

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«КРЫМСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ В. И. ВЕРНАДСКОГО»
ИНСТИТУТ «МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ ИМЕНИ С. И. ГЕОРГИЕВСКОГО»

КРЫМСКИЙ ЖУРНАЛ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ И КЛИНИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ

CRIMEAN JOURNAL OF EXPERIMENTAL AND CLINICAL MEDICINE

2022, том 12, № 3

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

А. В. Кубышкин (главный редактор)
И. И. Фомочкина (заместитель главного редактора)
М. А. Плотникова (ответственный секретарь)
В. А. Белоглазов, К. А. Ефетов, А. М. Кацев

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

Л. Дубаске (Вашингтон, США), *Е. В. Евстафьева* (Симферополь, Россия),
В. П. Завьялов (Турку, Финляндия), *И. Л. Кляритская* (Симферополь, Россия),
Я. Коки (Люблин, Польша), *Ю. Л. Криворутченко* (Симферополь, Россия),
А. В. Матвеев (Симферополь, Россия), *О. Матсуо* (Осакасама, Япония),
В. Ю. Михайличенко (Симферополь, Россия), *С. Н. Орлов* (Монреаль, Канада),
А. В. Петров (Симферополь, Россия), *А. Петросян* (Оаха, США),
М. Покорский (Ополе, Польша), *О. А. Притуло* (Симферополь, Россия),
А. Г. Резников (Киев, Украина), *И. Д. Сапегин* (Симферополь, Россия),
Г. М. Тарман (Инсбрук, Австрия), *Т. Трояновский* (Люблин, Польша),
С. Э. Шибанов (Симферополь, Россия), *Я. М. Шуба* (Киев, Украина),
А. Б. Хайтович (Симферополь, Россия)

На первой странице обложки репродукция картины Роберта Тома «Средневековые больницы»
(старейшая больница La Grand 'Chambre des Povres во Франции, основанная в 1443 году).

АДРЕС РЕДАКЦИИ:

295051, бульвар Ленина, 5/7, г. Симферополь, ФГАОУ ВО «КФУ имени В. И. Вернадского»
Институт «Медицинская академия имени С. