоз, снижение сатурации крови (SpO₂) до значений менее 96% при дыхании атмосферным воздухом. Использовали возрастные критерии тахипноэ согласно рекомендациям ВОЗ: у детей в возрасте до 2 месяцев частота дыхательных движений ≥ 60/мин, в возрасте от 2 до 12 месяцев – ≥ 50/мин, старше 12 месяцев – ≥ 40/мин [1]. БОС диагностировали при выслушивании удлиненного выдоха с обилием двусторонних свистящих хрипов. Синдром интоксикации включал ряд симптомов, которые рассматривали по отдельности: снижение аппетита, общей активности, раздражительность, отказ от еды и питья, сонливость, необычный характер плача, отсутствие глазного контакта, нарушение сознания [17]. При наличии тошноты, рвоты, диареи ($n = 17$) исключали течение кишечной инфекции при исследовании кала методом ПЦР на наличие бактерий родов *Shigella*, *Salmonella*, *Campylobacter*, диареегенных эшерихий, ротавируса группы А, норовирусов 2-го генотипа, астровирусов, аденовирусов группы F (набор «Амплиценс® ОКИ-скрин-FL»; ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия; формат детекции FRT). Всем детям проводили пульсоксиметрию, рентгенографию ОГК в двух проекциях, общий анализ крови и определяли концентрацию CRP сыворотки. Клинический анализ крови выполняли на гематологическом анализаторе Sysmex XP-300 (Sysmex; Япония) с оценкой следующих параметров: число лейкоцитов (WBC), эритроцитов, гемоглобина, тромбоцитов (PLT), средний объем и ширина распределения тромбоцитов по объему, коэффициент крупных тромбоцитов, скорость оседания эритроцитов. При микроскопии мазка крови определяли относительное содержание различных видов лейкоцитов (сегментоядерные, палочкоядерные нейтрофилы, миелоциты, метамиелоциты, эозинофилы, базофилы, лимфоциты (Lym), плазматические клетки). Абсолютное число сегментоядерных (ANC) и палочкоядерных нейтрофилов (ABC) рассчитывали с учетом общего содержания лейкоцитов и данных лейкоцитарной формулы.

Концентрацию CRP сыворотки определяли на автоматическом анализаторе Taurus (Instrumentation Laboratory; Италия) с применением реагентов фирмы «Вектор-Бест» (Россия) и BioSystems (Испания).

Статистическую обработку проводили в пакете Statistica 10.0 (TIBCO; США) для проверки количественных данных на нормальность (критерий Шапиро–Уилка), расчета Me, IQR. При описании экстенсивных показателей вычисляли 95% ДИ методом Уилсона. Достоверность различий между группами оценивали с помощью критериев

Манна–Уитни (количественные данные), точного критерия Фишера или критерия χ^2 Пирсона (качественные данные). Взаимосвязь между количественными данными оценивали с помощью коэффициента корреляции Спирмена (r), между номинальными переменными в четырехпольной таблице — с помощью критерия ϕ — с расчетом OR, между ординальными переменными в таблицах сопряженности — с помощью асимметричного критерия Сомера. Показателями диагностического теста были чувствительность (Se), специфичность (Sp), а также отрицательная (NPV) и положительная (PPV) прогностические значимости. Для анализа связи между независимыми и зависимой переменными применяли метод бинарной логистической регрессии в пакете SPSS Statistics версия 20.0 (IBM; США); использовали прямую селекцию предикторов на основании функции правдоподобия, критерии шагового отбора (включение — 0,05, исключение — 0,1) при уровне значимости $p < 0,05$. Пороговые значения непрерывных показателей определяли с помощью ROC-анализа согласно требованию максимальной суммарной Se и Sp. Качество бинарного классификатора оценивали по площади под ROC-кривой (AUC). При всех видах статистического анализа использовали критическое значение уровня значимости $p \leq 0,05$ [18, 19].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Состояние 12 детей (16,7%; 95% ДИ: 9,8–26,9%) при поступлении в стационар было расценено как тяжелое. У 9 из 12 детей (75%) тяжесть состояния была обусловлена дыхательной недостаточностью: ДН II — 7 пациентов (58,3%), ДН III — 2 пациента (16,7%). 3 пациента из 12 (25%) были госпитализированы в отделение интенсивной терапии с тяжелой ВП в связи с развитием осложнений — сепсиса ($n = 3$; 25%) и эмпиемы плевры ($n = 1$; 8,3%).

При тяжелых ВП возраст пациентов был достоверно меньшим (Me (IQR) = 1,66 (0,96–2,59) лет) по сравнению со среднетяжелыми ВП (Me (IQR) = 2,6 (2,02–3,11) лет); $p = 0,008$. Логистический регрессионный анализ позволил установить, что при увеличении фактора возраста на единицу вероятность развития тяжелой ВП уменьшается в 2,6 раза ($p = 0,009$; OR 0,39, 95% ДИ: 0,19–0,78).

При анализе жалоб пациентов на момент госпитализации для некоторых из них выявлены значимые различия в зависимости от тяжести пневмонии (табл. 1).

Гендерные характеристики, особенности течения антенатального периода, продолжительность грудного вскармливания, показатели физического развития детей (при рождении и при поступлении в стационар), а также вакцинальный статус в отношении пневмококковой, гемофильной инфекций и гриппа не влияли на риск тяжелого течения ВП ($p > 0,2$). Отсутствовала также взаимосвязь степени тяжести ВП со степенью подъема

Таблица 1. Распределение жалоб пациентов со значимыми различиями в зависимости от тяжести ВП

Симптом	Тяжесть ВП				OR (95% ДИ)	Уровень значимости p
	среднетяжелая		тяжелая			
	n	%	n	%		
Ринорея	52	86,7	7	58,3	0,21 (0,05–0,8)	0,02
Одышка	21	35	8	66,7	3,71 (1,01–13,8)	0,04
Рвота	15	25	7	58,3	4,2 (1,2–15,2)	0,02
Отказ от питья	2	3,3	3	25	9,7 (1,4–66)	0,03

Таблица 2. Распределение физикальных изменений со значимыми различиями в зависимости от тяжести ВП

Симптом	Тяжесть ВП				OR (95% ДИ)	Уровень значимости (p)
	среднетяжелая		тяжелая			
	n	%	n	%		
Любые явления ДН	29	48,3	11	91,7	11,8 (1,4–96,8)	0,005
Тахипноэ	9	15	10	83,3	28,3 (5,3–151,3)	<0,001
Втяжение уступчивых мест грудной клетки	20	33,3	9	75	6 (1,5–24,6)	0,007
SpO ₂ < 96%	18	30	8	66,7	4,7 (1,2–17,5)	0,02
Акроцианоз	0	0	2	16,7	–	0,02
Влажные среднепузырчатые хрипы локально	18	30	0	0	–	0,03
Диффузные двусторонние сухие свистящие хрипы (БОС)	14	33,3	8	66,7	4 (1,07–14,9)	0,03

температуры тела, продолжительностью сохранения лихорадки, явлений интоксикации и кашля.

При проведении физикального обследования для ряда симптомов выявлены значимые различия в зависимости от тяжести пневмонии (табл. 2).

Установлена достоверная, прямая и относительно сильная корреляция степени ДН с тяжестью ВП у детей (критерий Сомера — 0,68; $p < 0,001$). Была проанализирована взаимосвязь БОС с развитием ДН различной степени в зависимости от тяжести ВП. Установлено, что при тяжелой ВП вклад БОС в развитие ДН достоверно выше (8 из 11 случаев; 72,7%) по сравнению с когортой среднетяжелой ВП (14 из 29 случаев; 48,3%), $p = 0,03$. Наличие БОС значимо ассоциировалось со степенью ДН (критерий Сомера — 0,49; $p < 0,001$), причем сила корреляции была существенно выше в когорте тяжелой ВП (критерий Сомера — 0,53; $p = 0,005$) по сравнению со среднетяжелыми ВП (критерий Сомера — 0,25; $p = 0,03$). Лабораторные показатели, для которых установлены статистически значимые различия в зависимости от тяжести ВП, представлены в табл. 3.

При проведении ROC-анализа определены точки отсечения для данных лабораторных показателей, которые позволяют оптимально дифференцировать тяжелые ВП от среднетяжелых (табл. 4).

Для определения рациональности комбинированной оценки клинико-лабораторных показателей в диагностике тяжелой ВП выполнили логистический регрессионный анализ, в котором зависимой переменной была тяжесть ВП, независимыми переменными — рассмотренные выше клинические и гематологические показатели со значимыми различиями в зависимости от тяжести заболевания. Построена статистически значимая ($p < 0,001$) регрессионная модель прогнозирования тяжелой ВП у детей до 4 лет, которая имеет вид:

$$y = \frac{1}{1 + e^{(4,86 + 2,69 \cdot X_1 - 4,99 \cdot X_2 - 0,17 \cdot X_3)}}$$

где y — вероятность тяжелой ВП; X_1 — ринорея (нет — 0, есть — 1); X_2 — тахипноэ (нет — 0, есть — 1); X_3 — WBC ($\cdot 10^9/\text{л}$). В табл. 5 представлена характеристика независимых переменных регрессионной модели.

Методом ROC-анализа определено наилучшее разделяющее значение вероятности $y \geq 0,305$: при удовлетворении данному неравенству прогнозируется тяжелая ВП с показателями Se — 91,7%, Sp — 91,7%, PPV — 68,9%, NPV — 98,2% (AUC — 0,947; 95% ДИ: 0,889–1). При $y < 0,305$ прогнозируется среднетяжелая ВП с — Se 91,7%, Sp — 91,7%, PPV — 98,2%, NPV — 68,9%. На итоговом третьем шаге построения прогностическая модель имеет следующие статистические характеристики: -2Log правдоподобия = 30,2 ($p < 0,001$), коэффициент R^2 Нэйджелкерка — 0,64 ($p < 0,001$), критерий согласия Хосмера–Лемешова — 0,82 ($p = 0,66$). Установлено отсутствие мультиколлинеарности между предикторами ($|r|_{\text{наиб.}} = 0,5$), а также близкое к нормальному распределение остатков (критерий Шапиро–Уилка — 0,76; $p = 0,05$), что свидетельствует о корректности проведенного анализа.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Выявленное распределение ВП по степени тяжести у детей до 4 лет в целом согласуется с литературными данными. Частота тяжелой ВП в исследовании (16,7%) несколько превышает соответствующие показатели в общей педиатрической популяции — 7–13% [20], по другим данным — не менее 3% [21]. Это подтверждает значимое влияние возрастного фактора на вероятность развития ВП тяжелой степени тяжести и наибольшее медико-социальное значение данной проблемы у детей грудного

Таблица 3. Значимые различия показателей гемограммы у детей в зависимости от тяжести ВП

Лабораторный показатель (ед. измерения)	Тяжесть ВП		OR (95% ДИ)*	Уровень значимости (p)
	среднетяжелая Me (IQR)	тяжелая Me (IQR)		
WBC ($\cdot 10^9/\text{л}$)	10 (7,6–15,1)	14,5 (11,2–22,9)	1,08 (1,004–1,17)	0,01
ANC ($\cdot 10^9/\text{л}$)	5 (3,1–7,6)	9,9 (4,6–15,1)	1,12 (1,01–1,24)	0,02
ABC ($\cdot 10^9/\text{л}$)	0,24 (0,08–0,94)	0,9 (0,3–2,5)	1,4 (1,01–2,1)	0,01
Lym (%)	31,5 (20–44,5)	19 (7–36)	0,94 (0,9–0,99)	0,02
PLT ($\cdot 10^9/\text{л}$)	280 (223–335)	428 (270,5–549)	1,009 (1,003–1,015)	0,02

Примечание: *при возрастании значения лабораторного показателя на единицу.

Таблица 4. Диагностическая способность лабораторных показателей в выявлении тяжелой ВП

Лабораторный показатель (единицы измерения)	Точка отсечения	Se (%)	Sp (%)	PPV (%)	NPV (%)	AUC (95% ДИ)
WBC (*10 ⁹ /л)	≥11,05	83,3	61,7	30,4	94,9	0,732 (0,6–0,86)
ANC (*10 ⁹ /л)	≥8,31	58,3	78,3	35	90,4	0,71 (0,56–0,86)
ABC (*10 ⁹ /л)	≥0,3	83,3	53,3	26,3	94,1	0,729 (0,6–0,86)
Lym (%)	≤22	66,7	71,7	32,1	91,5	0,711 (0,53–0,89)
PLT (*10 ⁹ /л)	≥423,5	58,3	90	53,9	91,5	0,714 (0,53–0,89)

и раннего возрастных периодов [22, 23]. Установлено, что на современном этапе тяжесть большинства ВП у детей до 4 лет не обусловлена особенностями течения ранних этапов онтогенеза и состоянием питания, что может быть связано с улучшением качества жизни населения, в том числе снижением подверженности детей бытовым поллютантам (биотопливо для приготовления пищи, пассивное курение и др.) [24]. В настоящем исследовании наличие вакцинации против пневмококковой, гемофильной инфекций и гриппа значимо не влияло на тяжесть ВП у детей, что не согласуется с имеющимися литературными данными [9, 24]. Можно предположить, что данное наблюдение отражает изменение этиологической структуры ВП у детей с возрастанием удельного веса первичных вирусных пневмоний [6, 7].

Установлено, что на современном этапе основной причиной тяжести ВП у детей до 4 лет является дыхательная недостаточность II–III степени (75%), в патогенезе которой достоверно преобладает синдром бронхообструкции (72,7%). Ведущее значение БОС в патогенезе тяжелых пневмоний, вероятно, связано с преобладанием респираторных вирусов в этиологии ВП у детей раннего возраста [6, 7]. Анамнестическое указание на одышку было слабым предиктором тяжести ВП, что можно объяснить нечетким пониманием родителями данного термина. Напротив, выявление при физикальном обследовании возраст-зависимого тахипноэ (согласно критериям ВОЗ) и втяжения уступчивых мест грудной клетки достоверно и многократно повышало шансы тяжелого течения заболевания (в 28,3 и 6 раз соответственно).

Диспептические расстройства в виде рвоты вносили существенный вклад в генез тяжелой ВП, повышая ее шансы в среднем в 4 раза. Возможным патогенетическим обоснованием данного наблюдения может быть возникновение рефлексорной рвоты в структуре эндогенной интоксикации, а также более быстрое развитие эксикоза у детей раннего возраста. Наличие рвоты входит в критерии тяжести ВП согласно BTS [8, 9], что подтверждает значимость оценки данного симптома при пневмонии у детей.

Обращает на себя внимание факт, что некоторые симптомы, предложенные ранее в качестве критериев

тяжелой пневмонии, в настоящем исследовании встречались редко (отказ от питья — 25%, акроцианоз — 16,7%) или отсутствовали (раздувание крыльев носа, отказ от еды, цианоз, апноэ и кряхтение у грудных детей, повышение ВКН, нарушение сознания) [9]. Синдром ринита и выслушивание при аускультации локальных среднепузырчатых хрипов были отрицательными предикторами тяжелой ВП. Данное наблюдение представляет интерес и может отражать преимущественное поражение верхних отделов дыхательных путей и бронхов среднего калибра при нетяжелых пневмониях.

Из лейкоцитарных показателей потенциальными предикторами тяжести были абсолютные количества лейкоцитов, сегменто- и палочкоядерных нейтрофилов, относительное содержание лимфоцитов. При изучении диагностической ценности лабораторных биомаркеров во всех случаях выполнялось неравенство $0,7 < AUC < 0,8$, что свидетельствует об их хорошей дискриминационной способности [19]. Установлено, что исследование данных лейкоцитарных показателей не улучшает выявление случаев тяжелой пневмонии (положительная прогностическая значимость $< 50\%$), но позволяет с высокой вероятностью исключить ее течение (отрицательная прогностическая значимость $> 90\%$). Стоит отметить, что при тяжелых ВП количество тромбоцитов было достоверно более высоким (в 1,52 раза) по сравнению со среднетяжелыми ВП. Активация тромбоцитарного звена гемостаза при тяжелых ВП может быть связана с более существенным вовлечением в патологический процесс легких, которые являются основным сайтом образования кровяных пластинок [25]. Остальные показатели гемограммы, в том числе относительное содержание молодых клеток нейтрофильного ряда (палочкоядерные нейтрофилы, мета- и миелоциты), а также концентрация CRP не являлись предикторами тяжести пневмонии.

Методом бинарной логистической регрессии построена статистически значимая модель прогнозирования тяжелой ВП у детей до 4 лет. Это позволило обосновать целесообразность комплексной оценки клинико-гематологических показателей при обследовании детей с ВП с целью ранней диагностики случаев тяжелой пневмонии и оптимизации терапевтической тактики. Статистический

Таблица 5. Признаки, включенные в логистическую регрессионную модель прогнозирования тяжелой ВП у детей до 4 лет

№ п/п	Наименование и градация предикторов	Код	Коэффициент (Bi)	Ст. ошибка (Si)	Критерий Вальда (Wi)	Уровень значимости (p)	Отношение шансов (95% ДИ)
1	Ринорея: нет — 0; есть — 1.	X1	-2,69	1,33	4,05	0,04	0,68 (0,005–0,931)
2	Тахипноэ: нет — 0; есть — 1.	X2	4,99	1,51	10,9	0,001	147 (7,6–2851)
3	WBC, *10 ⁹ кл./л	X3	0,17	0,07	5,4	0,02	1,19 (1,03–1,38)
4	Константа	-	-4,86	1,97	6,1	0,01	-

анализ показал хорошее качество приближения модели к гипотетически реальной, отсутствие значимых различий между наблюдаемыми и предсказанными значениями фактора-отклика и его высокую долю дисперсии, объясняемую моделью. Преимуществом модели является доступность и простота оценки предложенной комбинации показателей, что позволяет в ранние сроки и эффективно прогнозировать степень тяжести ВП у детей до 4 лет.

Выводы

В ходе исследования была достигнута поставленная цель: выявлены и проанализированы клинико-лабораторные предикторы тяжелого течения ВП у детей до 4 лет. На современном этапе основной причиной тяжести пневмоний является дыхательная недостаточность, в

патогенезе которой преобладает БОС. В диагностике тяжелой ВП у детей ведущей является клиническая оценка состояния больного с акцентом на выявление синдромов ринита и ДН, в том числе возраст-зависимого тахипноэ и втяжения уступчивых мест грудной клетки. Изолированная оценка гематологических показателей и CRP сыворотки не позволяет прогнозировать тяжесть пневмонии. Предложена модель раннего прогнозирования степени тяжести ВП у детей до 4 лет, использование которой может способствовать совершенствованию терапевтической тактики. Учитывая ограниченный объем статистической выборки в настоящей работе (72 пациентов) и отсутствие консенсуса относительно критериев диагностики тяжелой ВП по данным литературы, необходимы дальнейшие исследования с перспективой создания валидированной количественной системы оценки тяжести пневмонии у детей.

Литература

- World Health Organization. Revised WHO Classification and Treatment of Childhood Pneumonia at Health Facilities: Evidence Summaries. Geneva: World Health Organization, 2014; 34 p.
- World Health Organization. Pneumonia in children [cited 2023 Jul 07]. Available from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/pneumonia>.
- Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2022 году: Государственный доклад. М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека; 368 с.
- Горбич О. А. Эпидемиологическая характеристика и профилактика внебольничных пневмоний у детей [диссертация]. Минск, 2018.
- Нестеренко З. В., Прокопьева Н. Э., Матальгина О. А., Шестакова М. Д., Полунина А. В. Внебольничная пневмония у детей в период коронавирусной эпидемии. Медицина: теория и практика. 2021; 6 (4): 12–20.
- O'Brien KL, Baggett HC, Brooks WA, Feikin DR, Hammit LL, Higdon MM, et al. Causes of severe pneumonia requiring hospital admission in children without HIV infection from Africa and Asia: the PERCH multi-country case-control study. *Lancet*. 2019; 394 (10200): 757–79.
- Bénet T, Picot VS, Messaoudi M, Chou M, Eap T, Wang J, et al. Global Approach to Biological Research, Infectious diseases and Epidemics in Low-income countries (GABRIEL) Network. Microorganisms Associated With Pneumonia in Children <5 Years of Age in Developing and Emerging Countries: The GABRIEL Pneumonia Multicenter, Prospective, Case-Control Study. *Clin Infect Dis*. 2017; 65 (4): 604–12.
- Harris M, Clark J, Coote N, Fletcher P, Harnden A, McKean M, et al. British Thoracic Society Standards of Care Committee. 2011. British Thoracic Society guidelines for the management of community acquired pneumonia in children: update 2011. *Thorax*. 2011; 66: ii1–ii23.
- Dean P, Florin TA. Factors Associated With Pneumonia severity in children: a systematic review. *J Pediatric Infect Dis Soc*. 2018; 7 (4): 323–34.
- Florin TA, Brokamp C, Mantyla R, DePaoli B, Ruddy R, Shah SS, et al. Validation of the PIDS/IDSA severity criteria in children with community-acquired pneumonia. *Clin Infect Dis*. 2018; 67 (1): 112–9.
- Bradley JS, Byington CL, Shah SS, Alverson B, Carter ER, Harrison C, et al. The management of community-acquired pneumonia in infants and children older than 3 months of age: clinical practice guidelines by the Pediatric Infectious Diseases Society and the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis*. 2011; 53 (7): e25–76.
- Williams DJ, Hall M, Auger KA, Tieder JS, Jerardi KE, Queen MA, et al. Association of white blood cell count and C-reactive protein with outcomes in children hospitalized for community-acquired pneumonia. *Pediatr Infect Dis J*. 2015; 34 (7): 792–3.
- Araya S, Lovera D, Zarate C, Apodaca S, Acuña J, Sanabria G, et al. Application of a prognostic scale to estimate the mortality of children hospitalized with community-acquired pneumonia. *Pediatr Infect Dis J*. 2016; 35: 369–73.
- Fernandes CD, Arriaga MB, Costa MCM, Costa MCM, Costa MHM, Vinhaes CL, et al. Host inflammatory biomarkers of disease severity in pediatric community-acquired pneumonia: a systematic review and meta-analysis. *Open Forum Infect Dis*. 2019; 6 (12): 520.
- Barak-Corren Y, Horovits Y, Erlichman M, Picard E. The prognostic value of C-reactive protein for children with pneumonia. *Acta Paediatr*. 2021; 110 (3): 970–6.
- Agnello L, Bellia C, Di Gangi M, Lo Sasso B, Calvaruso L, Bivona G., et al. Utility of serum procalcitonin and C-reactive protein in severity assessment of community-acquired pneumonia in children. *Clin Biochem*. 2016; 49: 47–50.
- Таточенко В. К. Внебольничные пневмонии у детей — проблемы и решения. Российский вестник перинатологии и педиатрии. 2021; 66 (1): 9–21.
- Юнкеров В. И., Григорьев С. Г. Математико-статистическая обработка данных медицинских исследований. СПб.: Изд-во ВМедА, 2002; 266 с.
- Григорьев С. Г., Лобзин Ю.В., Скрипченко Н. В. Роль и место логистической регрессии и ROC-анализа в решении медицинских диагностических задач. Журнал инфектологии. 2016; 8 (4): 36–45.
- Rudan I, Tomaskovic L, Boschi-Pinto C, Campbell H; WHO Child Health Epidemiology Reference Group. Global estimate of the incidence of clinical pneumonia among children under five years of age. *Bull World Health Organ*. 2004; 82 (12): 895–903.
- Legg J, Rampton C. British Thoracic Society paediatric pneumonia audit 2016/2017 Report. British Thoracic Society [Internet]. 2018 Jan [cited 2023 Jul 08]; 13 p. Available from: <https://www.brit-thoracic.org.uk/quality-improvement/clinical-audit/bts-national-audit-reports/>.
- Nascimento-Carvalho CM. Community-acquired pneumonia among children: the latest evidence for an updated management. *J Pediatr (Rio J)*. 2020; 96 (Suppl 1): 29–38.
- de Benedictis FM, Kerem E, Chang AB, Colin AA, Zar HJ, Bush A. Complicated pneumonia in children. *Lancet*. 2020; 396 (10253): 786–98.
- Ледяев М. Я., Шефатова Е. И., Жукова Ю. А., Светлова Л. В. Клинико-анамнестический анализ течения внебольничных пневмоний у детей в целях оптимизации лечения и профилактики. Лекарственный вестник. 2021; 15 (4): 35–41.
- Серебряная Н. Б., Шанин С. Н., Фомичева Е. Е., Якуцени П. П.

Тромбоциты как активаторы и регуляторы воспалительных и иммунных реакций. Часть 1. Основные характеристики

тромбоцитов как воспалительных клеток. Медицинская иммунология. 2018; 20 (6): 785–96.

References

- World Health Organization. Revised WHO Classification and Treatment of Childhood Pneumonia at Health Facilities: Evidence Summaries. Geneva: World Health Organization, 2014; 34 p.
- World Health Organization. Pneumonia in children [cited 2023 Jul 07]. Available from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/pneumonia>.
- Federal'naja sluzhba po nadzoru v sfere zashhity prav potrebitelej i blagopoluchija cheloveka. O sostojanii sanitarno-jepidemiologicheskogo blagopoluchija naselenija v Rossijskoj Federacii v 2022 godu: Gosudarstvennyj doklad. M.: Federal'naja sluzhba po nadzoru v sfere zashhity prav potrebitelej i blagopoluchija cheloveka; 368 s.
- Gorbich OA. Jepidemiologicheskaja harakteristika i profilaktika vnebol'nichnyh pnevmonij u detej [dissertacija]. Minsk, 2018. Russian.
- Nesterenko ZV, Prokopeva NJe, Matalygina OA, Shestakova MD, Polunina AV. Vnebol'nichnaja pnevmonija u detej v period koronavirusnoj jepidemii. Medicina: teorija i praktika. 2021; 6 (4): 12–20. Russian.
- O'Brien KL, Baggett HC, Brooks WA, Feikin DR, Hammit LL, Higdon MM, et al. Causes of severe pneumonia requiring hospital admission in children without HIV infection from Africa and Asia: the PERCH multi-country case-control study. Lancet. 2019; 394 (10200): 757–79.
- Bénet T, Picot VS, Messaoudi M, Chou M, Eap T, Wang J, et al. Global Approach to Biological Research, Infectious diseases and Epidemics in Low-income countries (GABRIEL) Network. Microorganisms Associated With Pneumonia in Children <5 Years of Age in Developing and Emerging Countries: The GABRIEL Pneumonia Multicenter, Prospective, Case-Control Study. Clin Infect Dis. 2017; 65 (4): 604–12.
- Harris M, Clark J, Coote N, Fletcher P, Harnden A, McKean M, et al. British Thoracic Society Standards of Care Committee. 2011. British Thoracic Society guidelines for the management of community acquired pneumonia in children: update 2011. Thorax. 2011; 66: ii1–ii23.
- Dean P, Florin TA. Factors Associated With Pneumonia severity in children: a systematic review. J Pediatric Infect Dis Soc. 2018; 7 (4): 323–34.
- Florin TA, Brokamp C, Mantyla R, DePaoli B, Ruddy R, Shah SS, et al. Validation of the PIDS/IDSA severity criteria in children with community-acquired pneumonia. Clin Infect Dis. 2018; 67 (1): 112–9.
- Bradley JS, Byington CL, Shah SS, Alverson B, Carter ER, Harrison C, et al. The management of community-acquired pneumonia in infants and children older than 3 months of age: clinical practice guidelines by the Pediatric Infectious Diseases Society and the Infectious Diseases Society of America. Clin Infect Dis. 2011; 53 (7): e25–76.
- Williams DJ, Hall M, Auger KA, Tieder JS, Jerardi KE, Queen MA, et al. Association of white blood cell count and C-reactive protein with outcomes in children hospitalized for community-acquired pneumonia. Pediatr Infect Dis J. 2015; 34 (7): 792–3.
- Araya S, Lovera D, Zarate C, Apodaca S, Acuña J, Sanabria G, et al. Application of a prognostic scale to estimate the mortality of children hospitalized with community-acquired pneumonia. Pediatr Infect Dis J. 2016; 35: 369–73.
- Fernandes CD, Arriaga MB, Costa MCM, Costa MCM, Costa MHM, Vinhaes CL, et al. Host inflammatory biomarkers of disease severity in pediatric community-acquired pneumonia: a systematic review and meta-analysis. Open Forum Infect Dis. 2019; 6 (12): 520.
- Barak-Corren Y, Horovits Y, Erlichman M, Picard E. The prognostic value of C-reactive protein for children with pneumonia. Acta Paediatr. 2021; 110 (3): 970–6.
- Agnello L, Bellia C, Di Gangi M, Lo Sasso B, Calvaruso L, Bivona G., et al. Utility of serum procalcitonin and C-reactive protein in severity assessment of community-acquired pneumonia in children. Clin Biochem. 2016; 49: 47–50.
- Tatochenko VK. Vnebol'nichnye pnevmonii u detej — problemy i reshenija. Rossijskij vestnik perinatologii i pediatrii. 2021; 66 (1): 9–21. Russian.
- Junkerov VI, Grigorev SG. Matematiko-statisticheskaja obrabotka dannyh medicinskih issledovanij. SPb.: Izd-vo VMedA, 2002; 266 s. Russian.
- Grigorev SG, Lobzin JuV, Skripchenko NV. Rol' i mesto logisticheskogo regressii i ROC-analiza v reshenii medicinskih diagnosticheskijh zadach. Zhurnal infektologii. 2016; 8 (4): 36–45. Russian.
- Rudan I, Tomaskovic L, Boschi-Pinto C, Campbell H; WHO Child Health Epidemiology Reference Group. Global estimate of the incidence of clinical pneumonia among children under five years of age. Bull World Health Organ. 2004; 82 (12): 895–903.
- Legg J, Rampton C. British Thoracic Society paediatric pneumonia audit 2016/2017 Report. British Thoracic Society [Internet]. 2018 Jan [cited 2023 Jul 08]; 13 p. Available from: <https://www.brit-thoracic.org.uk/quality-improvement/clinical-audit/bts-national-audit-reports/>.
- Nascimento-Carvalho CM. Community-acquired pneumonia among children: the latest evidence for an updated management. J Pediatr (Rio J). 2020; 96 (Suppl 1): 29–38.
- de Benedictis FM, Kerem E, Chang AB, Colin AA, Zar HJ, Bush A. Complicated pneumonia in children. Lancet. 2020; 396 (10253): 786–98.
- Ledjaev MJa, Shefatova EI, Zhukova JuA, Svetlova LV. Kliniko-anamnesticheskij analiz techenija vnebol'nichnyh pnevmonij u detej v celjah optimizacii lechenija i profilaktiki. Lekarstvennyj vestnik. 2021; 15 (4): 35–41. Russian.
- Serebrjanaja NB, Shanin SN, Fomicheva EE, Jakuceni PP. Trombocit kak aktivatory i regulatory vospalitel'nyh i immunnyh reakcij. Chast' 1. Osnovnye harakteristiki trombocitov kak vospalitel'nyh kletok. Medicinskaja immunologija. 2018; 20 (6): 785–96. Russian.

ВЫДЕЛЕНИЕ И ХАРАКТЕРИСТИКА ВИРУЛЕНТНЫХ БАКТЕРИОФАГОВ ПРОТИВ *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* ЗНАЧИМЫХ КАПСУЛЬНЫХ ТИПОВ

Р. Б. Городничев¹✉, М. А. Корниенко¹, Д. А. Беспятых¹, М. В. Малахова¹, А. О. Кривуля¹, В. А. Веселовский¹, Ю. А. Беспятых¹, О. В. Голощапов², Т. В. Черненко³, Е. А. Шитиков¹

¹ Федеральное научно-клиническое учреждение здравоохранения «Федеральный центр физико-химической медицины имени Ю. М. Лопухина Федерального медико-биологического агентства», Москва, Россия

² Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени И. П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия

³ Научно-исследовательский институт скорой помощи имени Н. В. Склифосовского Департамента здравоохранения города Москвы, Москва, Россия

В контексте растущей устойчивости к антибиотикам бактериофаги — альтернатива традиционной антимикробной терапии. Терапия бактериофагами — одна из таких альтернатив. Целью исследования были выделение и характеристика бактериофагов, эффективных против штаммов *Klebsiella pneumoniae* клинически значимых капсульных типов. Из проб сточных и речных вод методом накопительных культур было выделено восемь фагов. Определение спектра литической активности фагов проводили на коллекции клинических изолятов *K. pneumoniae* ($n = 279$). Бактериофаги лизировали 52,8–100% изолятов *K. pneumoniae* соответствующих капсульных типов: фаг VKV295 — 100% изолятов с капсульным типом KL1, SAA231 — 52,8% с KL2, NNK-G4 — 100% с KL39, VSG32 — 66,7% с KL41, NKA196 — 87,5% с KL47, Rappa3 — 87,5% с KL57, PEA128 — 95,5% с KL64 и ChM-G5 — 69,6% с KL102. Их геномы были секвенированы и проанализированы биоинформатически. Фаги принадлежали к семейству *Autographiviridae* и относились к трем родам. Литический спектр фагов был ограничен конкретными капсульными типами вследствие наличия специфических рецептор-связывающих белков — полисахариддеполимераз. Выделенные бактериофаги были строго вирулентными, не несли вредных генетических детерминант, что позволяет их применять в терапевтической практике для борьбы с антибиотикорезистентными инфекциями, вызванными *K. pneumoniae*.

Ключевые слова: вирулентные бактериофаги, *Klebsiella pneumoniae*, антибиотикорезистентность, полисахарид-деполимеразы

Финансирование: исследование выполнено за счет средств, предоставленных для выполнения государственного задания «Разработка комплексной схемы терапии лекарственно-устойчивых возбудителей инфекционных заболеваний с применением бактериофагов или их производных в сочетании с антибактериальными препаратами» (шифр: Бактериофаг-2). Типирование штаммов *Klebsiella pneumoniae* выполнено за счет гранта Российского научного фонда №22-15-00149, <https://rscf.ru/project/22-15-00149/>.

Благодарности: результаты по полногеномному секвенированию получены с использованием научного оборудования ЦКП «Геномика, протеомика, метаболомика» (<http://rcpcm.org/?p=2806>).

Вклад авторов: Р. Б. Городничев — план исследований, набор и обработка данных, написание статьи; М. А. Корниенко — план исследований, набор и обработка данных; Д. А. Беспятых — обработка данных; М. В. Малахова, А. О. Кривуля — набор данных; В. А. Веселовский, О. В. Голощапов, Т. В. Черненко, Ю. А. Беспятых — набор и обработка данных; Е. А. Шитиков — план исследований, обработка данных, написание статьи.

Соблюдение этических стандартов: работа выполнена с соблюдением норм Санитарно-эпидемиологических правил «Санитарно-эпидемиологические требования к профилактике инфекционных болезней» СанПиН 3.3686-21; Санитарно-эпидемиологических правил «Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению населения, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий» СанПиН 2.1.3684-21, а также Федеральных клинических рекомендаций «Рациональное применение бактериофагов в лечебной и противоэпидемической практике».

✉ **Для корреспонденции:** Роман Борисович Городничев
ул. Малая Пироговская, дом 1а, г. Москва, 119435, Россия; gorodnichev.r.b@gmail.com

Статья получена: 01.11.2023 **Статья принята к печати:** 14.12.2023 **Опубликована онлайн:** 31.12.2023

DOI: 10.47183/mes.2023.060

ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF VIRULENT BACTERIOPHAGES AGAINST *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* OF SIGNIFICANT CAPSULAR TYPES

Gorodnichev RB¹✉, Kornienko MA¹, Bespyatykh DA¹, Malakhova MV¹, Krivulia AO¹, Veselovsky VA¹, Bespyatykh YuA¹, Goloshchapov OV², Chernenkaya TV³, Shitikov EA¹

¹ Lopukhin Federal Research and Clinical Center of Physical-Chemical Medicine of the Federal Medical Biological Agency, Moscow, Russia

² Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, Saint Petersburg, Russia

³ Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine, Moscow, Russia

The growing proportion of antibiotic-resistant *Klebsiella pneumoniae* strains raises challenges to the healthcare system and requires the development of alternative treatment options. Bacteriophage therapy is one of such options. The study was aimed to isolate and describe bacteriophages effective against *K. pneumoniae* strains of clinically significant capsular types. The bacteriophages were isolated from the sewage and river water samples using the enrichment culture technique. The spectrum of lytic activity of the phages was tested on the collection of *K. pneumoniae* clinical isolates ($n = 279$). The studied bacteriophages lysed 52.8–100% of *K. pneumoniae* strains of respective capsular types: phage VKV295 lysed 100% of strains with the capsular type KL1, SAA231 — 52.8% of strains with KL2, NNK-G4 — 100% of strains with KL39, VSG32 — 66.7% of strains with KL41, NKA196 — 87.5% of strains with KL47, Rappa3 — 87.5% of strains with KL57, PEA128 — 95.5% of strains with KL64, and ChM-G5 — 69.6% of strains with KL102. Whole-genome sequencing and subsequent bioinformatic analysis revealed that the phages belong to the *Autographiviridae* family and are classified into three genera. The lytic spectrum of phages was limited to specific capsular types due to the presence of specific receptor-binding proteins, polysaccharide depolymerases. The isolated bacteriophages were strictly virulent, did not carry harmful genetic determinants, and had a specific host range, making them applicable in therapeutic practice for combating antibiotic-resistant infections caused by *K. pneumoniae*.

Keywords: virulent bacteriophages, *Klebsiella pneumoniae*, antibiotic resistance, polysaccharide depolymerases

Funding: the study was conducted under the State Assignment “Development of a Complex Treatment Regimen for Drug-Resistant Pathogens Causing Infectious Diseases Using Bacteriophages and their Derivatives in Combination with Antimicrobial Drugs” (code: Bacteriophage-2). The *Klebsiella pneumoniae* strain typing was supported by the Russian Science Foundation grant (№ 22-15-00149, <https://rscf.ru/project/22-15-00149/>).

Acknowledgements: the whole-genome sequencing data were acquired using the equipment provided by the Core Facility Center “Genomics, Proteomics, Metabolomics” (<http://rcpcm.org/?p=2806>).

Author contribution: Gorodnichev RB — study plan, data acquisition and processing, manuscript writing; Kornienko MA — study plan, data acquisition and processing; Bespyatykh DA — data processing; Malakhova MV, Krivulia AO — data acquisition; Veselovsky VA, Goloshchapov OV, Chernenkaya TV, Bespyatykh YuA — data acquisition and processing; Shitikov EA — study plan, data processing, manuscript writing.

Compliance with the ethical standards: experimental procedure was compliant with SanPIN 3.3686-21 “Sanitary Epidemiological Requirements for the Prevention of Infectious Diseases”; SanPIN 2.1.3684-21 “Sanitary and Epidemiological Requirements for the Maintenance of the Territories of Urban and Rural Settlements, for Water Bodies, Drinking Water and Drinking Water Supply, Atmospheric Air, Soils, Residential Premises, Operation of Industrial and Public Premises, Organization and Conduct of Sanitary and Anti-Epidemic (Preventive) Measures”, as well as Federal Clinical Guidelines “Rational Use of Bacteriophages in Clinical and Epidemiological Practice”.

✉ **Correspondence should be addressed:** Roman B. Gorodnichev
Malaya Pirogovskaya, 1a, Moscow, 119435, Russia; gorodnichev.r.b@gmail.com

Received: 01.11.2023 **Accepted:** 14.12.2023 **Published online:** 31.12.2023

DOI: 10.47183/mes.2023.060

Klebsiella pneumoniae — граммотрицательная палочковидная бактерия, принадлежащая к семейству *Enterobacteriaceae*. Клебсиеллы становятся причиной многих инфекционных заболеваний человека. Наиболее известна пневмония (воспаление легких), однако *K. pneumoniae* также может вызывать инфекции мочевыводящей системы, крови, ран, а также сепсис [1]. Терапия антибиотиками остается основным методом профилактики и лечения инфекций, вызванных *K. pneumoniae*, хотя доля штаммов с множественной лекарственной устойчивостью может достигать 20–30% [2, 3]. Смертность от инфекции *K. pneumoniae* достигает 38%, а количество смертей, ассоциированных с устойчивостью к антибиотикам, составляет 650 тысяч человек ежегодно [4, 5].

Терапия бактериофагами считается простой, безопасной и высокоэффективной альтернативой антибиотикам [6]. Бактериофаги — самая многочисленная и распространенная группа вирусов; они использовались в качестве противомикробных препаратов с момента их открытия в начале XX в. Сегодня в персонализированной терапии успешно используют монофаги или коктейли из нескольких литических фагов [7–9]. Однако эффективность коммерческих фаговых коктейлей широкого спектра действия остается ограниченной [10].

Эффективность бактериофагов *K. pneumoniae* во многом определяется типом капсульного полисахарида бактерии хозяина [11]. Полисахаридная капсула *K. pneumoniae* — ключевой фактор вирулентности, обеспечивающий защиту бактерии от факторов внешней среды, в том числе иммунитета хозяина [12]. В настоящее время классическим серологическим методом и методом секвенирования отдельных генов генного кластера *src* выделяют более 100 различных типов полисахаридных капсул, часть из которых (KL1, KL2, KL8, KL20, KL39, KL41, KL47, KL53, KL57, KL64, KL102 и KL107) ассоциирована с повышенной вирулентностью или устойчивостью к антибиотикам [13–17].

Бактериофаги *K. pneumoniae* адсорбируются на поверхность бактерии, растворяя полисахаридную капсулу специализированными ферментами — полисахарид-деполимеразами, локализованными, как правило, на фаговых фибриллах и шипах. Полисахарид-деполимеразы обладают ферментативной активностью в отношении конкретной связи между моносахарами в мономере полисахарида [11].

Цель исследования заключалась в выделении и описании вирулентных бактериофагов, способных лизировать штаммы *K. pneumoniae* клинически значимых капсульных типов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Штаммы бактерий и их характеристика

Коллекция (N = 279) клинических изолятов *K. pneumoniae* была собрана в течение 2018–2022 гг.: 79 штаммов были получены из НИИ ДОГит имени Р. М. Горбачевой (Санкт-Петербург, Россия), 66 — из ГБУЗ «НИИ СП имени Н. В. Склифосовского ДЗМ» (Москва, Россия), 64 — из коллекции ФГБУ ДНКЦИБ ФМБА России (Санкт-Петербург, Россия), 58 — из Клинической больницы № 123 ФГБУ ФНКЦ ФХМ имени Ю. М. Лопухина ФМБА России (Одинцово, Россия), 12 изолятов были любезно предоставлены ФГБОУ ВО «ГКПМ-Оболensk» (Оболensk, Россия).

Для выращивания штаммов бактерий использовали лизогенный бульон (LB) (Himedia; Индия) при 37 °С. Видовую идентификацию бактерий проводили с помощью масс-спектрометрии MALDI-TOF [18]. Принадлежность штаммов *K. pneumoniae* к конкретному капсульному типу определяли путем секвенирования гена *wzi* [19].

Выделение и очистка бактериофагов

В качестве источников бактериофагов использовали сточные воды стационаров, откуда были высеяны штаммы *K. pneumoniae*, а также воды рек Лихоборка (г. Москва) и Клязьма (г. Королев).

Для устранения бактериальной составляющей пробу сточной или речной воды центрифугировали при 4000 g в течение 10 мин, супернатант фильтровали с помощью фильтров 0,22 мкм (Merk Millipore; США). Равные количества (15 мл) фильтрованной воды и бульона LB двойной концентрации объединяли и инокулировали 20 мкл ночной культуры потенциального бактериального штамма-хозяина. Эту смесь затем оставляли инкубироваться на шейкере при 37 °С в течение ночи. Полученную суспензию стерилизовали через фильтр с размером пор 0,22 мкм, а наличие бактериофагов в отфильтрованной жидкости подтверждали с помощью спот-тестирования [20]. Выделение и накопление чистой культуры бактериофага осуществляли путем трехкратного проведения через единичную негативную колонию.

В работе также использовали бактериофаг NER40, выделенный из воды реки Чермянка (г. Москва) и описанный в предыдущей работе [21].

Определение спектра литической активности

Спектр литической активности бактериофагов оценивали методом спот-тестирования [20]. Для этого 100 мкл культуры каждого штамма *K. pneumoniae* на логарифмической фазе роста ($OD_{600} = 0,3$) смешивали с 5 мл незастывшего полужидкого агара LB (0,7% агара) и распределяли по чашкам Петри с тонким слоем агара LB (1,5% агара). Тестирование включало нанесение 5 мкл лизатов монофагов с титром 10^6 БОЕ/мл на поверхность свежезасеянных газонов тестируемых штаммов *K. pneumoniae*. Затем чашки Петри инкубировали при 37 °С в течение ночи. Литическую активность бактериофагов определяли по наличию зоны непрерывного лизиса бактериальных клеток, соответствующей форме исходной капли. Наличие полупрозрачной области вокруг зоны лизиса трактовали как полисахарид-деполимеразную активность.

Полногеномное секвенирование бактериофагов и биоинформатический анализ данных

Геномную ДНК фагов экстрагировали согласно протоколу фенол-хлороформной экстракции [22]. Секвенирование осуществляли с использованием инструмента MiSeq (Illumina; США) и реагентов для секвенирования MiSeq Reagent Nano Kit v2 (500 cycle) (Illumina; США) в соответствии с рекомендациями производителя. Сборку генома проводили с помощью программы SPAdes (версия 3.14.0). Для идентификации открытых рамок считывания (ОРС) внутри генома использовали веб-сервис GeneMarkS (версия 4.32). Исследование генов tРНК проводили с использованием ARAGORN (версия 1.2.41).

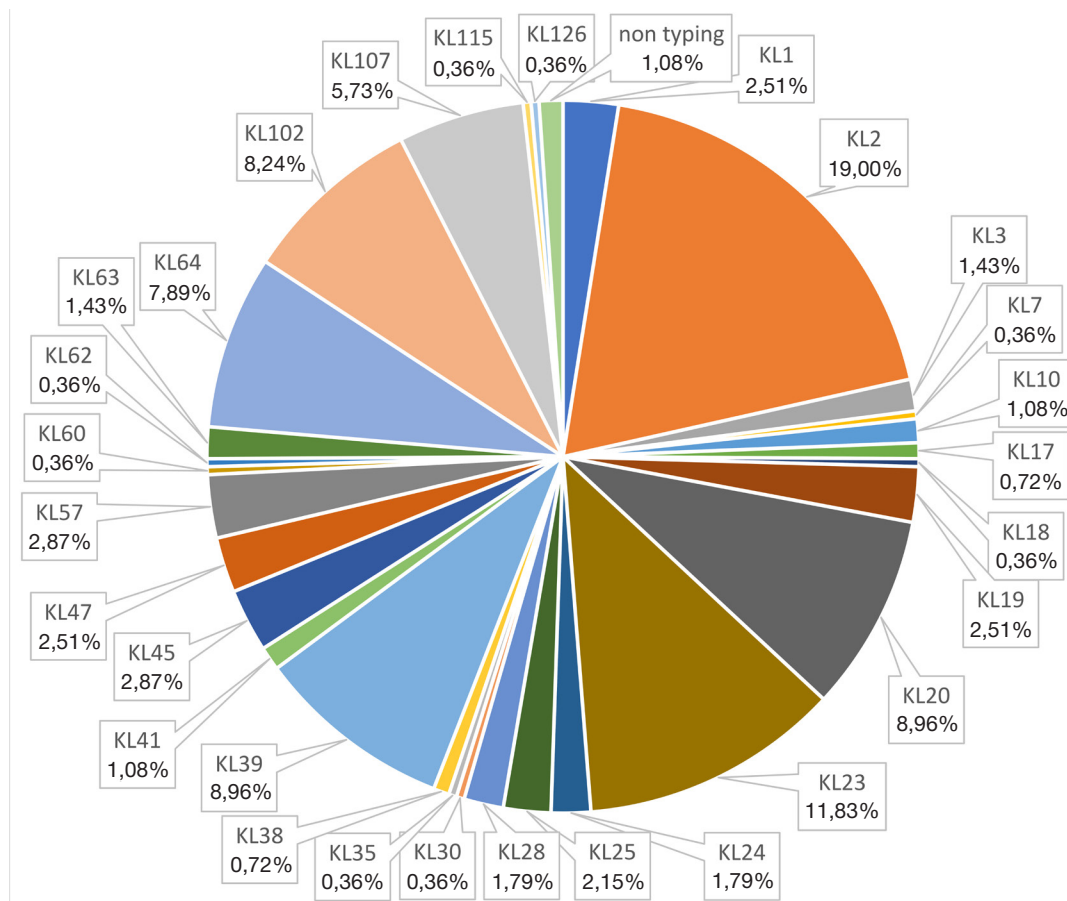


Рис. 1. Разнообразие капсульных типов коллекции *K. pneumoniae*

Гены были предсказаны и аннотированы вручную с использованием BLASTp, HHPred и InterPro. Для подтверждения отсутствия генов токсинов и детерминант устойчивости к антибиотикам проводили сравнение с базами данных, содержащими факторы вирулентности патогенных бактерий [23] и гены устойчивости к антибиотикам [24]. Аннотированные последовательности геномов бактериофагов были депонированы в базу GenBank.

Для филогенетического анализа использовали 40 эталонных геномов бактериофагов, предложенных Международным комитетом по таксономии вирусов (ICTV, от англ. International Committee on Taxonomy of Viruses). Филогенетические деревья были построены на основании полных геномов бактериофагов с использованием инструментов VICTOR [25]. Определение ближайших гомологов среди бактериофагов проводили с помощью алгоритма BLASTn. Сравнительный анализ отдельных белковых последовательностей осуществляли с помощью сервиса BLASTp. Сравнительный анализ полных геномов проводили с помощью инструментов Circoletto [26].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Характеристика штаммов *K. pneumoniae*

Для всех 279 штаммов коллекции была определена нуклеотидная последовательность гена *wzi*. Сравнительный анализ полученных последовательностей с последовательностями базы данных института Пастера позволил определить аллели, соответствующие отдельным капсульным типам. Всего было найдено 40 уникальных

аллельных вариантов гена *wzi*, 37 из которых были ассоциированы с конкретными капсульными типами, для трех вариантов (*wzi* 475, *wzi* 493 и *wzi* 163) ассоциации с известными капсульными типами найдено не было. Коллекция включала 29 различных капсульных типов, семь из которых составляли 70% всех изолятов: KL2 (19%), KL23 (12%), KL20 (9%), KL39 (9%), KL64 (8%), KL102 (8%) и KL107 (6%) (рис. 1). Другим капсульным типам, часто ассоциированным с высокой вирулентностью, соответствовали доли менее 5%: KL1 — 3%, KL41 — 1%, KL47 — 3%, KL57 — 3%.

Выделение, фенотипическая характеристика и спектр литической активности бактериофагов

Из трех образцов сточных вод и двух образцов речной воды было выделено восемь бактериофагов (VKV295, SAA231, NKA196, NNA-G4, VSG32, Rappa3, PEA128 и ChM-G5), лизирующих штаммы *K. pneumoniae* восьми клинически значимых капсульных типов (KL1, KL2, KL39, KL41, KL47, KL57, KL64 и KL102). Штаммы данных капсульных типов занимали в общей коллекции 53,05%.

Большинство бактериофагов формировали небольшие круглые прозрачные (1–2 мм) бляшки, окруженные ореолом в 1–2 мм. Отдельные бактериофаги (VKV295 и Rappa3) формировали круглые прозрачные бляшки большего размера (2–4 мм), также окруженные ореолом (рис. 2, табл. 1).

Бактериофаги показали высокую специфичность спектра литической активности — каждый из выделенных фагов был способен лизировать только штаммы с тем же капсульным типом, что и штамм, на котором бактериофаг

Таблица 1. Микробиологическая характеристика бактериофагов

Источник бактериофагов	Бактериофаг	Капсульная специфичность бактериофага	Число лизируемых штаммов конкретного капсульного типа	Морфология негативных колоний	Ореол, мм
				Бляшка, мм	
Сточные воды Клинической больницы № 123 ФГБУ ФНКЦ ФХМ имени Ю. М. Лопухина ФМБА России	VKV295	KL1	7/7	2	3
	NNA-G4	KL39	25/25	0,5–1	1
Сточные воды ГБУЗ «НИИ СП имени Н. В. Склифосовского ДЗМ»	Rappa3	KL57	7/8	4	3
	VSG32	KL41	2/3	1–2	1–3
Сточные воды НИИ ДОГИТ имени Р. М. Горбачевой	PEA128	KL64	21/22	1–2	1
	ChM-G5	KL102	16/23	1	1
р. Клязьма	SAA231	KL2	28/53	1	1
р. Лихоборка	NKA196	KL47	7/8	1–2	2–3
р. Чермянка	NER40 [21]	KL2	49/53	3–5	2–4

был выделен. Все исследуемые бактериофаги лизировали от 52,8 до 100% штаммов конкретных капсульных типов (табл. 1). Для сравнения в исследование также был включен ранее описанный бактериофаг NER40, специфично лизирующий штаммы с капсульным типом KL2 [21].

Полногеномное секвенирование бактериофагов и филогенетический анализ

Полные геномы фагов были собраны и депонированы в базу данных NCBI GenBank (табл. 2). Длина геномов варьировала от 39 058 до 44 575 п. н. с долей Г + Ц 50,4–54,3%. Все фаговые геномы имели терминальные повторы с обоих концов длиной 167–282 п.н. В составе фаговых геномов не было обнаружено генов тРНК, а количество предсказанных открытых рамок считывания (ОРС) для различных бактериофагов находилось в диапазоне от 42 до 53 (табл. 2).

В результате филогенетического анализа было установлено, что все исследуемые бактериофаги относятся к трем родам семейства *Autographiviridae* (рис. 3). Фаги VKV295, SAA231, NKA196 и NNA-G4 относились к роду *Drulivirus*, Rappa3 и PEA128 — к роду

Przondovirus, а VSG32 и ChM-G5 — к роду *Teetrevirus*. По результатам анализа BLASTn, ближайшими гомологами фагов *Drulivirus* были KpV2883 (GenBank MT682065.1; 90,53% идентичности) для фага VKV295, vB_KpnP_KpV74 (GenBank NC_047811.1; 88,12% идентичности) — для фага SAA231 и KPPK108.1 (GenBank OK583892.1; 90,56% и 85,03% идентичности) — для NNA-G4 и NKA196. Ближайшими гомологами фагов Rappa3 и PEA128 были фаги рода *Przondovirus* K5-2 (GenBank NC_047798.1; 81,32% идентичности) и 066037 (GenBank MW042800.1; 86,27% идентичности) соответственно. Гомологами фагов *Teetrevirus* VSG32 и ChM-G5 были *Salmonella phage phiSG-JL2* (GenBank NC_010807.1; 84,00% идентичности) и *Klebsiella phage 6998* (GenBank OL362282.1; 90,13% идентичности) соответственно (табл. 2).

Функциональная аннотация и сравнительный анализ геномов

Все исследуемые бактериофаги относились к семейству *Autographiviridae* и, как следствие, имели схожее строение генома: все гены располагались на лидирующей цепи ДНК, фаги кодировали как ДНК- так и РНК-полимеразу, а

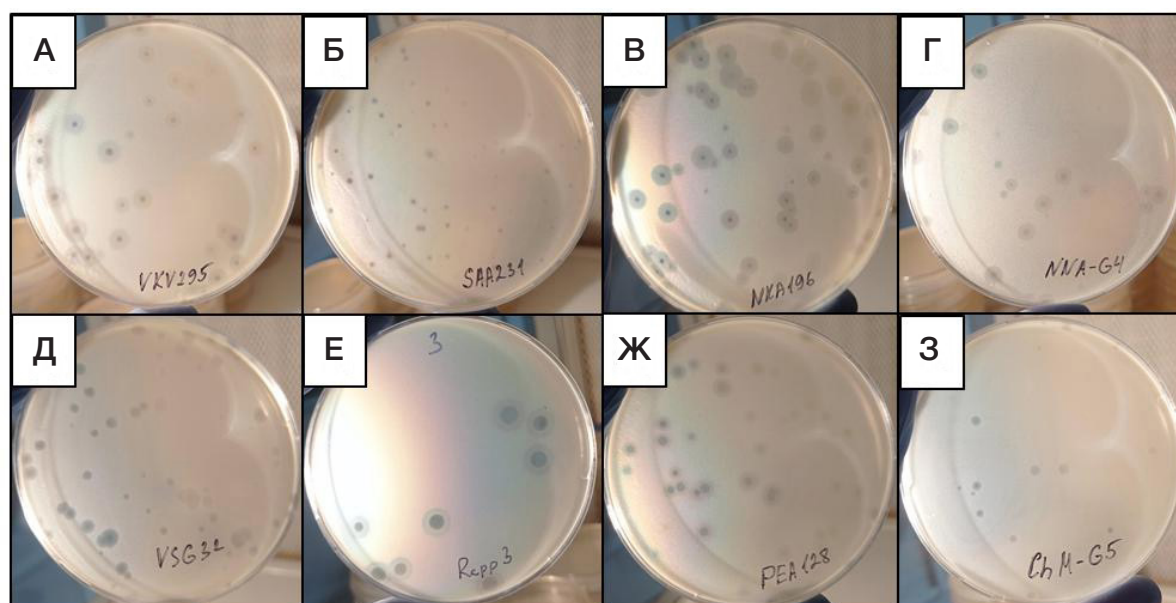


Рис. 2. Морфология негативных колоний бактериофагов VKV295 (А), SAA231 (Б), NKA196 (В), NNA-G4 (Г), VSG32 (Д), Rappa3 (Е), PEA128 (Ж) и ChM-G5 (З)

Таблица 2. Генетическая характеристика бактериофагов

Бактериофаг	GenBank	Таксономическое положение	Длина, п.н.	ОРС	Г + Ц	Идентичность с ближайшим гомологом, %
VKV295	OR287807	<i>Drulisvirus</i>	42380	51	54,10%	90,53
SAA231	OR287809	<i>Drulisvirus</i>	44281	53	54,30%	88,12
NNA-G4	OR287810	<i>Drulisvirus</i>	44575	52	53,80%	90,56
NKA196	OR287808	<i>Drulisvirus</i>	44083	52	53,90%	85,03
Rappa3	OR287806	<i>Przondovirus</i>	40593	42	53,10%	81,32
PEA128	OR287812	<i>Przondovirus</i>	40386	47	52,80%	86,27
VSG32	OR287811	<i>Teetrevirus</i>	39058	48	50,40%	84
ChM-G5	OR287804	<i>Teetrevirus</i>	39235	45	50,90%	90,13

гены метаболизма нуклеиновых кислот и гены структурных белков располагались кластерами в левой и правой части генома соответственно. Представители данного семейства относятся к вирулентным фагам и не несут гены интеграз. Среди аннотированных генов исследуемых бактериофагов не содержалось генов интеграз, детерминант устойчивости к антибиотикам, токсинов или других известных потенциально неблагоприятных для целей терапии генов.

Геномы фагов рода *Drulisvirus* несли 51–53 ОРС, 22–24 из которых были аннотированы как гены гипотетических белков, 12–14 — гены метаболизма нуклеиновых кислот, 12–13 — гены, кодирующие белки капсида, а также 3 гена лизиса клетки-хозяина, представленных идущими друг за другом генами спанина, холина и эндолизина.

Каждый из четырех фагов рода *Drulisvirus* нес по два гена, кодирующих белки фаговых фибрилл, однако только

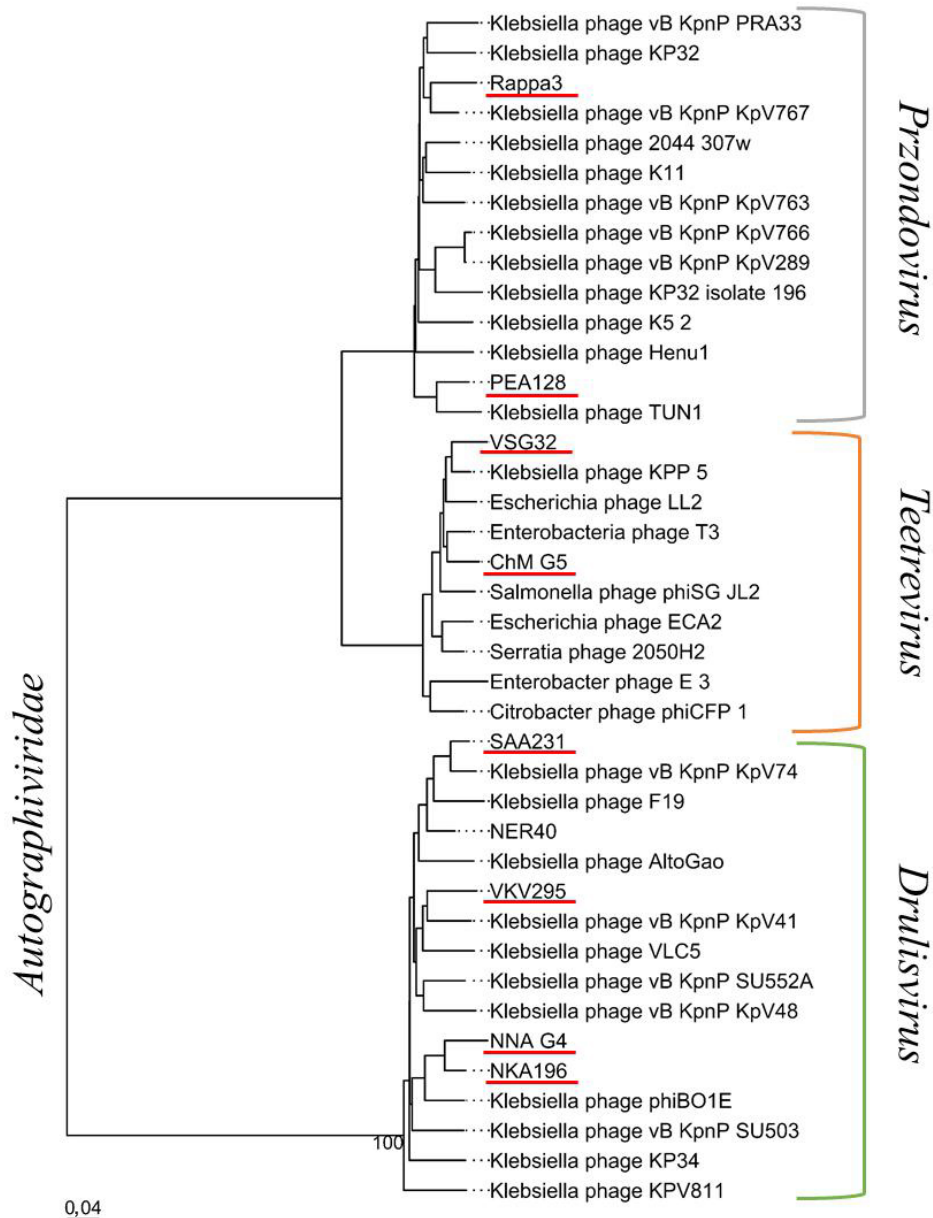


Рис. 3. Филогенетическое древо бактериофагов *K. pneumoniae*. Исследуемые бактериофаги подчеркнуты красным цветом

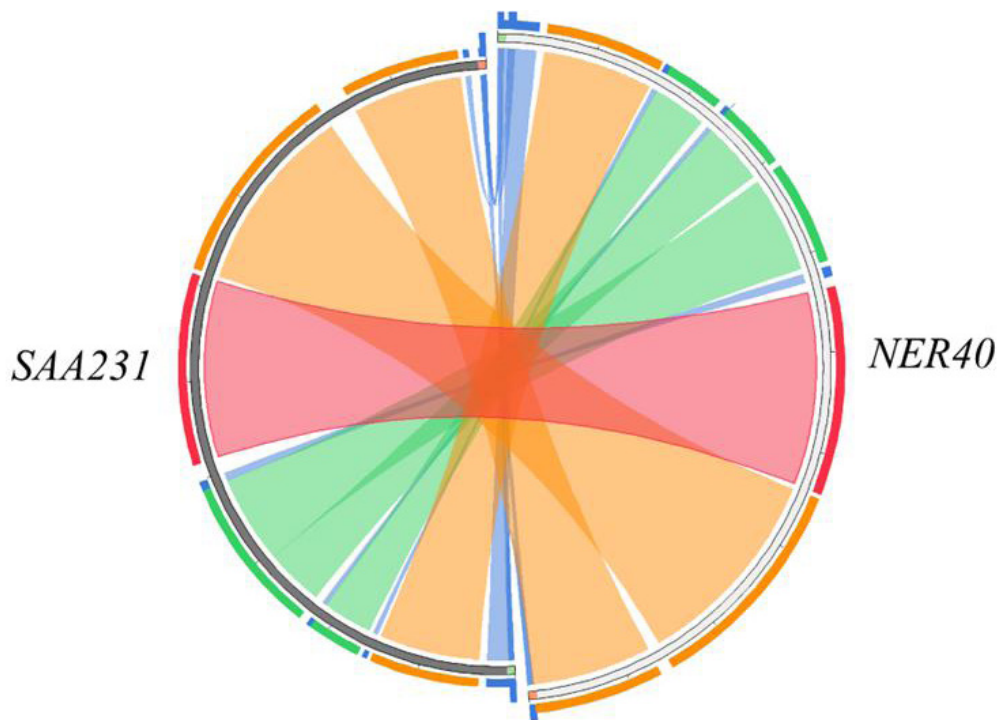


Рис. 4. Сравнение геномов фагов NER40 и SAA231 (процент гомологии: синий цвет означает < 25%; зеленый < 50%; оранжевый < 75%; красный > 75%)

у VKV295 оба гена кодировали домены полисахарид-деполимераз, у трех других фагов деполимеразный домен присутствовал только на одной из двух фибрилл. Гены фибрилл фага VKV295 (*orf0043* и *orf0051*) несли домены гликозил-гидролазы 28 семейства и K1 лиазы и были на 82,53 и 99,75% идентичны фибриллам ближайшего по BLASTn фага KpV2883. В свою очередь, гены фибрилл бактериофага SAA231 на 96,18 и 97,57% были идентичны ближайшему фагу-гомологу vB_KpnP_KpV74; ген первой фибриллы (*orf0044*) не нес деполимеразного домена, а второй (*orf0052*) кодировал домен гликозилгидролазы 28 семейства. Данная деполимераза (SAA231_ *orf0052*) была на 98,1% гомологична ранее описанной фибрилле *orf0053* фага NER40. Бактериофаг NNA-G4 нес два гена фибрилл, только один из которых (*orf0052*) кодировал деполимеразу с доменом пектатлиазы 3 и был на 95,65% идентичен гену фибриллы фага VLC5 (GenBank MT197175.1; 74,97% идентичности). Аналогично NNA-G4, у фага NKA196 деполимеразный домен гликозилгидролазы 28 семейства несла только вторая фибрилла (*orf0052*), на 99,13% идентичная фибрилле фага KPPK108.2 (GenBank OK583892.1; 85,03% идентичности).

Род *Przondovirus* был представлен двумя фагами, геномы которых несли 42–47 OPC. В результате аннотации удалось предсказать функции 71,2–73,8% предполагаемых белков. Было аннотировано 15–16 генов метаболизма нуклеиновых кислот, 14–15 структурных генов, а также два гена лизиса бактерии хозяина, представленных холином II класса и Rz-подобным спанином.

Бактериофаг Rappa3 нес две фибриллы (*orf0037* и *orf0038*), содержащие деполимеразные домены, представленные пектатлиазами 3. Первая фибрилла была на 29,28% идентична фибрилле фага K11 (GenBank NC_0111043.1; 81,01% идентичности), а вторая — на 71,38% идентична фибрилле фага vB_KpnP_KpV767 (GenBank NC_047772.1; 78,09% идентичности). Единственная фибрилла фага PEA128 была на 99,72% идентична фибрилле фага TUN1 (GenBank HG994092.1;

84,11% идентичности) и несла домен гликозил-гидролазы 28 семейства.

Бактериофаги VSG32 и ChM-G5 рода *Teetrevirus* имели 48 и 46 OPC соответственно, из которых функции удалось предсказать для 83,33 и 78,26% OPC: 21 и 19 OPC кодировали гены метаболизма нуклеиновых кислот, 17 и 15 — структурные гены. Гены лизиса хозяина были организованы аналогично фагам рода *Przondovirus* и представлены двумя OPC, кодирующими холин и Rz-подобный спанин.

Каждый из выделенных фагов нес по одному гену фибрилл, кодирующему рецептор-связывающий белок. Деполимераза фага ChM-G5 была представлена фибриллой *orf0040*, на 90,41% идентичной фибрилле фага 6998 (GenBank OL362282.1; 90,13% идентичности) и несущей домен пектатлиазы 3. Бактериофаг VSG32 кодировал фибриллу *orf0042*, идентичную фибрилле фага KPP-5 на 94,97% (GenBank MW600722.1; 87,70% идентичности) и несущую домен адгезии неопределенной природы.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Штаммы *K. pneumoniae*, взятые в качестве штаммов хозяев, имели капсульные типы, ассоциированные с нозокомиальными инфекциями, вызывающими трудности в терапевтической практике из-за наличия детерминант устойчивости к антибиотикам [3, 16, 27]. Данные штаммы имеют широкое распространение на территории России и граничащих с ней стран и зачастую несут гены устойчивости к карбапенемам и бета-лактамам антибиотикам расширенного спектра, а также гены гипервирулентности [16, 27]. В собранной коллекции штаммы с капсульными типами KL1, KL2, KL39, KL41, KL47, KL57, KL64 и KL102 занимают 53,05%, что говорит о высокой актуальности выделения терапевтических бактериофагов против них.

Новые бактериофаги были выделены из образцов сточных вод тех же стационаров, где были изолированы штаммы коллекции, а также из вод рек, протекающих

в черте города Москва. Все выделенные бактериофаги образовывали характерный полупрозрачный ореол вокруг единичных негативных колоний, что представляет собой характерный признак наличия рецептор-связывающих белков, представленных полисахарид-деполимеразами. Это также подтверждается узким спектром хозяев фагов, ограниченными штаммами *K. pneumoniae* конкретных капсульных типов. Бактериофаги, специфичные штаммам *K. pneumoniae* с капсульными типами KL1, KL2, KL47, KL57, KL64 и KL102, уже были ранее описаны в литературе среди представителей различных таксонов. Однако на сегодняшний день описан только один фаг, специфичный штаммам *K. pneumoniae* с капсульным типом KL39, и ни одного, специфично лизирующего штаммы *K. pneumoniae* с капсульным типом KL41 [28].

Анализ геномов выделенных бактериофагов показал, что все фаги относятся к семейству *Autographiviridae* и более чем на 5% отличаются от ближайших фагов, представленных в базе данных NCBI, что позволяет нам назвать выделенные бактериофаги новыми видами внутри своих родов [29]. Несмотря на достаточные для выделения нового вида различия полных геномов, гены фибрилл, отвечающие за адсорбцию фага на поверхность бактерии и во многом определяющие спектр хозяев, имели более высокую гомологию с уже известными фибриллами бактериофагов. Так, например, фибриллы фагов VKV295, SAA231, NKA196 и PEA128 оказались на 82,53–99,75% гомологичны фибриллам уже охарактеризованных бактериофагов KpV2883, vB_KpnP_KpV74, KPPK108.2 и TUN1. Напротив, фибриллы фагов NNA-G4, ChM-G5, VSG32 и Rappa3 либо были гомологичны бактериофагам с неописанной хозяйской специфичностью, либо имели слабую (< 75%) гомологию с ближайшими по BLASTp фибриллами известных фагов.

Интересным является тот факт, что в нашей коллекции находится ранее описанный бактериофаг NER40 (GenBank MZ602146.1) рода *Drulivirus*, специфичный штаммам *K. pneumoniae* с капсульным типом KL2 [21]. Существенным отличием двух бактериофагов было то, что, специфично

лизируя штаммы *K. pneumoniae* с капсульным типом KL2, бактериофаг NER40 показывал более высокую эффективность 49/53 (90,57%) против 28/53 (52,8%) для SAA231. Основные различия между геномами фагов NER40 и SAA231 находятся в координатах 6,5–17,5 т.п.н., где локализованы гены, отвечающие за жизненный цикл, тогда как гены адсорбционного аппарата показали свою высокую (98,1%) гомологию (рис. 3). Учитывая вышесказанное, такие значительные различия в спектре хозяев могут быть связаны с разницей в успешности обхода бактериальных антифаговых защитных систем, таких как система рестрикции-модификации или CRISPR. Можно предположить, что гены, обеспечивающие успешное их преодоление, находятся именно в данной области фагового генома (6,5–17,5 т.п.н.) и определяют различие в потенциале терапевтической эффективности.

Важно отметить, что в геномах выделенных бактериофагов не было найдено потенциально нежелательных детерминант, что, наравне с их филогенетическим положением, характеризует их как строго вирулентные бактериофаги, пригодные для применения в антибактериальной терапии. В свою очередь, высокая литическая активность фагов и наличие в качестве рецептор-связывающих белков полисахарид-деполимераз открывают возможность использования не только непосредственно бактериофагов, но и их производных для нужд терапии.

ВЫВОДЫ

Были выделены и охарактеризованы бактериофаги, обладающие специфической литической активностью в отношении клинически значимых штаммов *K. pneumoniae* отдельных капсульных типов: VKV295 против KL1, SAA231 — KL2, NNK-G4 — KL39, VSG32 — KL41, NKA196 — KL47, Rappa3 — KL57, PEA128 — KL64, ChM-G5 — KL102. Геномы фагов были проверены на отсутствие потенциально опасных для терапии генов (интеграз, токсинов, факторов устойчивости к антибиотикам), что говорит о потенциале данных фагов для терапевтического применения.

Литература

1. He Y, Li W, Wang Z, Chen H, Tian L, et al. Nosocomial infection among patients with COVID-19: A retrospective data analysis of 918 cases from a single center in Wuhan, China. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2020; 41 (8): 982–3.
2. European Centre for Disease Prevention and Control. Antimicrobial resistance in the EU/EEA (EARS-Net). AER for 2021. *Surveillance report*, 2022; p. 20.
3. Сухорукова М. В., Эйдельштейн М. В., Иванчик Н. В., Скленова Е. Ю., Шайдуллина Э. Р., Азизов И. С. и др. Антибиотикорезистентность нозокомиальных штаммов *Enterobacteriales* в стационарах России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования «МАРАФОН 2015–2016». *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия.* 2019; 21 (2): 147–59.
4. Li D, Huang X, Rao H, Yu H, Long S, Li Y, et al. *Klebsiella pneumoniae* bacteremia mortality: a systematic review and meta-analysis. *Front Cell Infect Microbiol.* 2023; 13 (April): 1–9.
5. Murray CJ, Ikuta KS, Sharara F, Swetschinski L, Aguilar GR, Gray A, et al. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. *Lancet.* 2022; 399 (10325): 629–55.
6. Górski A, Międzybrodzki R, Węgrzyn G, Jończyk-Matysiak E, Borysowski J, Weber-Dąbrowska B. Phage therapy: Current status and perspectives. *Med Res Rev.* 2020; 40 (1): 459–63.
7. Aslam S, Lampley E, Wooten D, Karris M, Benson C, Strathdee S, et al. Lessons learned from the first 10 consecutive cases of intravenous bacteriophage therapy to treat multidrug-resistant bacterial infections at a single center in the United States. *Open Forum Infect Dis.* 2020; 7 (9): ofaa389.
8. Dedrick RM, Smith BE, Cristinziano M, Freeman KG, Jacobs-Sera D, Belessis Y, et al. Phage Therapy of *Mycobacterium Infections*: Compassionate Use of Phages in 20 Patients With Drug-Resistant *Mycobacterial Disease*. *Clin Infect Dis.* 2023; 76 (1): 103–12.
9. Schooley RT, Biswas B, Gill JJ, Hernandez-Morales A, Lancaster J, Lessor L, et al. Development and use of personalized bacteriophage-based therapeutic cocktails to treat a patient with a disseminated resistant *Acinetobacter baumannii* infection. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2017; 61 (10): 1–15.
10. Куцлов Н. С., Корниенко М. А., Горюничев П. Б., Данилов Д. И., Парфенова Т. В., Макаренко Г. И. и др. Эффективность препаратов бактериофагов против патогенов группы ESKAPE. *Вестник РГМУ.* 2020; 3 (2020): 19–26.
11. Pires DP, Oliveira H, Melo LD, Sillankorva S, Azeredo J. Bacteriophage-encoded depolymerases: their diversity and biotechnological applications. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2016; 100 (5): 2141–51.

12. Follador R, Heinz E, Wyres KL, Ellington MJ, Kowarik M, Holt KE, et al. The diversity of *Klebsiella pneumoniae* surface polysaccharides. *Microb genomics*. 2016; 2 (8): e000073.
13. Liao CH, Huang YT, Hsueh PR. Multicenter surveillance of capsular serotypes, virulence genes, and antimicrobial susceptibilities of *Klebsiella pneumoniae* causing bacteremia in Taiwan, 2017–2019. *Front Microbiol*. 2022; 13: 783523.
14. Jin Y, Dong C, Shao C, Wang Y, Liu Y. Molecular epidemiology of clonally related Metallo- β -Lactamase-Producing *Klebsiella pneumoniae* isolated from newborns in a hospital in Shandong, China. *Jundishapur Journal of Microbiology*. 2017; 10 (9): 14046.
15. Rojas LJ, Weinstock GM, De La Cadena E, Diaz L, Rios R, Hanson BM, et al. An analysis of the epidemic of *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase-Producing *K. pneumoniae*: convergence of two evolutionary mechanisms creates the “Perfect Storm”. *J Infect Dis*. 2018; 217 (1): 82–92.
16. Shaidullina ER, Schwabe M, Rohde T, Shapovalova VV, Dyachkova MS, Matsvay AD, et al. Genomic analysis of the international high-risk clonal lineage *Klebsiella pneumoniae* sequence type 395. *Genome Med*. 2023; 15 (1): 17.
17. Егоров С. А., Семёнов В. М., Дмитраченко Т. И. Анализ изолятов *Klebsiella pneumoniae*, обладающих широкой резистентностью к антибиотикам. *Педиатрия. Восточная Европа*. 2022; 10 (3): 325–33.
18. Ryzhov V, Fenselau C. Characterization of the protein subset desorbed by MALDI from whole bacterial cells. *Anal Chem*. 2001; 73 (4): 746–50.
19. Brisse S, Passet V, Haugaard AB, Babosan A, Kassis-Chikhani N, Struve C, et al. Wzi gene sequencing, a rapid method for determination of capsulartype for *klebsiella* strains. *J Clin Microbiol*. 2013; 51 (12): 4073–8.
20. Mazzocco A, Waddell TE, Lingohr E, Johnson RP. Enumeration of bacteriophages by the Direct Plating Plaque Assay. *Methods Mol Biol*. 2009; 501: 77–80.
21. Городничев П. Б., Корниенко М. А., Купцов Н. С., Малахова М. В., Беспятых Д. А., Веселовский В. А. и др. Молекулярно-генетическая характеристика трех новых бактериофагов *Klebsiella pneumoniae*, перспективных для применения в фаговой терапии. *Медицина экстремальных ситуаций*. 2021; 23 (3): 90–7.
22. Green MR, Sambrook J. *Molecular cloning. A Laboratory Manual* 4th. Cold Spring Harbor Laboratory, 2012; p. 1936.
23. Liu B, Zheng D, Jin Q, Chen L, Yang J. VFDB. 2019: A comparative pathogenomic platform with an interactive web interface. *Nucleic Acids Res*. 2019; 47 (D1): D687–D692.
24. Liu B, Pop M. ARDB — Antibiotic resistance genes database. *Nucleic Acids Res*. 2009; 37 (SUPPL 1): 443–7.
25. Meier-Kolthoff JP, Göker M. VICTOR: genome-based phylogeny and classification of prokaryotic viruses. *Bioinformatics*. 2017; 33 (21): 3396–404.
26. Darzentas N. Circoletto: visualizing sequence similarity with Circos. *Bioinformatics*. 2010; 26 (20): 2620–1.
27. Fursova NK, Astashkin EI, Ershova ON, Aleksandrova IA, Savin IA, Novikova TS, et al. Multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* causing severe infections in the neuro-ICU. *Antibiotics*. 2021; 10 (8): 1–17.
28. Beamud B, García-González N, Gómez-Ortega M, González-Candelas F, Domingo-Calap P, Sanjuan R. Genetic determinants of host tropism in *Klebsiella* phages. *Cell Rep*. 2023; 42 (2): 112048.
29. Turner D, Kropinski AM, Adriaenssens EM. A roadmap for genome-based phage taxonomy. *Viruses*. 2021; 13 (3): 506.

References

1. He Y, Li W, Wang Z, Chen H, Tian L, et al. Nosocomial infection among patients with COVID-19: A retrospective data analysis of 918 cases from a single center in Wuhan, China. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2020; 41 (8): 982–3.
2. European Centre for Disease Prevention and Control. Antimicrobial resistance in the EU/EEA (EARS-Net). AER for 2021. Surveillance report. 2022; p. 20.
3. Sukhorukova MV, Edelstein MV, Ivanchik NV, Skleenova EYu, Shajdullina ER, Azyzov IS, et al. Antimicrobial resistance of nosocomial Enterobacterales isolates in Russia: Results of multicenter epidemiological study «MARATHON 2015–2016». *Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy*. 2019; 21 (2): 147–59. Russian.
4. Li D, Huang X, Rao H, Yu H, Long S, Li Y, et al. *Klebsiella pneumoniae* bacteremia mortality: a systematic review and meta-analysis. *Front Cell Infect Microbiol*. 2023; 13: 1–9.
5. Murray CJ, Ikuta KS, Sharara F, Swetschinski L, Aguilar GR, Gray A, et al. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. *Lancet*. 2022; 399 (10325): 629–55.
6. Górski A, Międzybrodzki R, Węgrzyn G, Jończyk-Matysiak E, Borysowski J, Weber-Dąbrowska B. Phage therapy: Current status and perspectives. *Med Res Rev*. 2020; 40 (1): 459–63.
7. Aslam S, Lampley E, Wooten D, Karris M, Benson C, Strathdee S, et al. Lessons learned from the first 10 consecutive cases of intravenous bacteriophage therapy to treat multidrug-resistant bacterial infections at a single center in the United States. *Open Forum Infect Dis*. 2020; 7 (9): ofaa389.
8. Dedrick RM, Smith BE, Cristinziano M, Freeman KG, Jacobs-Sera D, Belessis Y, et al. Phage Therapy of Mycobacterium Infections: Compassionate Use of Phages in 20 Patients With Drug-Resistant Mycobacterial Disease. *Clin Infect Dis*. 2023; 76 (1): 103–12.
9. Schooley RT, Biswas B, Gill JJ, Hernandez-Morales A, Lancaster J, Lessor L, et al. Development and use of personalized bacteriophage-based therapeutic cocktails to treat a patient with a disseminated resistant *Acinetobacter baumannii* infection. *Antimicrob. Agents Chemother*. 2017; 61 (10): 1–15.
10. Kuptsov NS, Kornienko MA, Gorodnichev RB, Danilov DI, Parfenova TV, Makarenko GI, et al. Efficacy of commercial bacteriophage products against ESKAPE pathogens. *Bulletin of RSMU*. 2020; 3 (2020): 19–26. Russian.
11. Pires DP, Oliveira H, Melo LD, Sillankorva S, Azeredo J. Bacteriophage-encoded depolymerases: their diversity and biotechnological applications. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2016; 100 (5): 2141–51.
12. Follador R, Heinz E, Wyres KL, Ellington MJ, Kowarik M, Holt KE, et al. The diversity of *Klebsiella pneumoniae* surface polysaccharides. *Microb genomics*. 2016; 2 (8): e000073.
13. Liao CH, Huang YT, Hsueh PR. Multicenter surveillance of capsular serotypes, virulence genes, and antimicrobial susceptibilities of *Klebsiella pneumoniae* causing bacteremia in Taiwan, 2017–2019. *Front Microbiol*. 2022; 13: 783523.
14. Jin Y, Dong C, Shao C, Wang Y, Liu Y. Molecular epidemiology of clonally related Metallo- β -Lactamase-Producing *Klebsiella pneumoniae* isolated from newborns in a hospital in Shandong, China. *Jundishapur Journal of Microbiology*. 2017; 10 (9): 14046.
15. Rojas LJ, Weinstock GM, De La Cadena E, Diaz L, Rios R, Hanson BM, et al. An analysis of the epidemic of *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase-Producing *K. pneumoniae*: convergence of two evolutionary mechanisms creates the “Perfect Storm”. *J Infect Dis*. 2018; 217 (1): 82–92.
16. Shaidullina ER, Schwabe M, Rohde T, Shapovalova VV, Dyachkova MS, Matsvay AD, et al. Genomic analysis of the international high-risk clonal lineage *Klebsiella pneumoniae* sequence type 395. *Genome Med*. 2023; 15 (1): 17.
17. Egorov SK, Semenov VM, Dmitrachenko TI. Analysis of *Klebsiella pneumoniae* isolates with extremely high antibiotic resistance. *Paediatrics. Eastern Europe*. 2022; 10 (3): 325–33. Russian.
18. Ryzhov V, Fenselau C. Characterization of the protein subset desorbed by MALDI from whole bacterial cells. *Anal Chem* 2001; 73 (4): 746–50.
19. Brisse S, Passet V, Haugaard AB, Babosan A, Kassis-Chikhani N, Struve C, et al. Wzi gene sequencing, a rapid method for determination of capsulartype for *klebsiella* strains. *J Clin*

- Microbiol. 2013; 51 (12): 4073–8.
20. Mazzocco A, Waddell TE, Lingohr E, Johnson RP. Enumeration of bacteriophages by the Direct Plating Plaque Assay. *Methods Mol Biol.* 2009; 501: 77–80.
 21. Gorodnichev RB, Kornienko MA, Kuptsov NS., Malakhova MV, Bespiatykh DA, Veselovsky VA, et al. Molecular genetic characterization of three new *Klebsiella pneumoniae* bacteriophages suitable for phage therapy. *Extreme medicine.* 2021; 23 (3): 90–7. Russian.
 22. Green MR, Sambrook J. *Molecular cloning. A Laboratory Manual* 4th. Cold Spring Harbor Laboratory, 2012; p. 1936.
 23. Liu B, Zheng D, Jin Q, Chen L, Yang J. VFDB. 2019: A comparative pathogenomic platform with an interactive web interface. *Nucleic Acids Res.* 2019; 47 (D1): D687–D692.
 24. Liu B, Pop M. ARDB — Antibiotic resistance genes database. *Nucleic Acids Res.* 2009; 37 (SUPPL 1): 443–7.
 25. Meier-Kolthoff JP, Göker M. VICTOR: genome-based phylogeny and classification of prokaryotic viruses. *Bioinformatics.* 2017; 33 (21): 3396–404.
 26. Darzentas N. Circoletto: visualizing sequence similarity with Circos. *Bioinformatics.* 2010; 26 (20): 2620–1.
 27. Fursova NK, Astashkin EI, Ershova ON, Aleksandrova IA, Savin IA, Novikova TS, et al. Multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* causing severe infections in the neuro-ICU. *Antibiotics.* 2021; 10 (8): 1–17.
 28. Beamud B, García-González N, Gómez-Ortega M, González-Candelas F, Domingo-Calap P, Sanjuan R. Genetic determinants of host tropism in *Klebsiella* phages. *Cell Rep.* 2023; 42 (2): 112048.
 29. Turner D, Kropinski AM, Adriaenssens EM. A roadmap for genome-based phage taxonomy. *Viruses.* 2021; 13 (3): 506.

ВЫЯВЛЕНИЕ И ПРОФИЛАКТИКА ЖЕЛЕЗОДЕФИЦИТНОГО СОСТОЯНИЯ У ДОНОРОВ КРОВИ (КОМПОНЕНТОВ КРОВИ)

Г. В. Гришина [✉], И. И. Кробинец, А. Д. Касьянов, С. В. Сидоркевич

Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства, Санкт-Петербург, Россия

Проблема дефицита железа среди доноров является актуальной и напрямую влияет на обеспечение гемокомпонентами службы крови. Доноры, являясь группой риска по развитию железодефицитного состояния, проходят обследование перед донацией, включающее исследование уровня гемоглобина. При этом отсутствует информация о состоянии запасов железа, при истощении которых развивается железодефицитная анемия. В свою очередь анемия является противопоказанием к донорству и, следовательно, приводит к медицинским отводам от донации. Целью исследования было оценить основные показатели обмена железа у доноров крови и (или) компонентов крови, подверженных риску развития латентного железодефицита. Обследование 174 доноров включало гемограмму, оценку уровня гемоглобина, сывороточного ферритина (СФ), трансферрина, растворимых рецепторов трансферрина. При оценке интенсивности изменений показателей запасного и транспортного железа были проанализированы 228 отклонений от референтного диапазона. Критерием риска развития железодефицитного состояния были значения гемоглобина у нижней границы нормы (130–135 г/л у мужчин и 120–125 г/л у женщин) и пороговый уровень ферритина (30 мкг/л у доноров-мужчин и 20 мкг/л у женщин). В группу риска вошли 58,3% молодых доноров-женщин, сдающих кровь 1–2 раза в течение года ($p < 0,01$) и 66,6%, ($p < 0,01$) доноров-мужчин, сдающих кровь регулярно в течение четырех и более лет. Средний показатель ферритина у доноров-мужчин — 27,37 мкг/л ($p < 0,02$) был ниже референсных значений. Сделан вывод о целесообразности оценки показателей обмена железа у доноров в случае пограничного уровня гемоглобина, у женщин репродуктивного возраста после 2 донации крови и мужчин с числом донаций ≥ 10 . Для восполнения депо железа в организме при выявлении железодефицита у доноров необходимо рассматривать вопрос о профилактике.

Ключевые слова: железодефицит, донация, риск, ферритин, транспортное железо

Финансирование: работа выполнена в рамках выполнения НИР по Гос. заданию.

Благодарности: авторы выражают благодарность сотрудникам Центра лабораторных исследований клиники Российского НИИ гематологии и трансфузиологии ФМБА России за лабораторную поддержку.

Вклад авторов: равнозначный.

Соблюдение этических стандартов: исследование одобрено этическим комитетом ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России (протокол № 61 от 22 декабря 2022 г.); все участники исследования подписали добровольное информированное согласие на забор образцов крови и дальнейший анализ.

✉ **Для корреспонденции:** Галина Викторовна Гришина, 2-я Советская ул., д. 16, г. Санкт-Петербург, 191024, Россия; reger201309@mail.ru

Статья получена: 09.11.2023 **Статья принята к печати:** 15.12.2023 **Опубликована онлайн:** 28.12.2023

DOI: 10.47183/mes.2023.055

DETECTION AND PREVENTION OF IRON DEFICIENCY IN DONORS OF BLOOD (BLOOD COMPONENTS)

Grishina GV [✉], Krobinets II, Kasyanov AD, Sidorkevich SV

Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology of the Federal Medico-Biological Agency of Russia, St. Petersburg, Russia

The problem of iron deficiency among donors is relevant and directly affects the provision of hemocomponents to the blood service. Donors, being a risk group for the development of iron deficiency, are examined before donation, including a study of hemoglobin levels. However, there is no information about the state of iron stores, when depleted, iron deficiency anemia develops. In turn, anemia is a contraindication to donation and, therefore, leads to medical exemptions from donation. The purpose of the study was to evaluate the main indicators of iron metabolism in donors of blood and (or) blood components at risk of developing latent iron deficiency. The examination of 174 donors included a hemogram, assessment of the level of hemoglobin, serum ferritin (SF), transferrin, and soluble transferrin receptors. When assessing the intensity of changes in reserve and transport iron indicators, 228 deviations from the reference range were analyzed. The criterion for the risk of developing iron deficiency was hemoglobin values at the lower limit of normal (130–135 g/l in men and 120–125 g/l in women) and the threshold level of ferritin (30 $\mu\text{g/l}$ in male donors and 20 $\mu\text{g/l}$ in women). The risk group included 58.3% of young donors — women who donate blood 1–2 times during the year ($p < 0.01$) and 66.6% ($p < 0.01$) of donors — men who donate blood regularly throughout 4 and > years. The average ferritin level in male donors was 27.37 $\mu\text{g/l}$ ($p < 0.02$) and lower than the reference values. It is concluded that it is advisable to assess the indicators of iron metabolism in donors in the case of borderline hemoglobin levels, in women of reproductive age after 2 blood donations and in men with the number of donations ≥ 10 . To replenish the iron depot in the body, when iron deficiency is detected in donors, it is necessary to consider the issue of prevention.

Keywords: iron deficiency, donation, risk, ferritin, transport iron

Funding: the work was carried out as part of the research effort under the State Assignment.

Acknowledgements: the authors express gratitude to the staff of the Center for Laboratory Research of the Clinic of the Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology of the Federal Medical and Biological Agency of Russia for laboratory support.

Author contribution: Concept and Design: all authors.

Compliance with ethical standards: the study was approved by the ethics committee of the Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology of the Federal Medico-Biological Agency of Russia (Minutes № 61 of December 22, 2022); all study participants-donors signed a voluntary informed consent for blood sampling and further analysis.

✉ **Correspondence should be addressed:** Galina V. Grishina, 2 Sovetskaya, 16, St. Petersburg, 191024, Russia, reger201309@mail.ru

Received: 09.11.2023 **Accepted:** 15.12.2023 **Published online:** 28.12.2023

DOI: 10.47183/mes.2023.055

Потери железа при каждой донации крови могут способствовать развитию латентного железодефицита (ЛДЖ) у повторных доноров, особенно женщин. Прогрессирование железодефицита приводит к развитию железодефицитной анемии, которая в дальнейшем становится причиной временного отвода донора от донаций [1–6]. Железодефицит может сопровождаться такими симптомами, как слабость, рассеянность, сонливость, чувство усталости, вкусовые нарушения, сухость кожи, усиление выпадения волос, ломкость и деформация ногтевых пластин, нарушения со стороны желудочно-кишечного тракта, у женщин — нарушение менструальной функции и т. д. Известно, что не только взятие цельной крови сопровождается потерей железа. Процедуры афереза вызывают повреждение эритроцитов, возвращаемых обратно в кровяное русло [7]. Так, при донации тромбоцитов методом афереза доноры теряют до 100 мл крови, что вызывает риск развития железодефицита. Большинство показателей (гемоглобин, гематокрит, трансферрин, насыщение трансферрина и ферритин) были значительно ниже исходных значений [8]. С увеличением интервалов между донациями процент доноров с железодефицитом уменьшился [9]. Уровень железа снижается при повышении частоты аферезов [10]. Отметим, что лишь у 0,14–0,8% доноров-мужчин после донации развивается железодефицитная анемия. Тогда как для доноров-женщин этот показатель на порядок выше и равен 1,7–17,4%. Донация дозы цельной крови в объеме $450 \pm 10\%$ мл приводит к падению содержания гемоглобина у донора на 3,5–14 г/л от исходного уровня. При этом вместе с гемоглобином теряется около 200–250 мг железа, что составляет около 5–6% всего запаса железа, содержащегося в организме [11]. Максимальное снижение уровня гемоглобина происходит на 5-й день после донации, а затем гемоглобин постепенно повышается, достигая в большинстве случаев нормального показателя в среднем к 30-му дню. Для синтеза новых молекул гемоглобина организм здорового донора использует имеющийся запас железа. Учитывая стадийное развитие дефицита железа, ВОЗ рекомендует определение концентрации ферритина одновременно с уровнем гемоглобина [11,12] для диагностики дефицита железа у внешне здоровых людей, так как при отсутствии воспаления концентрация ферритина в плазме/сыворотке крови положительно коррелирует с общими запасами железа в организме [13–15]. На стадии латентного дефицита железа в организме более выражены изменения сывороточного ферритина (СФ) в лабораторных показателях. Регистрируются не только истощение запасов железа в депо — понижение концентрации ферритина сыворотки, но и снижение содержания железа в сыворотке и белках-переносчиках. Снижение концентрации сывороточного ферритина ниже 15 мкг/л у взрослых (с поправкой ниже 30 мкг/л) и 70 мкг/л у взрослых с воспалительными заболеваниями означает неизбежное снижение концентрации гемоглобина в последующем [12].

К настоящему моменту опубликовано много работ, отражающих результаты скрининга сывороточного ферритина у доноров, но наибольший интерес представляют ретроспективные исследования за период 10 и более лет. Среди доноров с высокой частотой донаций снижение концентрации сывороточного ферритина наблюдали у 9,4% мужчин и 25,7% женщин, а увеличение интервала донаций до 6 месяцев у мужчин и 8 месяцев у женщин приводит к снижению риска

развития железодефицитных состояний [15]. При этом авторы оценивают формирование дефицита железа в зависимости от пола, возраста, менопаузы, количества и частоты донаций только у доноров цельной крови, но не оценивают данные показатели у доноров тромбоцитов. Таким образом, в связи с увеличением объемов оказания высокоспециализированной медицинской помощи и, как следствие, заготовки цельной крови и концентрата тромбоцитов представляется актуальным оценить влияние вида донации (включая смешанные донации), частоты донаций, возраста, пола и донорского стажа на показатели обмена железа.

Цель исследования — оценить основные показатели обмена железа у доноров крови и (или) компонентов крови, подверженных риску развития латентного железодефицита.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Обследовано 174 донора крови и компонентов крови (101 мужчина и 73 женщины) в возрасте 19–62 лет (медиана — 35 лет). Критерии включения: возраст донора ≥ 18 лет; вес — более 50 кг; готовность подписать форму информированного согласия (ФИС); а также отказ от участия в других клинических исследованиях. Для исследования обмена железа у доноров были сформировано шесть групп в зависимости от длительности донорского стажа, частоты донаций, вида донаций (кровь, тромбоциты, смешанные донации — регулярно сдающие цельную кровь, плазму и тромбоциты в течение четырех и более лет). Каждую группу, в свою очередь, делили по полу и возрасту. Доноров распределяли в три возрастные группы: до 25 лет (студенты), от 25 до 45 лет (регулярные доноры, средняя группа) и старше 45 лет (кадровые доноры). Отдельно выделяли группу из 130 доноров крови для определения влияния числа донаций на организм донора. Комплектование и обследование доноров проводили в соответствии с требованиями нормативных документов. Критерии исключения из исследования: наличие временных или постоянных противопоказаний к донорству крови, установленных в день предполагаемой донации согласно нормативным документам [16]. В работе применяли гематологические, биохимические и статистические методы исследования. Для определения состояния обмена железа применяли комплект реагентов (Coulter LH Series Retic PAK Reagent Kit; US), (Roche Diagnostics GmgH; Германия). Показатели гемограммы оценивали на гематологическом анализаторе Medonic M-Seris (Boule Medical AB; Швеция) с использованием медицинских изделий, зарегистрированных в установленном порядке (пробирки вакуумные S-Monovette 2,6 мл K2ЭДТА с этикеткой REF 04.1901.001 (Sarsted AG Co.KG; Германия); микропробирки 1,5 мл, Sarsted, типа эппендорф, 39*10,8 мм PP градуировка, нейтральная с Safety cap (Sarsted AG Co.KG; Германия). Для оценки запасов железа в организме доноров иммунотурбидиметрическим методом исследовали уровень СФ. Анализ транспортного железа проводили на основании определения сывороточного железа (СЖ), трансферрина (СТ), общей и ненасыщенной железосвязывающей способности сыворотки крови (ОЖСС, НЖСС) и расчетного показателя — коэффициента насыщения трансферрина железом (КНТ). Исследования проводили на автоматическом биохимическом анализаторе Cobas Integra 400 plus (Roche Diagnostics; Швейцария). На автоматическом иммунохимическом анализаторе

Таблица 1. Факторы развития латентного дефицита железа у разных групп доноров крови (компонентов крови)

Фактор риска латентного железодефицита	HGB, пограничный сниженный	СФ норма	СФ ↓ ЛЖД	СЖ ↓	СТ ↑	ОЖСС ↑	КНТ↓	рТфР ↑	Всего отклонений
Отклонения от референтных значений	30 (17,2%)	103 59,2%	71 (40,8%)	25	10	41	36	15	228
<i>ВИД донации:</i>									
Первичные	4	26	3	2	–	–	2	–	11
Донации 1–2 раза в течение года	5	13	11 (45,8%)	4	1	7	7	3	38
Регулярные, сдающие 3 года	4	10	5 (33,3%)	2	3	9	5	2	30
Регулярные, сдающие 4 и более лет	10	21	30 (58,8%)	9	3	14	12	8	86
Смешанные донации	3	13	6 (31,6%)	4	1	4	5	–	23
Доноры ТАФ	4	20	16 (44,4%)	4	2	7	5	2	40
<i>Пол доноров:</i>									
Мужчины	10 (26,3%)	62	39 (38,6%)	14	7	22	21	9	122
Женщины	20 (66,7%)	41	32 (43,8%)	11	3	19	15	6	106
<i>Возраст доноров:</i>									
Младше 25 лет	8	21	14 (40,0%)	6	1	8	10	2	49
От 25 до 45 лет	18	61	46 (43,0%)	10	5	23	18	9	129
Старше 45 лет	4	21	11 (34,4%)	9	4	10	8	4	50

(Beckman Coulter LH Series; Coult USA company; USA) иммуноферментным методом определяли растворимые трансферриновые рецепторы (рТфР). Статистический анализ выполнен с использованием программы SPSS 24.0 (Dell; USA). Полученные результаты данных представлены в виде медианы, первого и третьего квартиля. Для оценки значимости параметров между группами использовали критерий Манна–Уитни. Оценку внутригрупповых различий проводили с помощью попарных сравнений критерием Уилкоксона. Статистически значимыми считали различия, когда вероятность ошибки составляла не более 0,05 ($p < 0,05$).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Нами установлено, что у обследованных 174 доноров, разделенных на шесть групп в зависимости от вида, частоты донаций, пола и возраста, данные по гемограмме практически не отличались от референтных значений. При оценке интенсивности изменений показателей запасного и транспортного железа были проанализированы 228 отклонений от референтного диапазона (табл. 1).

Сравнительный анализ результатов изучения основных показателей метаболизма железа у обследованных доноров показал, что уровень ферритина — наиболее

информативный показатель. Содержание ферритина ниже референтных значений выявлено у доноров всех групп, за исключением первичных доноров–мужчин (рисунок).

Среди 101 обследованных мужчин снижение уровня ферритина ниже референтных значений выявлено у 39 человек (38,6%). Из 73 обследованных женщин истощение запасов железа отмечено у 32 человек (43,8%). Уровень ферритина, характеризующий отсутствие запасов железа в организме (меньше 12–15 мкг/л), наблюдали у 14 доноров-мужчин (13,9%) и 19 доноров-женщин (26%).

Пограничные значения гемоглобина выявлены у 19,8% регулярных доноров крови и ее компонентов ($n = 174$), лишь у трех женщин (1,7%) из разных групп его концентрация составила 119 г/л. У доноров со значениями гемоглобина у нижней границы нормы (130 г/л у мужчин и 120 г/л у женщин), с отклонениями 3–6 г/л и у доноров тромбоцитафереза (ТАФ), часто имеется склонность к истощению запасов железа при продолжающихся последующих донациях, следовательно, к риску развития латентного железодефицита [13]. Значения гемоглобина у нижней границы нормы в сочетании с уменьшением уровня СФ из 71 донора выявлены у 30 человек (42,2%). Пограничные значения гемоглобина и пороговые значения ферритина (30 мкг/л у доноров-мужчин и 20 мкг/л

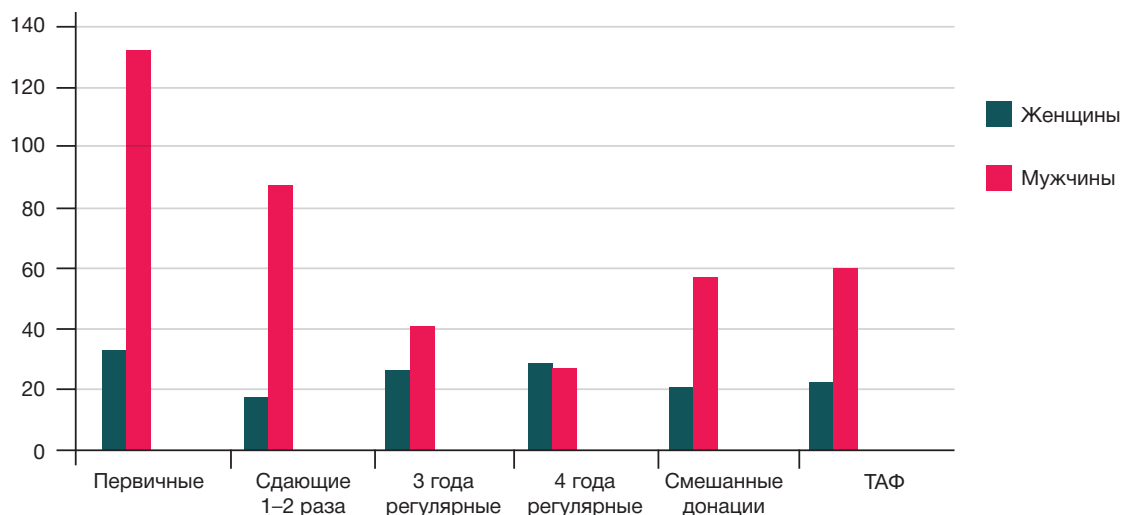


Рис. Уровень сывороточного ферритина (мкг/л) у доноров исследуемых групп

Таблица 2. Критерии риска развития латентного дефицита железа у разных групп доноров крови (компонентов крови) (M ± SD)

Показатель	Первичные (контроль)	Сдающие 1–2 раза в год	Регулярные 3 года	Регулярные 4 года и >	Смешанные донации	ТАФ
Женщины	n = 14	n = 12	n = 6	n = 24	n = 6	n = 11
Ферритин, мкг/л	33,3 ± 4,5 (9,3–65,9)	17,38 ± 3,2* (3,5–37,2) p = 0,0042*	26,8 ± 5,4 (14,5–47,8)	28,9 ± 3,5 (9,00–77,4)	20,3 ± 5,1* (2,4–34,3) p = 0,007*	22,8 ± 5,13 (9,6–55,3)
HGB, г/л	131,2 ± 1,9 (120–144)	131,1 ± 2,8 (121–150)	133,0 ± 4,6 (117–146)	130,9 ± 1,8 (119–153)	132,2 ± 3,9 (121–145)	128,7 ± 2,3 (121–132)
Мужчины	n = 15	n = 12	n = 9	n = 27	n = 13	n = 25
Ферритин, мкг/л	132,3 ± 24,5 (33,3–379,0)	88,2 ± 34,0 (8,5–296,0)	41,7 ± 9,9 (13,0–101,8)	27,37 ± 3,02* (7,2–72,0) p = 0,0014*	57,8 ± 8,9 (14,8–122,0)	60,9 ± 8,77 (5,8–177,9)
HGB, г/л	154,3 ± 3,83 (128–168)	148,7 ± 2,8 (132–164)	142,9 ± 4,1 (130–167)	146,5 ± 1,9 (132–170)	150,6 ± 2,3 (134–163)	147,7 ± 1,53 (128–158)

Примечание: * p < 0,01 — достоверность различий с группой первичных доноров.

у женщин) являлись критериями риска развития железодефицита (табл. 2).

В группу риска развития железодефицитного состояния вошли 58,3% молодых доноров-женщин, сдающих кровь 1–2 раза в течение года, и 54,4% доноров-женщин, сдающих тромбоциты методом афереза (табл. 3). Риск раннего развития латентного железодефицита выявлен в группе доноров-мужчин (66,6%) и женщин (50%), сдающих кровь регулярно в течение четырех и более лет. Средний показатель ферритина у доноров-мужчин составил 27,37 мкг/л, что ниже референсных значений (30,0 мкг/л).

Для выявления влияния числа донаций на развитие железодефицитного состояния были проанализированы показатели обмена железа у 130 доноров крови. В контрольной группе (первичные доноры, 28 человек) уже при первой донации у трех из обследованных доноров-женщин отмечено снижение концентрации СФ. После второй донации крови у доноров-женщин (n = 11) установлено повышение уровней рТфР (4,28 ± 0,26 г/л), НЖСС и ОЖСС при значимом снижении концентрации ферритина (17,38 ± 3,2 мкг/л). Причиной данного факта могут быть существенные изменения в показателях обмена железа, происходящие в первый год донорства, которые наиболее выражены у доноров-женщин. Известно, что запасы железа в организме женщин меньше (35–40 мг/кг), чем у мужчин (50 мг/кг массы тела) [17]. В последующем после третьей донации крови отмечено прогрессирующее снижение концентрации СФ у доноров-мужчин при сопутствующем повышении уровней рТфР и НЖСС. Установлено, что запасы железа по мере увеличения числа донаций постепенно уменьшаются, что особенно

заметно по концентрации СФ у мужчин. Исследования показали значимое снижение СФ (28,1 ± 4,4 мкг/л; n = 28) ниже референсных значений (30,0–400,0 мкг/л) у доноров-мужчин после десяти донаций крови. Изменения менее выражены у доноров-женщин, что, вероятно, связано с увеличением промежутка между донациями. Выявлено уменьшение концентрации СФ уже после второй донации крови с последующим его значимым снижением ниже референсного диапазона, что служит основанием для определения СФ при обследовании доноров после второй и каждой десятой донации крови. Следовательно, влияние на метаболизм железа у доноров оказывали пограничные допустимые цифры гемоглобина и (или) гематокрита перед донацией крови или тромбоцитов (↓ у 30 человек), число донаций (от 6 до 10) [13] и длительность донорского стажа (3–4 года). Истощение запасов железа выявлено в группе молодых доноров-женщин между второй и шестой донациями и у доноров-мужчин с 10-й и более донациями.

Таким образом, для своевременной диагностики нарушений обмена железа у доноров необходим периодический контроль уровня СФ, в том числе при нормальном содержании гемоглобина в крови. Причиной железодефицита у доноров крови и ее компонентов считается потеря при каждой кроводаче определенного количества железа и его медленное восстановление из поступающей в организм пищи [18]. При донациях донорам для восполнения депо железа в организме при выявлении железодефицита необходимо рассматривать вопрос о его профилактике. Наличие признаков ЛДЖ послужит основанием для профилактических мероприятий и, при необходимости, увеличения

Таблица 3. Группы доноров крови и (или) ее компонентов, наиболее подверженные риску развития железодефицита

Группы доноров крови и (или) ее компонентов	Лабораторный показатель
Регулярные доноры-мужчины Стаж: ≥ 3 года Возрастная группа: < 25 лет и старше 45	Число донаций ≥ 6 HGB > 130 г/л СЖ ≤ 9,0 мкмоль/л; СФ ≤ 29,0 мкг/л
Регулярные доноры-мужчины Стаж: ≥ 4 года Возрастная группа: 25–45 лет	HGB > 130 г/л Число донаций ≥ 10 СЖ ≤ 9,0 мкмоль/л; СФ ≤ 29,0 мкг/л
Доноры-женщины, сдающие кровь 1–2 раза в год Возрастная группа: 18–25 лет	Число донаций ≥ 2 HGB > 120 г/л СЖ ≤ 9,0 мкмоль/л; СФ ≤ 20,0 мкг/л
Доноры-женщины смешанных донаций Возрастная группа: 18–25 лет	Число донаций ≥ 6 HGB > 120 г/л СЖ ≤ 12,0 мкмоль/л; СФ ≤ 19,0 мкг/л
Доноры-женщины тромбоцитафереза Возрастная группа: старше 45 лет	Количество донаций ≥ 10 HGB > 120 г/л СЖ ≤ 9,0 мкмоль/л; СФ ≤ 19,0 мкг/л

Таблица 4. Профилактические мероприятия для снижения риска железодефицита

Доноры с риском развития ЛДЖ	Стратегия снижения риска развития железодефицита у доноров
<p>Доноры возрастной группы < 25 лет</p> <p>Доноры с частыми донациями (> 3 раз в год для мужчин и > 2 раз в год для женщин)</p> <p>Доноры со значениями гемоглобина, близкими к нижней границе нормы (в пределах 135 г/л для мужчин и 125 г/л для женщин)</p> <p>Доноры со значениями ферритина ниже референтного диапазона у женщин ≤ 20, у мужчин ≤ 30 мкг/л</p>	<p>1. Увеличение интервала между донациями (например, ≥ 6 месяцев, если не принимает препараты железа)</p> <p>2. Измерение ферритина как основа для мотивации доноров к самостоятельному увеличению интервалов между донациями или рекомендации приема препаратов железа</p>

промежутков между донациями, что будет способствовать сохранению донороспособности. В табл. 4 представлены профилактические мероприятия для снижения риска развития ЛДЖ.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Железодефицитное состояние является серьезной угрозой для донорского потенциала. Согласно полученным данным, скрытый железодефицит у доноров обусловлен длительностью донорского стажа и короткими интервалами между донациями. Для сохранения донорского потенциала имеет место обследование доноров на предмет истощения запасов железа. В качестве маркеров возможно использование как общепринятого ферритина, так и альтернативных показателей обмена железа (уровень трансферрина, растворимых рецепторов трансферрина). Измерение концентрации СФ необходимо всем донорам в случае пограничного уровня гемоглобина, женщинам-донорам репродуктивного возраста после второй донации крови и мужчинам с числом донаций \geq десяти. Коррекция причин, лежащих в основе дефицита железа, и устранение дефицита железа в крови и тканях — основные принципы лечения ЛДЖ [14, 15].

По нашим данным, снижение концентрации СФ у доноров ниже референтного диапазона требует коррекции данного показателя за счет увеличения интервала между донациями и приема препаратов железа. Однако такая тактика может привести к снижению запасов компонентов донорской крови на станциях переливания крови (банках крови). Так, увеличение интервала между донациями привело к снижению запасов донорской крови в первый год на 8%, но через пять лет этот показатель составил уже 4,7% [19]. Число доноров с дефицитом железа и анемией при этом снизилось на 13,6% и 29,3% соответственно. Эта тактика оказала небольшое влияние на запасы крови ($-3,2\%$ через 5 лет). На наш взгляд, такой подход имеет долгосрочный прогноз и позволит через 10 лет не только вернуться к исходным показателям запасов донорской крови, но и увеличить их, а также повысить качество эритроцитсодержащих компонентов.

Следовательно, целесообразно динамическое наблюдение за донорами с увеличением числа донаций крови в год по ряду необходимых параметров обмена

железа с учетом пограничного гемоглобина и принятие решения об увеличении длительности интервала между донациями или об ограничении допустимого числа донаций в год.

С увеличением донорского стажа после четырех и более лет частота выявляемости ЛДЖ в группе обследованных доноров нарастает, что делает необходимым профилактику дефицита железа в целях сохранения здоровья доноров. Проблема дефицита железа — прежде всего проблема питания, поэтому первичная профилактика ЖДС и латентного дефицита железа — это адекватное, сбалансированное питание человека в любом возрасте. Важно проводить диагностику дефицита железа, даже при отсутствии клинических проявлений, информировать донора о его последствиях и подбирать оптимальный для каждого конкретного случая лекарственный препарат, применяя идеи персонализированного подхода [20, 21]. Необходимо разработка новых программ рациональной диагностики и профилактики железодефицитных состояний с использованием лекарственных препаратов, обладающих высокой эффективностью, хорошей переносимостью, позволяющие восполнить запасы железа при ЛДЖ. Разработка профилактических мероприятий для истощенных запасов железа позволит сохранить здоровье доноров и снизить частоту отводов их от донаций при повторных сдачах крови, тем самым, сохранить донорский потенциал.

ВЫВОДЫ

Проведенные исследования подтверждают необходимость комплексной оценки обмена железа при первичном медицинском освидетельствовании доноров для допуска к донациям крови и ее компонентов с целью выявления скрытого дефицита железа и сохранения их здоровья. Важнейшим аспектом является своевременное выявление скрытых признаков дефицита железа, факторов риска развития анемии. Для доноров с многократными кроводачами требуется также оценка процессов обмена железа, так как частота выявляемости ЛДЖ нарастает. В связи с актуальностью проблемы дефицита железа у доноров, наряду с оценкой уровня гемоглобина, внедрение исследования сывороточного ферритина в широкую практику донорства будет иметь большое профилактическое значение.

Литература

- Лукина Е. А., Цветаева Н. В., Двирнык В. Н., Румянцев А. Г., Масчан А. А., Чернов В. М. и др. Железодефицитная анемия — 2021–2022–2023: клинические рекомендации. 2021. Доступно по ссылке: <https://gbpokachi.ru/upload/medialibrary/81b/hmct9ew0cod31zwygy2y2skydhvgn4gk.pdf>.
- Fillet A-M, Gross S. Prevention of anemia in blood donors. *Transfus Clin Biol*. 2017; 24 (3): 143–47.
- Стуклов Н. И., Митченкова А. А. Анемия и дефицит железа. Глобальные проблемы и алгоритмы решений. *Терапия*. 2018; 24 (6): 147–55.

4. Рогачевский О. В., Жибурт Е. Б., Чемоданов И. Г., Моисеев С. В. Железодефицитная анемия у доноров крови. Клиническая фармакология и терапия. 2018; 27 (3): 4–9.
5. Мартынов А. И., Гороховская Г. Н., Юн В. Л., Васюк Ю. А., Николин О. П., Петина М. М. и др. Современный взгляд на проблему дефицита железа. Поликлиника. 2022; 6 (2): 16–20.
6. Данилова И. Н., Ковтунова М. Е., Сухорукова Э. Е., Шерстнев Ф. С., Кривокорытова Т. В. Риск развития дефицита железа у доноров крови и ее компонентов. Трансфузиология. 2022; 23 (S2): 22–23.
7. Condon F, Li H, Kessler D, et al. Evidence of relative iron deficiency in apheresis platelet donors correlates with donation frequency. *Blood*. 2013; 22 (21): 155.
8. Macher S, Sipurzynski-Budraß S, Roskopf K, Semmelrock M, et al. Influence of multicomponent apheresis on donors' haematological and coagulation parameters, iron storage and platelet function. *Vox Sang*. 2012; 103 (3): 194–200.
9. Page EA, Coppock JE, Harrison JF. Study of iron stores in regular plateletpheresis donors. *Transfus Med*. 2010; 20: 22–29.
10. Ma CH, Guo R, Wu W, Yan J-X, Yu J-L, Zhu Y-H, et al. Serum ferritin in donors with regular plateletpheresis. *Zhongguo Shi Yan Ye Xue Za Zhi*. 2011; 19 (2): 508–10.
11. Попович М. Ю. Железодефицитная анемия: оценка статуса железа в организме по уровню сывороточного ферритина с учетом рекомендаций ВОЗ (2020). Гематология. Трансфузиология. Восточная Европа. 2020; 6 (4): 479–88.
12. WHO guideline on use of ferritin concentrations to assess iron status in individuals and populations. Geneva: World Health Organization, 2020.
13. Гришина Г. В., Касьянов А. Д., Ласточкина Д. В., Кробинец И. И. Влияние количества донаций на содержание ферритина в организме донора. Вестник гематологии. 2023; 19 (4): 24–29.
14. Четчин А. В., Данильченко В. В., Пlockий Р. А. Проблема железодефицита у доноров крови и пути ее решения. Трансфузиология. 2020; 21 (2) : 129–45.
15. Gestsdottir E, Magnusson MK, Lund SH, et al. Monitoring iron stores in Icelandic blood donors from 1997 through 2019. *Transfus Med*. 2022; 32 (2): 128–34.
16. Об утверждении порядка прохождения донорами медицинского обследования и перечня медицинских противопоказаний (временных и постоянных) для сдачи крови и (или) ее компонентов и сроков отвода, которому подлежит лицо при наличии временных медицинских показаний, от донорства крови и (или) ее компонентов. Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от 28.10.2020 г. № 1166н (зарегистрирован Министерством юстиции Российской Федерации 26.11.2020 г., регистрационный № 61104). Доступно по ссылке: <http://publication.pravo.gov.ru/Document/View/0001202011260032>.
17. Brittenham G. Pathophysiology of iron homeostasis. *Hematology: basic principles and practice*. Philadelphia: Elsevier, 2018; 6 (35): 468–77.
18. Круглов Д. С. Лекарственные средства применяемые для профилактики и лечения железодефицитных состояний. Научное обозрение. Медицинские науки. 2017; 4: 26–41.
19. Richard P, Fillet A-M, Malard L, Leclerc C, Chanut C, Woimant G, et al. Impact of donor ferritin testing on iron deficiency prevention and blood availability in France: A cohort simulation study. *Vox Sang*. 2023; 118: 24–32.
20. Sweegers MG, Zalpuri S, Quee FA, Huis EMJ, Prinsze FJ, Hoogendijk EO, et al. Ferritin measurement in Donors-Effectiveness of iron Monitoring to diminish iron deficiency and low haemoglobin in whole blood donors (FIND'EM): study protocol for a stepped wedge cluster randomised trial. *Trials*. 2020; 21 (1): 823.
21. Al-Nasim A, Sallam A, Chowdhury S, Thachil J. Iron deficiency without anaemia: a diagnosis that matters. *Clin Med (Lond)*. 2021; 21 (2): 107–13.

References

1. Lukina EA, Cvetaeva NV, Dvirnyk VN, Rumjancev AG, Maschan AA, Chernov VM, i dr. Zhelezodeficitnaja anemija — 2021–2022–2023: klinicheskie rekomendacii. 2021. Dostupno po ssylke: <https://gbpokachi.ru/upload/medialibrary/81b/hmct9ew0cod31z wgy2y2skydhvgcn4gk.pdf>. Russian.
2. Fillet A-M, Gross S. Prevention of anemia in blood donors. *Transfus Clin Biol*. 2017; 24 (3): 143–47.
3. Stuklov NI, Mitchenkova AA. Anemija i deficit zheleza. *Global'nye problemy i algoritmy reshenij. Terapija*. 2018; 24 (6): 147–55. Russian.
4. Rogachevskij OV, Zhiburt EB, Chemodanov IG, Moiseev SV. Zhelezodeficitnaja anemija u donorov krvi. *Klinicheskaja farmakologija i terapija*. 2018; 27 (3): 4–9. Russian.
5. Martynov AI, Gorohovskaja GN, Jun VL, Vasjuk JuA, Nikolin OP, Petina MM, i dr. Sovremennij vzgljad na problemu deficita zheleza. *Poliklinika*. 2022; 6 (2): 16–20. Russian.
6. Danilova IN, Kovtunova ME, Suhorukova JeE, Sherstnev FS, Krivokorytova TV. Risk razvitija deficita zheleza u donorov krvi i ee komponentov. *Transfuziologija*. 2022; 23 (S2): 22–23. Russian.
7. Condon F, Li H, Kessler D, et al. Evidence of relative iron deficiency in apheresis platelet donors correlates with donation frequency. *Blood*. 2013; 22 (21): 155.
8. Macher S, Sipurzynski-Budraß S, Roskopf K, Semmelrock M, et al. Influence of multicomponent apheresis on donors' haematological and coagulation parameters, iron storage and platelet function. *Vox Sang*. 2012; 103 (3): 194–200.
9. Page EA, Coppock JE, Harrison JF. Study of iron stores in regular plateletpheresis donors. *Transfus Med*. 2010; 20: 22–29.
10. Ma CH, Guo R, Wu W, Yan J-X, Yu J-L, Zhu Y-H, et al. Serum ferritin in donors with regular plateletpheresis. *Zhongguo Shi Yan Ye Xue Za Zhi*. 2011; 19 (2): 508–10.
11. Popovich MJu. Zhelezodeficitnaja anemija: ocenka statusa zheleza v organizme po urovnju sывороточного ferritina s uchetoм rekomendacij VOZ (2020). *Gematologija. Transfuziologija. Vostochnaja Evropa*. 2020; 6 (4): 479–88. Russian.
12. WHO guideline on use of ferritin concentrations to assess iron status in individuals and populations. Geneva: World Health Organization, 2020.
13. Grishina GV, Kasjanov AD, Lastochkina DV, Krobinec II. Vlijanie kolichstva donacij na sodержание ferritina v organizme donora. *Vestnik gematologii*. 2023; 19 (4): 24–29. Russian.
14. Chechetkin AV, Danilchenko VV, Plockij RA. Problema zhelezodeficita u donorov krvi i puti ee reshenija. *Transfuziologija*. 2020; 21 (2) : 129–45. Russian.
15. Gestsdottir E, Magnusson MK, Lund SH, et al. Monitoring iron stores in Icelandic blood donors from 1997 through 2019. *Transfus Med*. 2022; 32 (2): 128–34.
16. Ob utverzhdenii porjadka prohozhenija donorami medicinskogo obsledovaniya i perechnja medicinskih protivopokazanij (vremennyh i postojannyh) dlja sdachi krvi i (ili) ee komponentov i srokov otvoda, kotoromu podlezhit lico pri nalichii vremennyh medicinskih pokazanij, ot donorstva krvi i (ili) ee komponentov. Prikaz Ministerstva zdравоохранения Rossijskoj Federacii ot 28.10.2020 g. # 1166n (zaregistririvan Ministerstvom justicii Rossijskoj Federacii 26.11.2020 g., registracionnyj # 61104). Dostupno po ssylke: <http://publication.pravo.gov.ru/Document/View/0001202011260032>. Russian.
17. Brittenham G. Pathophysiology of iron homeostasis. *Hematology: basic principles and practice*. Philadelphia: Elsevier, 2018; 6 (35): 468–77.
18. Kруглов DS. Lekarstvennyye sredstva primenjaemye dlja profilaktiki i lechenija zhelezodeficitnyh sostojanij. *Nauchnoe obozrenie. Medicinskie nauki*. 2017; 4: 26–41. Russian.
19. Richard P, Fillet A-M, Malard L, Leclerc C, Chanut C, Woimant G, et al. Impact of donor ferritin testing on iron deficiency prevention and blood availability in France: A cohort simulation study. *Vox Sang*. 2023; 118: 24–32.
20. Sweegers MG, Zalpuri S, Quee FA, Huis EMJ, Prinsze FJ, Hoogendijk EO, et al. Ferritin measurement in Donors-Effectiveness of iron Monitoring to diminish iron deficiency and low haemoglobin in whole blood donors (FIND'EM): study protocol for a stepped wedge cluster randomised trial. *Trials*. 2020; 21 (1): 823.
21. Al-Nasim A, Sallam A, Chowdhury S, Thachil J. Iron deficiency without anaemia: a diagnosis that matters. *Clin Med (Lond)*. 2021; 21 (2): 107–13.

СТРУКТУРА ОСТРЫХ ОТРАВЛЕНИЙ ХИМИЧЕСКОЙ ЭТИОЛОГИИ В МЕГАПОЛИСЕ НА ФОНЕ ПАНДЕМИИ COVID-19 В 2020–2021 ГГ.

С. А. Солонин¹ ✉, М. В. Белова^{1,2}, Н. Е. Терешкина¹, Е. А. Кашолкина¹, И. А. Тюрин¹, М. А. Годков^{1,3}, М. М. Поцхверия¹

¹ Научно-исследовательский институт скорой помощи имени Н. В. Склифосовского Департамента здравоохранения города Москвы, Москва, Россия

² Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), Москва, Россия

³ Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Россия

Распространение COVID-19 в России обусловило проведение ограничительных мероприятий. Связанная с ними стрессовая ситуация оказала заметное психоэмоциональное воздействие на население, что не могло не отразиться на эпидемиологии острых отравлений химической этиологии (ООХЭ). Целью исследования было изучить структуру ООХЭ в Москве в условиях пандемии COVID-19. Проанализированы данные обследования лиц, поступивших с ООХЭ в НИИ СП имени Н. В. Склифосовского в 2019–2021 гг., с учетом динамики выявляемости COVID-19 методом ОТ-ПЦР. Для статистической обработки результатов использовали непараметрические методы и программное обеспечение GraphPad Prism 9. В 2020 г. количество госпитализированных с ООХЭ было наибольшим за анализируемый период. По сравнению с 2019 г. число острых отравлений (ОО) этанолом и его суррогатами в 2020 г. у лиц обоего пола возросло на 109,7%, у женщин — на 286,2%. У мужчин чаще ($p < 0,0001$) регистрировали также ОО наркотиками и разъедающими веществами. Число случаев ОО наркотиками в 2019–2021 гг. менялось незначительно, увеличиваясь на 2,4 и 6,7% ежегодно. Преобладали синтетические наркотические вещества: метадон, катиноны, психостимуляторы, а также смеси веществ. Выявлены соответствие тенденций помесечной динамики интоксикаций этанолом с выявляемостью COVID-19 и отсутствие такового при отравлениях наркотиками. Установлены характерные особенности структуры ООХЭ в столице на фоне пандемии COVID-19: рост числа ОО, связанных со злоупотреблением алкоголем (особенно у женщин), при сравнительно стабильном уровне ОО, обусловленных наркопотреблением.

Ключевые слова: отравления, злоупотребление алкоголем или наркотиками, COVID-19, наркотики, метадон, алкоголь, этанол, лекарственные средства

Вклад авторов: С. А. Солонин — идея и разработка дизайна исследования, сбор и обработка данных, написание статьи, анализ результатов; М. В. Белова — разработка дизайна исследования, сбор и обработка данных, написание статьи; Н. Е. Терешкина — написание статьи, сбор литературных данных, участие в анализе результатов; Е. А. Кашолкина — техническая обработка данных, сбор литературных данных; И. А. Тюрин — техническая обработка данных, участие в анализе результатов; М. А. Годков — обработка данных, редактирование и утверждение текста статьи; М. М. Поцхверия — редактирование и утверждение текста статьи.

✉ **Для корреспонденции:** Сергей Александрович Солонин
Б. Сухаревская пл., д. 3, стр. 1, г. Москва, 129090, Россия; solonin@yahoo.com

Статья получена: 06.10.2023 **Статья принята к печати:** 27.11.2023 **Опубликована онлайн:** 29.12.2023

DOI: 10.47183/mes.2023.052

PATTERNS OF ACUTE CHEMICAL POISONINGS IN A METROPOLIS AGAINST THE BACKGROUND OF THE COVID-19 PANDEMIC IN 2020–2021

Solonin SA¹ ✉, Belova MV^{1,2}, Tereshkina NE¹, Kasholkina EA¹, Tyurin IA¹, Godkov MA^{1,3}, Potkhveriya MM¹

¹ Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine, Moscow Health Department, Moscow, Russia

² Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation (Sechenovskiy University), Moscow, Russia

³ Federal State Budgetary Educational Institution of Further Professional Education «Russian Medical Academy of Continuous Professional Education» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow, Russia

The spread of COVID-19 in Russia has led to restrictive measures. The stress associated therewith had a noticeable psychoemotional effect on the population, which could not but affect the numbers and patterns of acute chemical poisonings (ACP). This study aimed to investigate the patterns of ACP in Moscow in the context of the COVID-19 pandemic. We analyzed data describing cases admitted with ACP to N.V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine in 2019–2021, factoring in the dynamics COVID-19 prevalence as diagnosed with RT-PCR tests. The results of the analysis were processed using nonparametric methods and GraphPad Prism 9 software. Within the considered period, 2020 was the peak year. The number of acute poisonings (AP) with ethanol and its surrogates in 2020 was 109.7% greater than in 2019 (both sexes; the figure for women alone was 286.2%). Male patients suffered AP with drugs and corrosive substances more often than female ($p < 0.0001$). The number of drug abuse cases in 2019–2021 varied slightly, increasing by 2.4 and 6.7% annually. Synthetic narcotic substances were most common: methadone, cathinones, psychostimulants, and mixtures of substances. We discovered parallel trends in dynamics of ethanol intoxication and COVID-19 cases, and no such between drug poisonings and the said morbidity. Thus, the identified specifics of ACP patterns in the capital of Russia associated with the COVID-19 pandemic are a spike in alcohol abuse (especially among women), and lack of noticeable effect of the disease on use of drugs.

Keywords: Poisonings, substance abuse, COVID-19, drugs, methadone, alcohol, ethanol, medicines

Author contribution: Solonin SA — study idea, design development, data collection and processing, article authoring, analysis of the results; Belova MV — study design development, data collection and processing, article authoring; Tereshkina NE — article authoring, data collection, participation in the analysis of results; Kasholkina EA — data processing (technical part), data collection; Tyurin IA — data processing (technical part), participation in the analysis of results; Godkov MA — data processing, article editing and approval; Potkhveriya MM — article editing and approval.

✉ **Correspondence should be addressed:** Sergey A. Solonin
B. Sukharevskaya ploschad, 3, str. 1, Moscow, 129090, Russia; solonin@yahoo.com

Received: 06.10.2023 **Accepted:** 27.11.2023 **Published online:** 29.12.2023

DOI: 10.47183/mes.2023.052

Начало 2020 г. в Российской Федерации ознаменовалось появлением и стремительным распространением новой тяжелой острой респираторной инфекции — COVID-19 (CoronaVirus Disease 2019), вызываемой коронавирусом SARS-CoV-2. Столица РФ, как логистический и транспортный узел, одной из первых столкнулась с завозными случаями и резким ростом заболеваемости COVID-19 [1, 2]. В марте в г. Москве были введены ограничения, направленные на предотвращение распространения новой коронавирусной инфекции в мегаполисе — гражданам запрещалось покидать места своего проживания (пребывания) и было предписано соблюдать социальное дистанцирование [3].

Вынужденная самоизоляция вследствие резкого уменьшения числа социальных контактов, снижения привычной общественной и физической активности оказала значительное стрессовое воздействие на людей [3], в том числе уязвимые группы населения, к которым относятся наркозависимые, а также лица, страдающие тревожными и депрессивными расстройствами [4–6]. Сложившаяся психотравмирующая обстановка не могла не повлиять на структуру острых отравлений химической этиологии (ООХЭ). В связи с этим представлялось актуальным изучение характера и частоты острых отравлений (ОО) в столичном мегаполисе в период эпидемического распространения новой коронавирусной инфекции.

Цель работы — исследовать структуру острых отравлений химической этиологии в г. Москве в условиях пандемии COVID-19.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Проведено ретроспективное сплошное исследование по оценке результатов химико-токсикологического анализа у пациентов, поступивших на лечение в отделение острых отравлений и соматопсихиатрических расстройств (ОООиСП) Научно-исследовательского института скорой помощи имени Н. В. Склифосовского (НИИ СП) в 2020–2021 гг. Для сравнения изменений структуры ОО, предположительно связанных с пандемией COVID-19, дополнительно проведен анализ данных за 2019 г.

Лабораторная диагностика ООХЭ включала два этапа: предварительный (с использованием иммунохроматографического анализа и тонкослойной хроматографии) и подтверждающий (с использованием высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-селективным детектированием на системе SCIEX QTRAP 6500+ (Sciex; США) для определения феназепам (бензодиазепины), синтетических каннабомиметиков, производных катинона и газовой хроматографии на приборах Agilent 7890B с масс-селективным детектором

5977B (Agilent Technologies; США), Agilent 7820A с масс-селективным детектором 5975 (Agilent Technologies; США) для определения других веществ.

В исследование были включены граждане с различными видами ОО, поступившие в НИИ СП по каналам госпитализации «103» и «Самотек». Не включены в исследование лица, отказавшиеся от госпитализации. Всех пациентов с диагнозом «Острое отравление» ранжировали по основным нозологическим группам согласно критериям МКБ-10 (табл. 1). Анализировали случаи отравления как отдельными токсичными соединениями, лекарственными препаратами, наркотическими средствами и психотропными веществами, так и их комбинациями. ОО такими запрещенными стимуляторами, как амфетамин (метамфетамин), относили к отравлениям психотропными средствами (класс T43 (T43.6 — Отравления психостимулирующими средствами, характеризующимися возможностью пристрастия к ним) по МКБ-10).

Выявление РНК вируса SARS-CoV-2 проводили методом обратной транскрипции-полимеразной цепной реакции (ОТ-ПЦР) с использованием наборов реагентов, зарегистрированных на территории РФ в установленном порядке. Биологическим материалом для молекулярного исследования служили мазки из носо- и ротоглотки. Ретроспективный анализ данных о заболеваемости COVID-19 проводили, используя городскую Единую медицинскую информационно-аналитическую систему и лабораторно-информационную систему «АЛИСА».

При сопоставлении числа госпитализированных с ООХЭ и результатов диагностики COVID-19 у поступивших в НИИ СП использовали относительный показатель — выявляемость, то есть отношение количества положительных образцов по наличию РНК SARS-CoV-2 к общему количеству протестированных проб за определенный период, выраженное в процентах.

Статистическая обработка полученных результатов выполнена с использованием программного обеспечения GraphPad Prism 9 (GraphPad Software; США). Данные представлены в виде абсолютных (n) и относительных (%) величин. Для оценки тенденций изменения частоты госпитализаций с ООХЭ на фоне COVID-19 использовали метод скользящего среднего. Взаимосвязь между выявляемостью COVID-19 у пациентов НИИ СП и населением г. Москвы определяли с использованием непараметрического корреляционного анализа с применением рангового коэффициента Спирмена (Spearman r). Анализ качественных признаков проводили через исследование их частот посредством таблиц сопряженности с использованием критерия согласия χ^2 (критерия Пирсона). Различия оценивали как статистически значимые при вероятности 95% ($p < 0,05$) и выше.

Таблица 1. Распределение пациентов с острыми отравлениями химической этиологии по основным этиологическим группам

Этиологические группы токсикантов	Код МКБ-10	Анализируемый период (год)					
		2019		2020		2021	
		Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
Лекарственные средства	T36-39, T41-50	1642	50,7	1389	39,9	1377	48,1
Наркотики	T40	583	18	597	17,1	637	22,2
Алкоголь, органические растворители, ароматические и неароматические углеводороды	T51-T53	434	13,4	910	26,1	242	8,5
Разъедающие вещества	T54	324	10	349	10	267	9,3
Прочие	T55-T65	257	7,9	240	6,9	342	11,9
Всего	–	3240	100	3485	100	2865	100

Таблица 2. Динамика выявления COVID-19 в 2020–2021 гг. у пациентов НИИ СП

Месяц	2020 г.			2021 г.		
	Результаты определения РНК SARS-CoV-2					
	Число обследованных	Число положительных результатов		Число обследованных	Число положительных результатов	
Абс.		%	Абс.		%	
Январь	–	–	–	4985	652	13,1
Февраль	–	–	–	4262	359	8,4
Март	–	–	–	5052	422	8,4
Апрель	1031	354	34,3	4598	393	8,6
Май	2406	524	21,8	4107	363	8,8
Июнь	4526	345	7,6	5042	705	14
Июль	4102	87	2,1	4646	518	11,2
Август	3981	139	3,5	3958	253	6,4
Сентябрь	4490	209	4,7	4359	291	6,7
Октябрь	6987	889	12,7	5056	683	13,5
Ноябрь	5906	910	15,4	4758	536	11,3
Декабрь	6537	1009	15,4	4990	325	7,2
Всего	39966	4466	11,2	55313	5500	9,9

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В период с 2019 по 2021 г. в ООиСП НИИ СП за специализированной токсикологической помощью обратилось 9590 пациентов (табл. 1).

Для сопоставления динамики поступлений и этиологической структуры ООХЭ в НИИ СП с особенностями распространения коронавирусной инфекции в городе Москве анализировали общую выявляемость COVID-19 у лиц, поступавших в стационар в 2020–2021 гг. (табл. 2, рис. 1, 2).

Ранее были установлены особенности обнаружения РНК коронавируса SARS-CoV-2 в столице с сезонными пиками два раза в год [7], что согласовывалось с данными эпидемиологических исследований, проведенных в аналогичный период [2]. При сравнительном анализе оказалось, что выявляемость РНК коронавируса SARS-CoV-2 среди всех пациентов, госпитализированных в НИИ СП, в полной мере отражала особенности эпидемического процесса COVID-19 в мегаполисе в целом, так как очень высоко коррелировала (Spearman $r = 0,8402$, $p < 0,0001$) с результатами суммарного скринингового обследования населения Москвы из амбулаторно-поликлинической сети и стационаров столицы различного профиля [7]. Высокая степень корреляции выявляемости COVID-19 по стационару НИИ СП с аналогичным показателем по городу позволяет обоснованно использовать данные нашего учреждения при проведении анализа изменения структуры ООХЭ в контексте общей эпидемиологической ситуации, связанной с пандемией (рис. 1, 2).

Исследование гендерно-возрастной структуры госпитализированных с острыми экзотоксикозами показало, что возраст пострадавших колебался от 16 до 96 лет. Среди поступивших пациентов в течение всего срока наблюдений преобладали мужчины и лица молодого возраста (табл. 3, 4).

Анализ этиологической структуры острых интоксикаций у пациентов НИИ СП продемонстрировал доминирование отравлений лекарственными средствами с преобладанием этого типа интоксикаций у женщин (табл. 5). В 2019 и 2021 гг. удельный вес отравлений лекарственными средствами у женщин в общей структуре острых интоксикаций был примерно одинаковым, тогда как в 2020 г. отмечали заметное снижение этого показателя.

Число госпитализаций женщин с ОО, связанными с употреблением алкоголя и его суррогатов, напротив, существенно (на 286,2%) возросло в 2020 г. по сравнению с 2019 г. В 2021 г. данный показатель снова резко снизился.

В течение всего анализируемого периода этиологическая структура ООХЭ у женщин не претерпевала существенных изменений. Основной причиной их обращения в НИИ СП служили ОО преимущественно рецептурными препаратами снотворно-седативного действия, антидепрессантами, нейролептиками, противосудорожными, а также противопаркинсоническими средствами, принятыми в том числе совместно с алкоголем, а также наркотиками. Среди наркотиков наиболее часто идентифицировали психодислептики, психостимуляторы, диацетилморфин (героин) и синтетические опиоиды — метадон, фентанил и трамадол.

У мужчин спектр лекарственных средств, вызывающих ОО, был в целом аналогичным. Однако в отличие от женщин, у пациентов мужского пола регистрировали стабильное снижение количества и доли отравлений лекарственными средствами: их удельный вес снизился в 2021 г. на 22,4% по сравнению с 2019 г.

Гендерные различия отмечены и по другим типам токсикантов. Так, у мужчин статистически значимо чаще ($p < 0,0001$) диагностировали ОО наркотиками, алкоголем и его суррогатами, разъедающими веществами и другими токсическими веществами (табл. 5).

Картина ОО, связанных с приемом наркотиков, на фоне пандемии COVID-19 претерпела значительные изменения с точки зрения спектра употребляемых средств при наличии в целом стабильных количественных показателей обращений за медицинской помощью. В 2020 г. число госпитализаций в связи с отравлениями наркотиками увеличилось всего на 2,4% по сравнению с 2019 г. В 2021 г. количество поступивших с этим видом ООХЭ продолжало расти, хотя по-прежнему незначительно (на 6,7% по сравнению с предыдущим годом) (табл. 1).

В течение всего периода наблюдений самым часто обнаруживаемым наркотиком был синтетический опиоид метадон (Т40.3) (рис. 3). Отравления им преобладали у мужчин: было зафиксировано 148 случаев госпитализаций в 2019 г., 173 — в 2020 г., 143 — в 2021 г. Острые интоксикации метадонном в этой группе пациентов встречались в 1,5–2,4

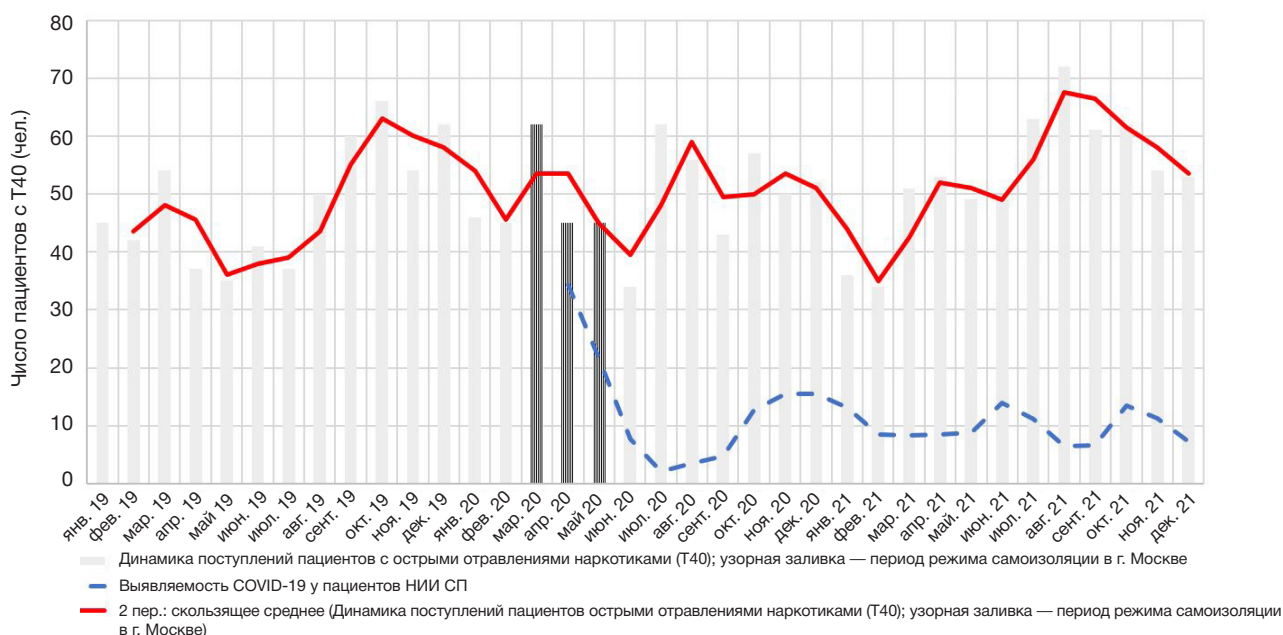


Рис. 1. Динамика поступлений пациентов с острыми отравлениями наркотиками (Т40) в 2019–21 гг. и выявляемость COVID-19 в 2020–21 гг. среди пациентов стационара «НИИ СП имени Н. В. Склифосовского ДЗМ»

раза чаще, чем другими опиатами/опиоидами. У женщин отравления метадонем были зарегистрированы лишь в 17, 33 и 21 случае соответственно.

Наиболее часто обнаруживаемыми наркотиками у женщин были психодислептики (Т40.9). У мужчин также выявляли интоксикации психодислептиками, причем число ОО ими за анализируемый период удвоилось (48 случаев — в 2019 г., 76 — в 2020 г., 101 — в 2021 г.).

Необходимо отметить, что отравления метадонем без сочетаний с другими веществами встречались редко: у мужчин — в 4,2–5,0%, а у женщин — в 0,3–0,8% случаев от общего числа ОО наркотиками. В остальных случаях помимо метадона выявляли сочетанные интоксикации с другими наркотиками, этанолом и/или веществами из разных фармакологических групп.

В 2020 г. при сравнении со значениями 2019 г. доля диагностированных ОО метадонем в сочетании

с психостимуляторами, психостимуляторами/ психодислептиками и лекарственными средствами возросла с 8,5 до 11,6% и с 6,3 до 13,7% соответственно. Число отравлений психодислептиками в сочетании с опиатами/опиоидами (за исключением метадона) и психостимуляторами возросло с 7,4 до 9,7%, а психодислептиками в сочетании с психостимуляторами — с 8,3 до 10,2%. В 2021 г., после снижения в 2020 г., вновь возрос удельный вес ОО в результате сочетанного приема метадона и лекарственных средств, психодислептиков и каннабиса/психостимуляторов, психодислептиков и лекарственных средств, в том числе принятых совместно с этанолом. В 2021 г. стали регистрировать новые сочетания токсикантов, не встречавшиеся в предыдущие годы: опиаты/опиоиды совместно с лекарственными средствами; синтетические наркотики — с лекарственными препаратами и/или психодислептиками и/или каннабисом,

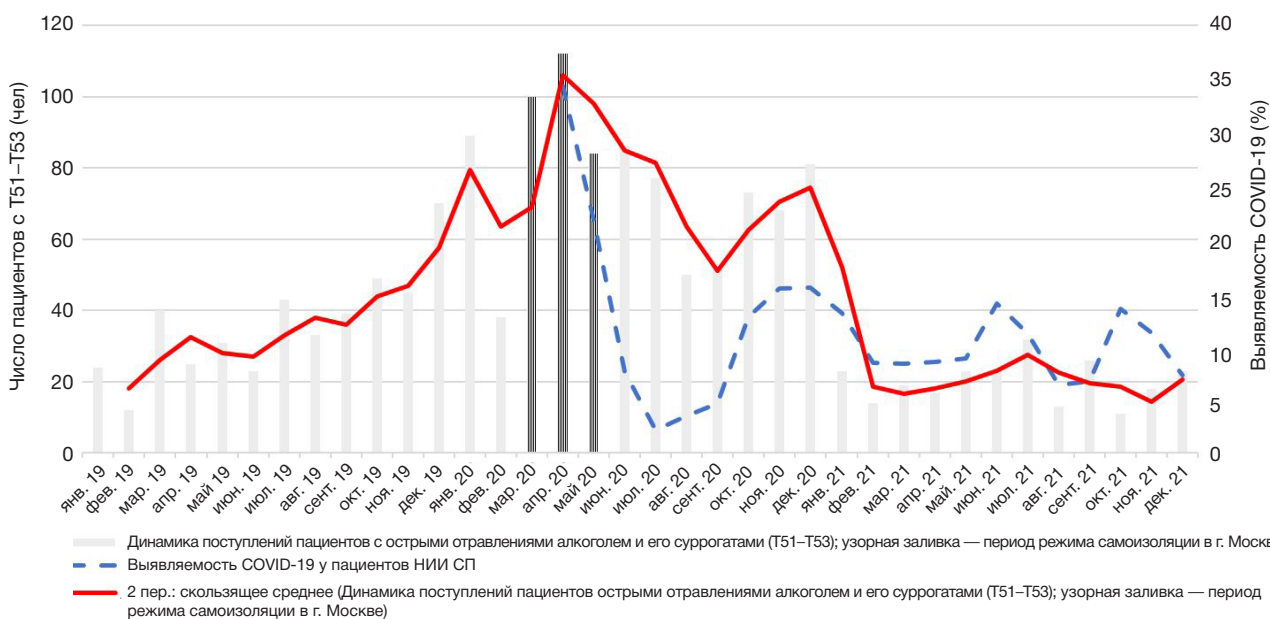


Рис. 2. Динамика поступлений пациентов с острыми отравлениями алкоголем и его суррогатами (Т51–Т53) в 2019–21 гг. и выявляемость COVID-19 в 2020–21 гг. среди пациентов стационара «НИИ СП имени Н. В. Склифосовского ДЗМ»

Таблица 3. Динамика острых отравлений среди мужчин и женщин в 2019–2021 гг.

Пол пострадавших	2019		2020		2021	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
Мужчины	1721	53,1	1988	57	1473	51,4
Женщины	1519	46,9	1497	43	1392	48,6

а также кокаин — с психостимуляторами и/или лекарственными средствами (рис. 3).

За период с 2019 по 2021 г. количество пациентов с ОО смесями различных веществ в целом возросло на 44,2%: при этом у мужчин рост составил 0,6%, у женщин — 152,8%. Смеси, как правило, представляли собой наркотики в сочетании с одним или несколькими лекарственными препаратами психотропного или разнонаправленного действия, либо с алкоголем. Достаточно часто совместно с наркотиками обнаруживали нестероидные противовоспалительные средства (метамизол натрия, ибупрофен, напроксен, салицилаты, парацетамол) и/или психотропные препараты (барбитураты, бензодиазепины, три- и тетрациклические антидепрессанты). В целом за изучаемый период интоксикации наркотиками, принятыми в том числе в сочетании с лекарственными средствами, стали регистрировать у мужчин чаще на 6,6% (табл. 5).

Количество ОО наркотиками опиоидного/опиоидного ряда (героин, морфин, кодеин (Т40.0-Т40.2)), принятыми в отдельности или в составе сложных комбинаций из наркотических (за исключением метадона) и психофармакологических средств, в том числе Т43.6 (производные амфетамина и метамфетамина), в разные годы наблюдений значительно варьировало — от 11,0 до 18,5% (в 2019 г. — 108 человек, в 2020 г. — 110 человек, в 2021 г. — 70 человек). В 2019–2020 гг. подобные интоксикации отмечали только среди мужчин. В 2021 г. у женщин также стали регистрировать этот вид отравлений, причем их удельный вес составил 13,3%.

При анализе внутригодовой (помесячной) динамики госпитализаций пациентов с ОО наркотическими веществами обращало на себя внимание отсутствие связи количества случаев интоксикаций с особенностями течения эпидемического процесса, сопряженного с COVID-19, в 2020 и 2021 гг. (рис. 1). Более того, в периоды снижения частоты выявления РНК SARS-CoV-2, что отражало временное улучшение эпидемиологической ситуации, регистрировали пики числа поступлений с отравлениями наркотиками. Максимальное число поступлений пришлось на июль–октябрь 2021 г.

В анализируемый трехлетний период отмечено скачкообразное (на 109,7%) увеличение в 2020 г. количества пациентов с отравлениями алкоголем и его суррогатами по сравнению с 2019 и 2021 гг., а также их удельного веса в общей структуре ООХЭ (табл. 1).

Таблица 4. Возрастная структура пациентов с острыми отравлениями в ООИСП НИИ СП

Возрастная группа	2019		2020		2021	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
16–29 лет	944	29,1	1014	29,1	926	32,3
30–39 лет	884	27,3	1044	30	772	27
40–49 лет	612	18,9	668	19,2	485	16,9
50–59 лет	347	10,7	333	9,5	265	9,3
60–74 года	271	8,4	262	7,5	239	8,3
≥ 75 лет	182	5,6	164	4,7	178	6,2
Итого	3240	100	3485	100	2865	100

Оценка месячной динамики госпитализаций в 2020 г. показала превышение данного показателя по сравнению с 2019 г. в 2,5–4,5 раза. Наибольшее число поступлений приходилось на периоды максимальной выявляемости COVID-19 с пиком в марте–апреле 2020 г. (рис. 2). В 24,8–31,4% случаев (в 2019 г. — 880 чел., в 2020 г. — 729 чел., в 2021 г. — 651 чел.) пациенты с отравлениями различной этиологии, за исключением группы Т51-Т53, находились в сопутствующем состоянии алкогольного опьянения различной степени тяжести.

Пик ОО разъедающими веществами пришелся на 2020 г. (табл. 1). При этом как их абсолютное количество, так и удельный вес заметно снизились в 2021 г. Среди пациентов с интоксикациями данного типа преобладали поражения вследствие перорального приема органических (уксусная) и неорганических (серная, соляная) кислот, щелочей (нашатырный спирт, гидроокись натрия), окислителей (марганцовокислый калий, йод) и коррозивных веществ, входящих в состав препаратов бытовой химии. Также регистрировали отравления парами хлора.

Количество отравлений веществами преимущественно немедицинского назначения из групп Т55-Т65 («Прочие») в 2021 г. возросло на 33,1% по сравнению со средним показателем 2019 и 2020 гг., увеличился и их удельный вес в общей структуре ООХЭ (табл. 1). Доминирующими причинами интоксикаций служило отравление угарным газом (31,1–39,2%) и ядовитыми веществами, содержащимися в грибах (13,6–29,2%). Отравления грибами регистрировали в течение всего года, преимущественно в летне-осенний период.

В 2020–2021 гг., по сравнению в 2019 г., число госпитализаций с токсикологической травмой, связанной с ядовитыми растениями, возросло в 4 раза: с 13 случаев в 2019 г., до 50 и 53 — в последующие два года соответственно. Эти травмы носили преимущественно сезонный характер (весна–лето). В структуре отравлений ядовитыми растениями лидировали фотохимические дерматиты (ожоги) вследствие контакта с борщевиком Сосновского (*Heraclium sosnowskyi*): их удельный вес в течение трех лет колебался от 72 до 100%.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

ООХЭ — серьезная проблема общественного здравоохранения, одна из частых причин госпитализаций в

Таблица 5. Этиологическая структура острых отравлений у мужчин и женщин в ОООиСР НИИ СГ

Год	Этиологические группы	Мужчины		Женщины		Результаты статистического анализа, 95% ДИ
		Абс.	%	Абс.	%	
2019	Лекарственные средства (Т36-39, Т41-50)	604	18,6	1038	32,1	$p < 0,0001$ ($\chi^2 = 466,7$, $df = 4$)
	Наркотики (Т40)	471	14,5	112	3,5	
	Алкоголь и его суррогаты (Т51-Т53)	340	10,5	94	2,9	
	Разъедающие вещества (Т54)	166	5,1	158	4,9	
	Прочие (Т55-Т65)	140	4,3	117	3,6	
	Итого	3240 (100%)				
2020	Лекарственные средства (Т36-39, Т41-50)	553	15,8	836	24	$p < 0,0001$ ($\chi^2 = 421,9$, $df = 4$)
	Наркотики (Т40)	500	14,3	97	2,8	
	Алкоголь и его суррогаты (Т51-Т53)	641	18,4	269	7,7	
	Разъедающие вещества (Т54)	180	5,2	169	4,9	
	Прочие (Т55-Т65)	114	3,3	126	3,6	
	Итого	3485 (100%)				
2021	Лекарственные средства (Т36-39, Т41-50)	469	16,4	908	31,7	$p < 0,0001$ ($\chi^2 = 407,6$, $df = 4$)
	Наркотики (Т40)	502	17,5	135	4,7	
	Алкоголь и его суррогаты (Т51-Т53)	177	6,2	65	2,3	
	Разъедающие вещества (Т54)	131	4,5	136	4,7	
	Прочие (Т55-Т65)	194	6,8	148	5,2	
	Итого	2865 (100%)				

стационар скорой медицинской помощи [8, 9] и смертности в трудоспособном возрасте [10, 11].

Хотя за помощью в медицинские учреждения обращаются далеко не все пострадавшие от интоксикаций различной этиологии, проведение эпидемиологического анализа распространенности и структуры ОО по данным многопрофильных стационаров мегаполисов весьма информативно для определения тенденций и закономерностей в данной области медицинской токсикологии [8, 12]. Поэтому безусловный интерес представляло использование этого подхода к изучению особенностей уровня и этиологической структуры ООХЭ на фоне сложной санитарно-эпидемиологической ситуации, связанной с пандемическим распространением новой коронавирусной инфекции.

Как известно, подъемы и спады заболеваемости COVID-19, обусловленные в том числе появлением новых генетических вариантов SARS-CoV-2, а также рост и уменьшение количества госпитализаций регистрировали в г. Москве и в целом по России как в 2020 г., так и в 2021 г. [2, 13]. Однако наиболее трудным с точки зрения социально-психологической адаптации населения к сложившейся санитарно-эпидемиологической обстановке был 2020 г., в течение которого были применены наиболее жесткие ограничительные меры и уровень психоэмоциональной нагрузки на людей был наивысшим [5, 14].

Проведенные нами исследования позволили выявить отчетливые различия в динамике госпитализаций в НИИ СГ пострадавших с токсикологической травмой в течение года, предшествующего пандемии COVID-19, во время ее разгара и при стабилизации уровня напряженности эпидемиологической ситуации. Собственные данные о количестве лабораторно подтвержденных случаев новой коронавирусной инфекции среди поступивших в стационар позволили в рамках настоящего исследования объективизировать информацию о распространении инфекции среди населения в исследуемый период.

Обращает на себя внимание увеличение в 2020 г. частоты обращений в ОООиСР НИИ СГ в связи с ООХЭ по сравнению как с 2019 г., так и с 2021 г. При этом отмечали заметный рост числа госпитализаций с ОО этанолом и его суррогатами. Пик абсолютного количества обращений пришелся на первые месяцы санитарных ограничений. Резкое увеличение доли пациентов с отравлениями алкоголем, вероятно, обусловлено высоким уровнем психологического стресса [5, 15], связанного с ограничением мобильности граждан из-за пандемии COVID-19, а также, по всей видимости, распространенным мнением, что употребление крепкого алкоголя позволяет снизить риск заражения простудными заболеваниями [16].

Свой вклад в общую структуру отравлений спиртами внесли и интоксикации изопропиловым спиртом из-за употребления не по назначению спиртосодержащих жидкостей, предназначенных для санитарной обработки рук и поверхностей. Согласно литературным данным, во многих странах на фоне пандемии COVID-19 регистрировали рост обращений по поводу отравления дезинфицирующими веществами [17].

С другой стороны, нельзя не отметить, что возросшее число госпитализаций пациентов с ОО этанолом и его суррогатами могло быть связано с изменениями в организации экстренной/неотложной медицинской помощи в лечебных учреждениях Москвы в период распространения COVID-19. Так, часть медицинских организаций стационарного типа, ранее осуществлявших прием таких пациентов, была полностью или частично репрофилирована для оказания помощи пациентам с COVID-19 (в соответствии с действовавшими в анализируемый период приказами Департамента здравоохранения города Москвы от 30 января 2020 г. № 44, от 5 апреля 2020 г. № 349, от 10 апреля 2020 г. № 392, от 4 июня 2020 г. № 584), вследствие чего поток пациентов в значительной степени мог направляться в НИИ СГ.

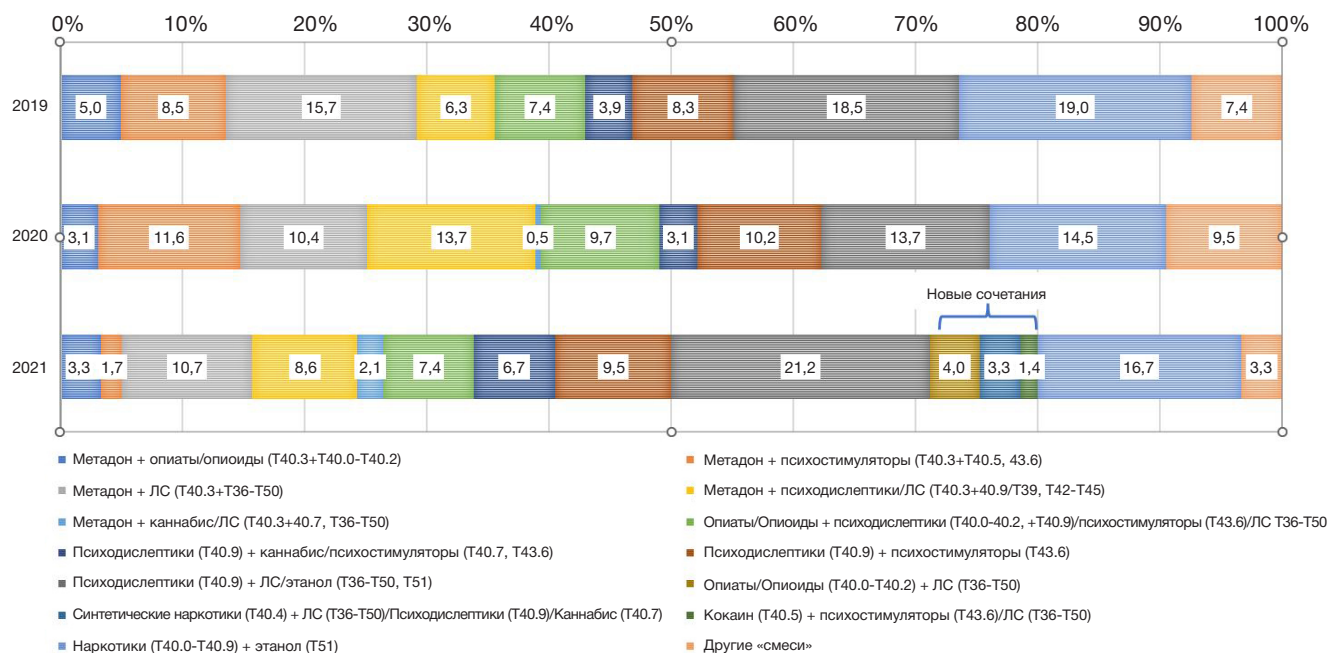


Рис. 3. Удельный вес отравлений смесями наркотиков

Однако такое перераспределение пострадавших от отравлений алкоголем и его суррогатами между стационарами столицы должно было сказаться преимущественно на абсолютном количестве поступлений в стационар. Именно такая ситуация сложилась во втором по величине мегаполисе России — Санкт-Петербурге, где отмечали снижение числа обращений с отравлениями алкоголем и его суррогатами в Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт скорой помощи имени И. И. Джанелидзе вследствие изменения условий госпитализации в медицинские учреждения города во время пандемии [18].

Вместе с тем, очевидное совпадение пиков количества госпитализаций с установленными пиками выявляемости COVID-19 как в 2020 г., так и в 2021 г. независимо от абсолютного числа госпитализированных свидетельствует о повышении уровня злоупотребления алкоголем на фоне пандемии, что подтверждается расчетом скользящих средних при интервале сглаживания, равном двум (рис. 2). Данное явление, возможно, объясняется воздействием психогенного фактора, обусловленного регулярным информированием населения о росте заболеваемости и поэтапным ужесточением ограничительных мероприятий. Дополнительным подтверждением этого предположения служит и значительное уменьшение абсолютного числа поступивших с данным видом отравлений в 2021 г. по сравнению с 2020 г., поскольку в течение второго года пандемии в г. Москве произошло смягчение ограничений, несмотря на сохранение высокого уровня заболеваемости [2, 19]. Кроме того, установленная нами зависимость согласуется с данными некоторых зарубежных исследователей, также обнаруживших рост числа отравлений алкоголем в 2020 г. [20, 21]. Увеличение доли женщин с алкогольной интоксикацией в 2020 г. также можно связать с фактором стресса, поскольку известно, что на фоне неблагоприятных условий внешней обстановки у женщин чаще развиваются различные аффективные нарушения — реактивные депрессии, генерализованные тревожные и панические расстройства [22].

Особый интерес представляло определение влияния стресса и ограничительных мероприятий, связанных с

COVID-19, на структуру ОО наркотическими веществами в столичном мегаполисе.

Как абсолютное количество отравлений наркотиками, так и их удельный вес в совокупной структуре ООХЭ оставались стабильными в течение всего анализируемого периода с небольшим увеличением к 2021 г. На протяжении двух лет пандемии как общее число госпитализированных с интоксикацией наркотическими веществами, так и волнообразное колебание количества госпитализаций в течение года не зависели от выявляемости COVID-19 (рис. 1), т. е. динамика наркопотребления во время пандемии кардинально отличалась от динамики злоупотребления алкоголем.

Рост числа отравлений наркотическими веществами, возможно, обусловлен в некоторой степени тем, что вследствие вынужденной социальной изоляции и связанного с ней стресса в наркопотребление были вовлечено большее количество людей [5], которые в дальнейшем продолжали прием наркотиков. С другой стороны, лица, употреблявшие наркотики нерегулярно до пандемии COVID-19, могли сократить или даже прекратить их прием во время пандемии, а регулярные потребители могли, напротив, увеличить употребление наркотических веществ [23]. В этом случае также наблюдали бы рост интоксикаций, требующих госпитализации. Тем не менее, очевидно, что санитарно-эпидемиологическая обстановка оказывает значительно меньшее влияние на объем наркопотребления, чем на злоупотребление спиртными напитками, представляющими собой более доступное, легально используемое средство «коррекции» психоэмоционального статуса.

Качественная структура наркопотребления на фоне пандемии претерпела значительно более существенные изменения, чем количественная. Незаконный оборот наркотиков видоизменился в пользу роста одновременного потребления нескольких наркотических средств и психотропных веществ. Подобный лабораторно определяемый профиль может быть свидетельством либо употребления «фальсифицированных» наркотиков, когда исходное вещество разбавляется другими веществами, либо приемом «альтернативного» препарата для купирования синдрома отмены [24–26].

На протяжении всего периода наблюдений мы также отмечаем стабильно высокую долю лиц с отравлениями официальными лекарственными средствами, принятыми либо изолированно, либо в сочетании с алкоголем — «аптечная наркомания» [27].

В 2020 г. произошло значительное (на 33,3%) сокращение числа отравлений опиатами природными (морфин, опиум) и полусинтетическим (героином), что могло быть обусловлено нарушением логистических цепочек поставок этих наркотиков по «Балканскому маршруту» из Афганистана и Пакистана из-за закрытия границ между странами [28]. Число же пострадавших, госпитализируемых с ОО синтетическими наркотическими веществами и их различными сочетаниями с другими наркотиками, лекарственными средствами и этанолом, в период пандемии, напротив, возросло (рис. 3).

Очевидно, что, несмотря на полный или частичный локдаун в разных странах, потребители наркотиков смогли оперативно приспособиться к возникшим затруднениям незаконного оборота. Запрещенные вещества активно приобретались с использованием информационно-телекоммуникационных средств связи через специализированные веб-сайты сети Интернет и доставлялись бесконтактным способом [29]. Повышению частоты употребления синтетических наркотических веществ и, следовательно, их быстрому распространению среди потребителей, вероятнее всего, способствует их более низкая стоимость по сравнению с традиционно употребляемыми наркотиками.

Динамика обращений с ОО другого генеза в ООИСП НИИ СП была неодинакова и также изменилась в условиях пандемии.

Представляется вполне объяснимым рост в разгар пандемии числа ОО разъедающими веществами, которые предположительно могли быть использованы с целью дополнительного обеззараживания. Участились также случаи отравления парами хлора. Этот тип ООХЭ был особенно характерным для первых месяцев пандемии и стал следствием неправильного использования дезинфицирующих средств [30].

Всплеск госпитализаций в связи с токсикологической травмой, вызванной ядовитыми растениями, тоже обусловлен очевидными причинами. Желая добиться разобщения, а также ввиду перевода на удаленную работу многие жители столицы уезжали в летний период за город, где возможность контакта с растениями значительно выше.

Превалирование среди фитотоксикозов фотохимических дерматитов в результате контакта с борщевиком — следствие продолжающегося повсеместного распространения этого инвазивного растения [31].

Показано, что стресс, вызванный распространением COVID-19, на фоне изменения привычного уклада жизни приводит к обострению хронических соматических и эндогенных психических заболеваний, что проявляется бессонницей, беспокойством, депрессией [6]. Попытка купировать эти состояния нередко служит поводом к бесконтрольному приему различных препаратов и биологически активных добавок. Начиная с 2020 г., мы отмечаем рост интоксикаций, связанных с приемом микродоз психоделиков, содержащихся в мухоморе красном (лат. *Amanita muscaria*) или мухоморе пантерном (лат. *Amanita pantherina*), так называемый микродозинг мухомора [32].

По данным НИИ СП, отравления грибами стали регистрировать круглогодично, хотя и с преобладанием традиционного летне-осеннего периода, тогда как ранее отравления грибами носили исключительно сезонный характер и были обусловлены ошибочным употреблением ядовитых грибов в пищу.

ВЫВОДЫ

Среди пациентов ООИСП НИИ скорой помощи имени Н. В. Склифосовского наблюдаются отчетливые различия в динамике обращений по поводу ООХЭ в течение первых двух лет пандемии COVID-19 в сравнении с предшествующим годом. Увеличение числа ОО, связанных с алкогольной интоксикацией, по-видимому, сопряжено с уровнем психоэмоциональной напряженности и стресса на фоне сложной санитарно-эпидемиологической ситуации. Ограничительные мероприятия, направленные на обеспечение социальной изоляции, не вызывают принципиального изменения уровня наркопотребления в столице, однако оказывают влияние на его этиологическую структуру. В условиях пандемии регистрируют увеличение количества ОО, вызванных употреблением веществ, повышающих настроение (психостимуляторы, этанол, микродозинг красного мухомора) и применением средств с обеззараживающим и потенциально обеззараживающим эффектом. Данные, получаемые из учреждений, оказывающих экстренную и неотложную медицинскую помощь, могут служить индикатором актуальных тенденций в эпидемиологии ООХЭ в мегаполисе.

Литература

1. Kutyrev VV, Popova AYU, Smolenskiy VYu, Ezhlova EB, Demina YuV, Safronov VA, et al. Epidemiological peculiarities of new coronavirus infection (COVID-2019). Communication 2: Peculiarities of epidemic process development in conjunction with performed anti-epidemic measures around the world and in the Russian Federation. *Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2020; 2: 6–12. Russian.
2. Akimkin VG, Popova AYU, Ploskireva AA, Ugleva SV, Semenenko TA, Pshenichnaya NYu, et al. COVID-19: the evolution of the pandemic in Russia. Report I: manifestations of the COVID-19 epidemic process. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2022; 99 (3): 269–86. DOI: 10.36233/0372-9311-276. Russian.
3. Vodenko KV, Samygina LV, Samygin PS, Samygin SI. Social atomization in Russia during the coronavirus pandemic: features of manifestation and prospects for overcoming. *Bulletin of the South-Russian State Technical University (NPI). Series: Socio-Economic Sciences*. 2020; 2: 100–7. DOI: 10.17213/2075-2067-2020-2-100-107. Russian.
4. Yao H, Chen J, Xu Y. Patients with mental health disorders in the COVID-19 epidemic. *Lancet Psychiatry*. 2020; 7 (4): e21. DOI: 10.1016/S2215-0366(20)30090-0.
5. Shulgina EV. Analysis of the impact of the coronavirus pandemic on drug use in the Russian Federation. *Svobodnaya mysl'*. 2020; 5: 45–50. DOI: 10.24411/0869-4435-2020-00004. Russian.
6. Reinstadler V, Ausweger V, Grabher AL, Kreidl M, Huber S, Grandner J, et al. Monitoring drug consumption in Innsbruck during coronavirus disease 2019 (COVID-19) lockdown by wastewater analysis. *Sci Total Environ*. 2021; 757: 144006. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2020.144006.

7. Godkov MA, Shustov VV, Kasholkina EA. Dynamics and gender and age features of the COVID-19 epidemic process in Moscow (results of screening survey for 1.5 years). *Laboratory Service*. 2021; 10 (4): 30–7. DOI: 10.17116/labs20211004130. Russian.
8. Maheswari E, Abraham L, Chacko CS, Saraswathy GR, Ramesh AC. Assessment of Pattern, Severity and Outcome of Poisoning in Emergency Care Unit. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 2016; 6 (12): 178–83. DOI: 10.7324/JAPS.2016.601225.
9. Aydinov GT, Marchenko BI, Sinelnikova YuA. Acute chemical poisonings as an index of the system of socio-hygienic monitoring in the Rostov region. *Hygiene and Sanitation*. 2018; 97 (3): 279–85. DOI: 10.18821/0016-9900-2018-97-3-279-285. Russian.
10. Drapkina OM, Samorodskaya IV, Semenov VYu. Top ten causes of death in Moscow and St. Petersburg in 2015 and 2018. *The Russian Journal of Preventive Medicine*. 2020; 23 (5): 18–24. DOI: 10.17116/profmed20202305118. Russian.
11. Rosstat RF. Zdravookhranenie v Rossii [cited 17 Dec 2023 g.]. Available from: https://gks.ru/bgd/regl/b21_34/Main.htm. Russian.
12. Sinenchenko AG, Lodyagin AN, Batocytrenov BV, Shikalova IA, Antonova AM. Epidemiological analysis of prevalence and structure of acute poisonings in Saint Petersburg (according to a multiprofile hospital). *Toxicological Review*. 2019; 4: 4–8. DOI: 10.36946/0869-7922-2019-4-4-8. Russian.
13. Briko NI, Korshunov VA, Krasnova SV, Protchenko DN, Glazovskaya LS, Gostishchev RV, et al. Clinical And epidemiological characteristics of hospitalized patients with COVID-19 during different pandemic periods in Moscow. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2022; 99 (3): 287–99. DOI: 10.36233/0372-9311-272. Russian.
14. Khoroshilov DA, Gromova OA. Perception of pandemic and vaccination in the period of COVID-19 “second wave” (on the basis of in-depth interviews). *National Psychological Journal*. 2021; 2: 3–11. DOI: 10.11621/npj.2021.0201. Russian.
15. Burkova VN, Butovskaya ML, Fedenok YuN, Ermakov AM, Kolodkin VA, Spodina VI, et al. Anxiety and aggression during COVID-19: on the example of four regions of Russia. *Siberian Historical Research*. 2022; 2: 132–58. DOI: 10.17223/2312461X/36/8. Russian.
16. Ouchi E, Niu K, Kobayashi Y, Guan L, Momma H, Guo H, et al. Frequent alcohol drinking is associated with lower prevalence of self-reported common cold: a retrospective study. *BMC Public Health*. 2012; 12: 987. DOI: 10.1186/1471-2458-12-987.
17. Kweon H, Choi J, Yoon S. Analysis of consumer exposure cases for alcohol-based disinfectant and hand sanitizer use against Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). *Int J Environ Res Public Health*. 2021; 19 (1): 100. DOI: 10.3390/ijerph19010100.
18. Lodyagin AN, Sinenchenko AG, Shilov VV, Batotsytrenov BV, Sinenchenko GI. S Structure of acute chemical poisoning during COVID-19 pandemic (according to a multidiscipline hospital). *Toxicological Review*. 2022; 30 (1): 4–11. DOI: 10.47470/0869-7922-2022-30-1-4-11. Russian.
19. Godkov MA, Shustov VV, Korshunov VA, Stepanov FS, Bazhenov AI. Formation of herd immunity to SARS-COV-2 in the population of Moscow. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2022; 21 (1): 81–91. DOI: 10.31631/2073-3046-2022-21-1-81-91. Russian.
20. Pollard MS, Tucker JS, Green HD Jr. Changes in adult alcohol use and consequences during the COVID-19 Pandemic in the US. *JAMA Netw Open*. 2020; 3 (9): e2022942. DOI: 10.1001/jamanetworkopen.2020.22942.
21. Calina D, Hartung T, Mardare I, Mitroi M, Poulas K, Tsatsakis A, et al. COVID-19 pandemic and alcohol consumption: Impacts and interconnections. *Toxicol Rep*. 2021; 8: 529–35. DOI: 10.1016/j.toxrep.2021.03.005.
22. Dmitrieva TB, Drozdov AZ. Polovye i gendernye aspekty stressoustoychivosti (analiticheskiy obzor). *Chast' 1*. *Russian Journal of Psychiatry*. 2010; 1: 18–24. Russian.
23. European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction. *European drug report 2021: trends and developments* [cited 2023 Aug 2]. Available from: https://www.emcdda.europa.eu/publications/edr/trends-developments/2021_en.
24. Broséus J, Gentile N, Esseiva P. The cutting of cocaine and heroin: A critical review. *Forensic Sci Int*. 2016; 262: 73–83. DOI: 10.1016/j.forsciint.2016.02.033.
25. Mellos E, Paparrigopoulos T. Substance use during the COVID-19 pandemic: What is really happening? *Psychiatriki*. 2022; 33 (1): 17–20. DOI: 10.22365/jpsych.2022.072.
26. Gosudarstvennyy antinarkoticheskiy komitet. *Doklad o rezul'tatakh monitoringa narkosituatsii v gorode Moskve v 2022 godu* [cited 2 Aug 2023 g.]. Available from: https://www.rogovskoe.ru/obwestvennaya_bezopasnost/arg/doklad_o_rezultatah_monitoringa_narkosituatsii_v_gorode_moskve_v_2022_godu/. Russian.
27. Seytakova BK. "Pharmacy" drug addiction: causes and counteraction measures. *Nauchnyy komponent*. 2020; 7 (3): 16–23. DOI: 10.51980/2686-939X_2020_3_16. Russian.
28. United Nations Office on Drugs and Crime (UNODC). *World Drug Report 2022* [cited 2023 Aug 2]. Available from: <https://www.unodc.org/unodc/en/data-and-analysis/world-drug-report-2022.html>.
29. Groshkova T, Stoian T, Cunningham A, Griffiths P, Singleton N, Sedefov R. Will the current COVID-19 Pandemic impact on long-term cannabis buying practices? *J Addict Med*. 2020; 14 (4): e13–0. DOI: 10.1097/ADM.0000000000000698.
30. Belova MV, Ilyashenko KK, Simonova AYU, Potskhveriya MM, Trusov GV. The structure of acute exotoxicosis during the first three months of the COVID-19 pandemic (according to the acute toxicosis department of NV Sklifosovsky research institute for emergency medicine). *Russian Sklifosovsky Journal of "Emergency Medical Care"*. 2021; 10 (1): 27–32. DOI: 10.23934/2223-9022-2021-10-1-27-32. Russian.
31. Simonova AYU, Belova MV, Ilyashenko KK, Pidchenko NE, Potskhveriya MM, Sachkov AV, et al. Allergic Dermatitis Due to Contact with Sosnovsky Hogweed. *Russian Sklifosovsky Journal "Emergency Medical Care"*. 2021; 9 (4): 653–8. DOI: 10.23934/2223-9022-2020-9-4-653-658. Russian.
32. Polito V, Stevenson RJ. A systematic study of microdosing psychedelics. *PLoS One*. 2019; 14 (2): e0211023. DOI: 10.1371/journal.pone.0211023 eCollection 2019.

References

1. Kutyrev VV, Popova AYU, Smolenskiy VYu, Ezhlova EB, Demina YuV, Safronov VA, et al. Epidemiological peculiarities of new coronavirus infection (COVID-2019). *Communication 2: Peculiarities of epidemic process development in conjunction with performed anti-epidemic measures around the world and in the Russian Federation. Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2020; 2: 6–12. Russian.
2. Akimkin VG, Popova AYU, Ploskireva AA, Ugleva SV, Semenenko TA, Pshenichnaya NYU, et al. COVID-19: the evolution of the pandemic in Russia. Report I: manifestations of the COVID-19 epidemic process. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2022; 99 (3): 269–86. DOI: 10.36233/0372-9311-276. Russian.
3. Vodenko KV, Samygina LV, Samygin PS, Samygin SI. Social atomization in Russia during the coronavirus pandemic: features of manifestation and prospects for overcoming. *Bulletin of the South-Russian State Technical University (NPI). Series: Socio-Economic Sciences*. 2020; 2: 100–7. DOI: 10.17213/2075-2067-2020-2-100-107. Russian.
4. Yao H, Chen J, Xu Y. Patients with mental health disorders in the COVID-19 epidemic. *Lancet Psychiatry*. 2020; 7 (4): e21. DOI: 10.1016/S2215-0366(20)30090-0.
5. Shulgina EV. Analysis of the impact of the coronavirus pandemic on drug use in the Russian Federation. *Svobodnaya mysl'*. 2020; 5: 45–50. DOI: 10.24411/0869-4435-2020-00004. Russian.
6. Reinstadler V, Ausweger V, Grabher AL, Kreidl M, Huber S, Grander J, et al. Monitoring drug consumption in Innsbruck during coronavirus disease 2019 (COVID-19) lockdown by wastewater analysis. *Sci Total Environ*. 2021; 757: 144006. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2020.144006.

7. Godkov MA, Shustov VV, Kasholkin EA. Dynamics and gender and age features of the COVID-19 epidemic process in Moscow (results of screening survey for 1.5 years). *Laboratory Service*. 2021; 10 (4): 30–7. DOI: 10.17116/labs20211004130. Russian.
8. Maheswari E, Abraham L, Chacko CS, Saraswathy GR, Ramesh AC. Assessment of Pattern, Severity and Outcome of Poisoning in Emergency Care Unit. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 2016; 6 (12): 178–83. DOI: 10.7324/JAPS.2016.601225.
9. Aydinov GT, Marchenko BI, Sinelnikova YuA. Acute chemical poisonings as an index of the system of socio-hygienic monitoring in the Rostov region. *Hygiene and Sanitation*. 2018; 97 (3): 279–85. DOI: 10.18821/0016-9900-2018-97-3-279-285. Russian.
10. Drapkina OM, Samorodskaya IV, Semenov VYu. Top ten causes of death in Moscow and St. Petersburg in 2015 and 2018. *The Russian Journal of Preventive Medicine*. 2020; 23 (5): 18–24. DOI: 10.17116/profmed20202305118. Russian.
11. Rosstat RF. *Zdravookhranenie v Rossii*. [cited 17 Dec 2023 g.]. Available from: https://gks.ru/bgd/regl/b21_34/Main.htm. Russian.
12. Sinenchenko AG, Lodyagin AN, Batocynov BV, Shikalova IA, Antonova AM. Epidemiological analysis of prevalence and structure of acute poisonings in Saint Petersburg (according to a multiprofile hospital). *Toxicological Review*. 2019; 4: 4–8. DOI: 10.36946/0869-7922-2019-4-4-8. Russian.
13. Briko NI, Korshunov VA, Krasnova SV, Protsenko DN, Glazovskaya LS, Gostishchev RV, et al. Clinical And epidemiological characteristics of hospitalized patients with COVID-19 during different pandemic periods in Moscow. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2022; 99 (3): 287–99. DOI: 10.36233/0372-9311-272. Russian.
14. Khoroshilov DA, Gromova OA. Perception of pandemic and vaccination in the period of COVID-19 “second wave” (on the basis of in-depth interviews). *National Psychological Journal*. 2021; 2: 3–11. DOI: 10.11621/npj.2021.0201. Russian.
15. Burkova VN, Butovskaya ML, Fedenok YuN, Ermakov AM, Kolodkin VA, Spodina VI, et al. Anxiety and aggression during COVID-19: on the example of four regions of Russia. *Siberian Historical Research*. 2022; 2: 132–58. DOI: 10.17223/2312461X/36/8. Russian.
16. Ouchi E, Niu K, Kobayashi Y, Guan L, Momma H, Guo H, et al. Frequent alcohol drinking is associated with lower prevalence of self-reported common cold: a retrospective study. *BMC Public Health*. 2012; 12: 987. DOI: 10.1186/1471-2458-12-987.
17. Kweon H, Choi J, Yoon S. Analysis of consumer exposure cases for alcohol-based disinfectant and hand sanitizer use against Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). *Int J Environ Res Public Health*. 2021; 19 (1): 100. DOI: 10.3390/ijerph19010100.
18. Lodyagin AN, Sinenchenko AG, Shilov VV, Batotsynov BV, Sinenchenko GI. S Structure of acute chemical poisoning during COVID-19 pandemic (according to a multidiscipline hospital). *Toxicological Review*. 2022; 30 (1): 4–11. DOI: 10.47470/0869-7922-2022-30-1-4-11. Russian.
19. Godkov MA, Shustov VV, Korshunov VA, Stepanov FS, Bazhenov AI. Formation of herd immunity to SARS-COV-2 in the population of Moscow. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2022; 21 (1): 81–91. DOI: 10.31631/2073-3046-2022-21-1-81-91. Russian.
20. Pollard MS, Tucker JS, Green HD Jr. Changes in adult alcohol use and consequences during the COVID-19 Pandemic in the US. *JAMA Netw Open*. 2020; 3 (9): e2022942. DOI: 10.1001/jamanetworkopen.2020.22942.
21. Calina D, Hartung T, Mardare I, Mitroi M, Poulas K, Tsatsakis A, et al. COVID-19 pandemic and alcohol consumption: Impacts and interconnections. *Toxicol Rep*. 2021; 8: 529–35. DOI: 10.1016/j.toxrep.2021.03.005.
22. Dmitrieva TB, Drozdov AZ. *Polovye i gendernye aspekty stressoustoychivosti (analiticheskiy obzor)*. Chast' 1. *Russian Journal of Psychiatry*. 2010; 1: 18–24. Russian.
23. European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction. *European drug report 2021: trends and developments*. [cited 2023 Aug 2]. Available from: https://www.emcdda.europa.eu/publications/edr/trends-developments/2021_en.
24. Broséus J, Gentile N, Esseiva P. The cutting of cocaine and heroin: A critical review. *Forensic Sci Int*. 2016; 262: 73–83. DOI: 10.1016/j.forsciint.2016.02.033.
25. Mellos E, Paparrigopoulos T. Substance use during the COVID-19 pandemic: What is really happening? *Psychiatriki*. 2022; 33 (1): 17–20. DOI: 10.22365/jpsych.2022.072.
26. Gosudarstvennyy antinarkoticheskiy komitet. *Doklad o rezul'tatakh monitoringa narkosituatsii v gorode Moskve v 2022 godu*. [cited 2 Aug 2023 g.]. Available from: https://www.rogovskoe.ru/obwestvennaya_bezopasnost/arg/doklad_o_rezultatah_monitoringa_narkosituatsii_v_gorode_moskve_v_2022_godu/. Russian.
27. Seytakova BK. "Pharmacy" drug addiction: causes and counteraction measures. *Nauchnyy komponent*. 2020; 7 (3): 16–23. DOI: 10.51980/2686-939X_2020_3_16. Russian.
28. United Nations Office on Drugs and Crime (UNODC). *World Drug Report 2022*. [cited 2023 Aug 2]. Available from: <https://www.unodc.org/unodc/en/data-and-analysis/world-drug-report-2022.html>.
29. Groshkova T, Stoian T, Cunningham A, Griffiths P, Singleton N, Sedefov R. Will the current COVID-19 Pandemic impact on long-term cannabis buying practices? *J Addict Med*. 2020; 14 (4): e13–0. DOI: 10.1097/ADM.0000000000000698.
30. Belova MV, Ilyashenko KK, Simonova AYu, Potskhveriya MM, Trusov GV. The structure of acute exotoxicosis during the first three months of the COVID- 19 pandemic (according to the acute toxicosis department of NV Sklifosovsky research institute for emergency medicine). *Russian Sklifosovsky Journal of "Emergency Medical Care"*. 2021; 10 (1): 27–32. DOI: 10.23934/2223-9022-2021-10-1-27-32. Russian.
31. Simonova AYu, Belova MV, Ilyashenko KK, Pidchenko NE, Potskhveriya MM, Sachkov AV, et al. Photochemical Dermatitis Due to Contact with Sosnovsky Hogweed. *Russian Sklifosovsky Journal "Emergency Medical Care"*. 2021; 9 (4): 653–8. DOI: 10.23934/2223-9022-2020-9-4-653-658. Russian.
32. Polito V, Stevenson RJ. A systematic study of microdosing psychedelics. *PLoS One*. 2019; 14 (2): e0211023. DOI: 10.1371/journal.pone.0211023 eCollection 2019.

ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ПОДПОДБОРОДОЧНОГО ЛОСКУТА ДЛЯ РЕКОНСТРУКЦИИ НИЖНЕЙ ГУБЫ

О. И. Данишчук^{1,3}, Д. Н. Назарян^{2,3}, Е. И. Карпова^{1,3}, А. А. Хачатрян^{2,3} ✉, С. С. Размадзе^{2,3}

¹ Федеральный клинический центр высоких медицинских технологий Федерального медико-биологического агентства, Москва, Россия

² Национальный медицинский исследовательский центр оториноларингологии Федерального медико-биологического агентства, Москва, Россия

³ Академия постдипломного образования Федерального научно-клинического центра специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий Федерального медико-биологического агентства, Москва, Россия

Реконструктивная хирургия головы и шеи — сложная область хирургии, требующая от хирурга владения различными реконструктивными опциями. Одним из важных аспектов устранения дефектов головы и шеи является достижение не только функциональности, но и эстетической гармонии пропорций лица. Для этого применяют различные методы, включающие использование местных, регионарных и свободных лоскутов на сосудистой ножке. Выбор реконструктивного метода зависит от размера, локализации, состава дефекта, возраста, сопутствующей патологии, предпочтений хирурга и пациента. Субментальный лоскут — это регионарный лоскут, который зарекомендовал себя как надежный кожно-фасциальный лоскут, ткани которого идентичны таковым нижней зоны лица по толщине, консистенции и цвету. Длинная сосудистая ножка обеспечивает широкую степень ротации лоскута, что позволяет применить его для устранения дефектов верхней и нижней губы, подбородочной области, языка, дна полости рта и предушной области. Ущерб донорской области минимален и косметически незаметен за счет скрытого в подбородочной области рубца. В статье представлен результат хирургического лечения 38-летней пациентки с дефектом мягких тканей нижней трети лица и губы, который был получен в результате травмы. Рана не заживала больше шести месяцев, положительная динамика отсутствовала. Было принято решение устранить дефект ротационным субментальным лоскутом. Послеоперационный период наблюдения за пациентом составил год. Нам удалось добиться полной эстетической и функциональной реабилитации пациента.

Ключевые слова: субментальный лоскут, дефект губы, регионарный лоскут, дефекты челюстно-лицевой области, реконструктивная хирургия, микрохирургия, пластическая хирургия

Вклад авторов: О. И. Данишчук, Д. Н. Назарян — выполнение хирургической операции, написание и редактирование статьи; Е. И. Карпова — выполнение хирургической операции; А. А. Хачатрян — написание статьи; С. С. Размадзе — ведение пациента, написание статьи.

Соблюдение этических стандартов: от пациента было получено добровольное информированное согласие на публикацию клинического случая.

✉ **Для корреспонденции:** Арбак Арманович Хачатрян
Волоколамское шоссе, д. 30, корп. 2, г. Москва, 123182, Россия; drarbak@yandex.ru

Статья получена: 18.08.2023 **Статья принята к печати:** 30.09.2023 **Опубликована онлайн:** 01.11.2023

DOI: 10.47183/mes.2023.044

POSSIBILITY OF USING SUBMENTAL FLAP FOR LOWER LIP RECONSTRUCTION

Danishchuk OI^{1,3}, Nazarian DN^{2,3}, Karpova EI^{1,3}, Khachatryan AA^{2,3} ✉, Razmadze SS^{2,3}

¹ Federal Clinical Center for High Medical Technologies of the Federal Medical Biological Agency, Moscow, Russia

² National Medical Research Center for Otorlaryngology of the Federal Medical Biological Agency, Moscow, Russia

³ Academy of Postgraduate Education, Federal Scientific and Clinical Centre for Specialized Types of Medical Care and Medical Technologies of the Federal Medical Biological Agency, Moscow, Russia

Head and neck reconstruction surgery is a challenging area of surgery that requires the surgeon to be familiar with various reconstructive options. Achieving both functionality and aesthetic harmony of facial proportions constitutes one of the most important aspects of the head and neck defect elimination. For that various methods are used involving application of local, regional and free flaps on vascular pedicles. The reconstructive method is selected based on the defect size, location, composition, as well as on the age, comorbidity, surgeon's and patient's preferences. Submental flap is a regional flap that has proven to be a reliable fasciocutaneous flap, the tissues of which are identical to that of the lower face in width, texture, and color. Long vascular pedicle ensures wide flap rotation arc, thereby allowing one to use the flap for elimination of defects of the upper and lower lips, mental region, tongue, floor of the mouth, and preauricular area. Damage to the donor site is minimal, it is cosmetically invisible due to the scar hidden in the mental region. The paper presents the results of surgical treatment of the 38-year-old female patient with the soft tissue defect of the lower third of the face and the lip resulting from trauma. The wound did not heal for more than six months, no improvement was observed. It was decided to eliminate the defect using a rotation submental flap. The patient was followed up for a year after surgery. We managed to achieve complete aesthetic and functional rehabilitation of the patient.

Keywords: submental flap, lip defect, regional flap, maxillofacial defects, reconstructive surgery, microsurgery, plastic surgery

Author contribution: Danishchuk OI, Nazarian DN — surgical procedure, manuscript writing and editing; Karpova EI — surgical procedure; Khachatryan AA — manuscript writing; Razmadze SS — patient management, manuscript writing.

Compliance with ethical standards: the informed consent to case study publication was submitted by the patient.

✉ **Correspondence should be addressed:** Arbak A. Khachatryan
Volokolamskoe shosse, 30, bld. 2, Moscow, 123182, Russia; drarbak@yandex.ru

Received: 18.08.2023 **Accepted:** 30.09.2023 **Published online:** 01.11.2023

DOI: 10.47183/mes.2023.044



Рис. 1. Антропотомерия в день обращения

Дефекты челюстно-лицевой области (ЧЛО) значительно влияют на здоровье и качество жизни пациентов. Основными причинами образования дефектов этой области являются травмы разной этиологии, резекция тканей после проведения операций по удалению образований разного генеза, минно-взрывные ранения, врожденные аномалии и ятрогенные повреждения.

Высокая эстетическая значимость зоны лица, анатомические особенности ЧЛО в виде компактного расположения жизненно важных структур, а также функциональная значимость этой зоны обуславливают сложность проведения операций с выбором индивидуального плана в каждом конкретном случае.

Современный выбор хирургического лечения пациентов с дефектами лица подразумевает мультидисциплинарный комплексный подход с участием челюстно-лицевых и пластических хирургов, что позволяет обеспечить оптимальную морфофункциональную и эстетическую реабилитацию пациентов.

Нами представлен клинический случай комплексного многоэтапного хирургического лечения пациентки с дефектом мягких тканей нижней трети лица (подбородка и нижней губы) с использованием микрохирургического субментального лоскута и последующей коррекции местными тканями.

Выбор субментального лоскута, который был предложен D. Martin в 1993 г., обусловлен его популярностью среди онкологов и челюстно-лицевых хирургов, широко оперирующих в области головы и шеи, для устранения дефектов шеи, пищевода, языка, дна полости рта, верхней и нижней губы [1–3].

Лоскут получает свое питание от субментальной артерии, в честь которой и был назван. Субментальная артерия является ветвью лицевой артерии и предоставляет собой надежный и постоянный источник кровоснабжения. Средний диаметр артерии составляет 1,7 мм. На пути своего следования артерия отдает 1–4 перфоранта к кожной площадке лоскута, что позволяет забрать лоскут с кожной площадкой размером 18 см (длина) на 7 см (ширина). Венозный отток осуществляется по одноименной вене, которая впадает в лицевую вену. Средний диаметр вены составляет 2,2 мм. Длина сосудистой ножки может составлять 8 см, что обеспечивает ротацию лоскута вплоть до скуловой дуги, тем самым перекрывая большинство возможных зон в нижней и средней трети лица [4–5].

К преимуществам лоскута можно отнести надежный источник кровоснабжения, незаметный шрам, скрытый

в области шеи, большую кожную площадку и длинную сосудистую ножку, обеспечивающую широкую степень ротации лоскута [6].

Метаанализ, в котором сравнивали применение субментального лоскута и свободных лоскутов для устранения дефектов ротовой полости, показал, что использование ротационного субментального лоскута было связано с уменьшением времени оперативного вмешательства, уменьшением времен госпитализации и меньшим количеством послеоперационных осложнений [7].

Представлено множество клинических наблюдений, в которых субментальный ротационный лоскут использовали для устранения различных дефектов ЧЛО. В частности, такой лоскут применили для устранения дефекта верхней губы с очень хорошим эстетическим результатом [8]. Лоскут был использован для устранения дефекта нижней губы с сохранением герметичности ротовой полости [9]. Продемонстрировано клиническое наблюдение, в котором двумя субментальными лоскутами был устранен тотальный дефект нижней губы после резекции злокачественного новообразования (ЗНО) [10].

Таким образом, субментальный лоскут является идеальным лоскутом для устранения дефектов лица ввиду идентичной с кожей лица консистенции и совпадения цвета. Он может служить отличной альтернативой свободным лоскутам при применении в реконструктивной хирургии головы и шеи [11, 12].

Описание клинического случая

Пациентка С., 38 лет, обратилась в отделение челюстно-лицевой хирургии НМИЦО ФМБА России с дефектом нижней губы, полученным в результате травмы, незаживающими ранами подбородочной области (рис. 1). Гистологическое исследование тканевой раны, выполненное в условиях Центра, подтвердило некроз тканей и хронический воспалительный процесс.

Первый этап хирургического лечения заключался в иссечении некротизированных тканей подбородочной области и нижней губы. Для закрытия образовавшегося дефекта размером 7 × 3 см выкроен субментальный кожно-фасциальный лоскут размерами 8,5 × 2 см на правой субментальной артерии и вене (рис. 2), с его последующей ротацией через кожный тоннель и фиксацией в подбородочной области. Для идентификации кожных перфорантов использован мини-доплер Минидоп-8 (Биосс; Россия) (рис. 3). Донорская область

была послойно ушита с формированием линейного шва, который находился в подбородочной области и был мало заметен.

На первые сутки имел место венозный стаз в сформированном лоскуте. С целью улучшения кровотока и снижения венозного стаза проведена гирудотерапия в течение пяти дней (рис. 4). Отмечен положительный эффект, пациентка выписана на седьмые сутки в удовлетворительном состоянии (рис. 5).

Через семь месяцев после закрытия дефекта подбородка наблюдалась остаточная деформация в виде рубцового укорочения нижней губы и дефекта красной каймы слева. Второй этап коррекции предполагал восстановление длины/высоты нижней губы слева с устранением дефекта красной каймы местными тканями. Для устранения дефицита слизистой нижней губы по переходной складке разрезом типа «кочерги» был выкроен ротационный лоскут, который был перемещен в образовавшийся дефект после рассечения рубцов на слизистой. В области кожной части губы и подбородка слева после иссечения рубцовых тканей были выкроены множественные обменные треугольные лоскуты (Z-пластика), которые позволили удлинить нижнюю губу слева. Для устранения дефекта красной каймы был выбран метод Миро, заключающийся в выкраивании треугольного (языкообразного) лоскута на красной кайме латерального фрагмента губы и ложа для него на медиальном фрагменте нижней губы. Для восстановления функции нижней губы были выделены оставшиеся фрагменты круговой мышцы рта, которые были сшиты в виде пликация (наложение одного фрагмента на другой). Далее были наложены послойные швы. Послеоперационный период протекал без особенностей. Швы были сняты на 10 суток. Заживление ран происходило первичным натяжением, без признаков воспаления (рис. 6, 7).

Период наблюдения за пациенткой после операции составил год, был получен хороший эстетический и функциональный результат с минимальной деформацией донорской области. Пациентка смогла полностью смыкать губы, без труда принимать жидкости и пищу любой консистенции (рис. 8–10).

Обсуждение клинического случая

Описаны различные методики реконструкции хирургических дефектов нижней трети лица. В зависимости от размера и типа дефекта реконструктивные возможности варьируют от первичного закрытия до использования свободных лоскутов [9].

Однако для достижения оптимального результата донорский и реципиентный участки должны иметь одинаковые характеристики с точки зрения качества кожи, толщины, соответствия цвета и текстуры. Таким образом, выбор локально-регионарного лоскута рядом с дефектом мягких тканей лица является идеальным вариантом [8, 13].

Закрытие дефектов подбородочной и щечной областей с использованием свободных лоскутов с применением микрохирургической техники не позволяет получить идентичные цвет и текстуру кожи у пациентов европеоидной расы при применении лоскутов из торагорсальной, лучевой, бедренной или плечевой зон.

Для устранения остаточных деформаций после закрытия дефектов необходимо дополнительно проводить корректирующие операции местными тканями, чтобы улучшить внешний вид пациента.



Рис. 2. Вид сформированного дефекта и выделенного субментального лоскута на сосудистой ножке (показано звездочкой)



Рис. 3. Вид раны после фиксации лоскута в области дефекта и ушивания донорского ложа



Рис. 4. Вид лоскута на третьи сутки; выполняется гирудотерапия



Рис. 5. Антропфотометрия: вид раны на седьмые сутки

Достижения в микрохирургии позволили лучше понять анатомические особенности кожно-фасциальных перфорантных лоскутов, что позволило реконструктивным хирургам получить новые реконструктивные возможности при устранении сложных дефектов ЧЛО [14].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Регионарные лоскуты служат хорошей альтернативой свободным лоскутам на сосудистой ножке за счет уменьшения продолжительности операции, меньших требований к соматическому статусу пациента, навыкам хирурга и оснащению операционной [7]. Это позволяет

применять этот вид лоскутов в военно-полевой хирургии для немедленного устранения минно-взрывных и огнестрельных дефектов нижней трети лица.

Длинная сосудистая ножка обеспечивает широкую степень ротации лоскута и возможность его применения для устранения практически любого дефекта мягких тканей нижней трети лица, а идентичные щечной и подбородочной области характеристики кожи — добиться хорошего эстетического результата.

Представленный клинический случай является примером комплексного подхода к хирургическому лечению пациентов с дефектами ЧЛО с применением ротационного субментального лоскута.



Рис. 6. Антропфотометрия через четыре месяца после операции



Рис. 7. Второй хирургический этап: пластическая коррекция нижней губы и мягких тканей подбородочной области через семь месяцев после основного этапа



Рис. 8. Антропометрия через 11 месяцев после операции

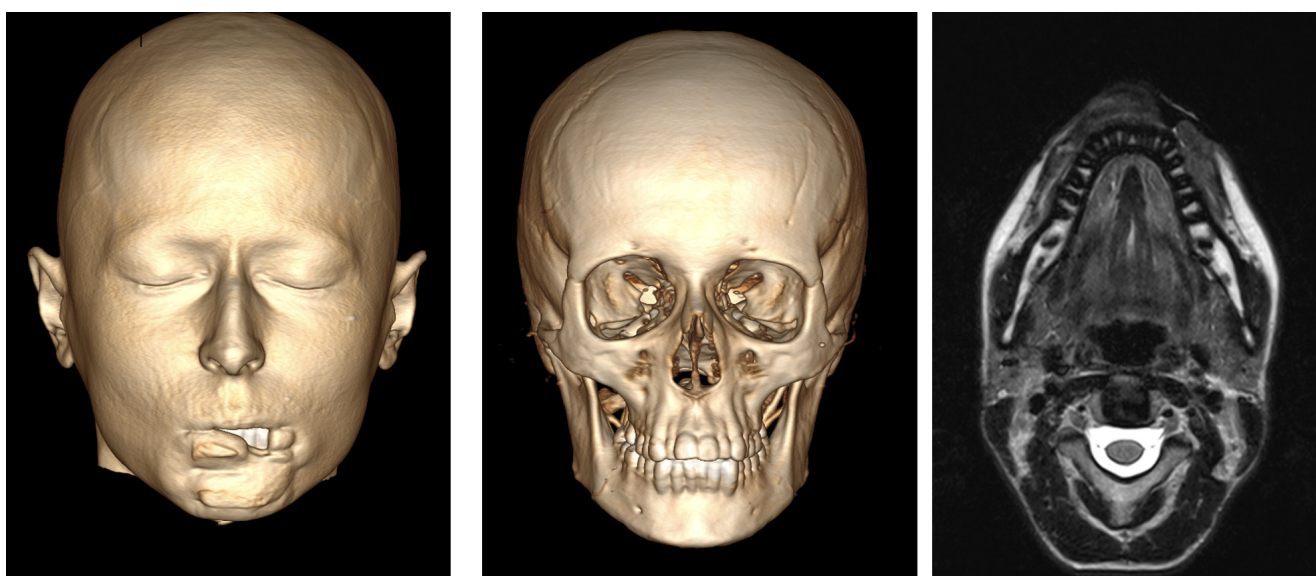


Рис. 9. МСКТ с контрастным усилением и МРТ ЧЛО до операции: в области дефекта инородные объекты не визуализируются

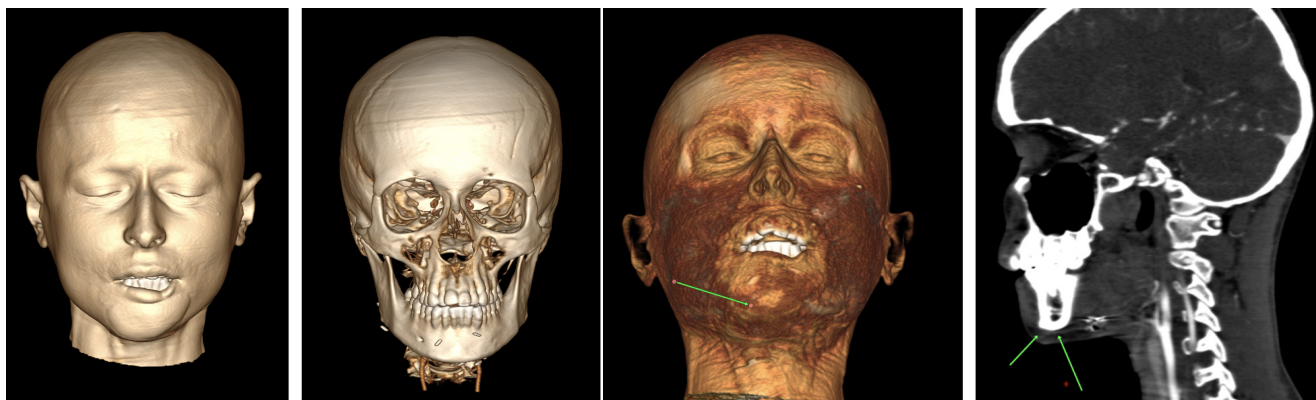


Рис. 10. МСКТ с контрастным усилением после операции: стрелкой обозначена субментальная артерия

Литература

1. Martin D, Pascal JF, Baudet J, Mondie JM, Farhat JB, Athoum A, et al. The submental island flap: a new donor site. Anatomy and clinical applications as a free or pedicled flap. *Plast Reconstr Surg.* 1993; 92 (5): 867–73.
2. Саприна О. А., Азизян Р. И., Бржезовский В. Ж., Мудунов А. М., Романов И. С., Аллахвердиева Г.Ф. и др. Использование субментального лоскута в реконструкции дефектов головы и шеи. *Сибирский онкологический журнал.* 2018; 17 (3): 51–7.

- DOI: 10.21294/1814-4861-2018-17-3-51-57.
- Bertrand B, Foletti JM, Noël W, Duron JB, Bardot J. Le lambeau sous-mental: revue de la littérature. *Ann Chir Plast Esthet.* 2015; 60 (1): 44–53. French. DOI: 10.1016/j.anplas.2014.07.011. Epub 2014 Sep 8. PMID: 25213485.
 - Magden O, Edizer M, Tayfur V, Atabay A. Anatomic study of the vasculature of the submental artery flap. *Plast Reconstr Surg.* 2004;114 (7): 1719–23. DOI: 10.1097/01.prs.0000142479.52061.7d. PubMed PMID: 15577340.
 - Vural E, Suen JY. The submental island flap in head and neck reconstruction. *Head Neck.* 2000; 22 (6): 572–8. DOI: 10.1002/1097-0347(200009)22:6<572::aid-hed5>3.0.co;2-k. PubMed PMID: 10941158.
 - Rahpeyma A, Khajehahmadi S. Submental artery island flap in intraoral reconstruction: a review. *J Craniomaxillofac Surg.* 2014; 42 (6): 983–9. DOI: 10.1016/j.jcms.2014.01.020. PubMed PMID: 24581636.
 - Hu S, Fan C, Pecchia B, Rosenberg JD. Submental island flap vs free tissue transfer in oral cavity reconstruction: Systematic review and meta-analysis. *Head Neck.* 2020; 42 (8): 2155–64. DOI: 10.1002/hed.26121. PubMed PMID: 32092220.
 - Habibi K, Ganry L, Luca-Pozner V, Atlan M, Qassemayr Q. Thin submental artery perforator flap for upper lip reconstruction: A case report. *Microsurgery.* 2021; 41 (4): 366–9. DOI: 10.1002/micr.30703. PubMed PMID: 33398906.
 - Hakeem AH, Hakeem IH, Wani FJ. Single-stage reconstruction of large defect of oral commissure and lips by submental artery island flap. *Natl J Maxillofac Surg.* 2018; 9 (2): 222–4. DOI: 10.4103/njms.NJMS_61_16. PubMed PMID: 30546239.
 - Nguyen HX, Nguyen HV, Nguyen HX, Le QV. Lower lip squamous cell carcinoma: A Vietnamese case report of surgical treatment with reconstruction by local flap. *Int J Surg Case Rep.* 2018; (53): 471–4. DOI: 10.1016/j.ijscr.2018.11.025. PubMed PMID: 30567072.
 - Shires CB, Sebelik M. The submental flap: Be wary. *Clin Case Rep.* 2022; 10 (1): e05260. DOI: 10.1002/ccr3.5260. PubMed PMID: 35028149.
 - Uppin SB, Ahmad QG, Yadav P, Shetty K. Use of the submental island flap in orofacial reconstruction — a review of 20 cases. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2009; 62 (4): 514–9. DOI: 10.1016/j.bjps.2007.11.023. PubMed PMID: 18248861.
 - Meaike JD, Dickey RM, Killion E, Bartlett EL, Brown RH. Facial Skin Cancer Reconstruction. *Semin Plast Surg.* 2016; 30 (3): 108–21. DOI: 10.1055/s-0036-1584821. PubMed PMID: 27478419.
 - Kannan RY. Supraplatysmal submental artery perforator flap: minimizing risk to the marginal mandibular nerve. *Ann Plast Surg.* 2014; 72 (1): 131. DOI: 10.1097/SAP.0b013e3182730187. PubMed PMID: 23528636.

References

- Martin D, Pascal JF, Baudet J, Mondie JM, Farhat JB, Athoum A, et al. The submental island flap: a new donor site. Anatomy and clinical applications as a free or pedicled flap. *Plast Reconstr Surg.* 1993; 92 (5): 867–73.
- Saprina OA, Azizjan RI, Bizhezovskii VZh, Mudunov AM, Romanov IS, Allahverdieva GF, et al. Ispol'zovanie submental'nogo loskuta v rekonstrukcii defektov golovy i shei. *Sibirskii onkologicheskii zhurnal.* 2018; 17 (3): 51–7. Russian. DOI: 10.21294/1814-4861-2018-17-3-51-57.
- Bertrand B, Foletti JM, Noël W, Duron JB, Bardot J. Le lambeau sous-mental: revue de la littérature. *Ann Chir Plast Esthet.* 2015; 60 (1): 44–53. French. DOI: 10.1016/j.anplas.2014.07.011. Epub 2014 Sep 8. PMID: 25213485.
- Magden O, Edizer M, Tayfur V, Atabay A. Anatomic study of the vasculature of the submental artery flap. *Plast Reconstr Surg.* 2004;114 (7): 1719–23. DOI: 10.1097/01.prs.0000142479.52061.7d. PubMed PMID: 15577340.
- Vural E, Suen JY. The submental island flap in head and neck reconstruction. *Head Neck.* 2000; 22 (6): 572–8. DOI: 10.1002/1097-0347(200009)22:6<572::aid-hed5>3.0.co;2-k. PubMed PMID: 10941158.
- Rahpeyma A, Khajehahmadi S. Submental artery island flap in intraoral reconstruction: a review. *J Craniomaxillofac Surg.* 2014; 42 (6): 983–9. DOI: 10.1016/j.jcms.2014.01.020. PubMed PMID: 24581636.
- Hu S, Fan C, Pecchia B, Rosenberg JD. Submental island flap vs free tissue transfer in oral cavity reconstruction: Systematic review and meta-analysis. *Head Neck.* 2020; 42 (8): 2155–64. DOI: 10.1002/hed.26121. PubMed PMID: 32092220.
- Habibi K, Ganry L, Luca-Pozner V, Atlan M, Qassemayr Q. Thin submental artery perforator flap for upper lip reconstruction: A case report. *Microsurgery.* 2021; 41 (4): 366–9. DOI: 10.1002/micr.30703. PubMed PMID: 33398906.
- Hakeem AH, Hakeem IH, Wani FJ. Single-stage reconstruction of large defect of oral commissure and lips by submental artery island flap. *Natl J Maxillofac Surg.* 2018; 9 (2): 222–4. DOI: 10.4103/njms.NJMS_61_16. PubMed PMID: 30546239.
- Nguyen HX, Nguyen HV, Nguyen HX, Le QV. Lower lip squamous cell carcinoma: A Vietnamese case report of surgical treatment with reconstruction by local flap. *Int J Surg Case Rep.* 2018; (53): 471–4. DOI: 10.1016/j.ijscr.2018.11.025. PubMed PMID: 30567072.
- Shires CB, Sebelik M. The submental flap: Be wary. *Clin Case Rep.* 2022; 10 (1): e05260. DOI: 10.1002/ccr3.5260. PubMed PMID: 35028149.
- Uppin SB, Ahmad QG, Yadav P, Shetty K. Use of the submental island flap in orofacial reconstruction — a review of 20 cases. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2009; 62 (4): 514–9. DOI: 10.1016/j.bjps.2007.11.023. PubMed PMID: 18248861.
- Meaike JD, Dickey RM, Killion E, Bartlett EL, Brown RH. Facial Skin Cancer Reconstruction. *Semin Plast Surg.* 2016; 30 (3): 108–21. DOI: 10.1055/s-0036-1584821. PubMed PMID: 27478419.
- Kannan RY. Supraplatysmal submental artery perforator flap: minimizing risk to the marginal mandibular nerve. *Ann Plast Surg.* 2014; 72 (1): 131. DOI: 10.1097/SAP.0b013e3182730187. PubMed PMID: 23528636.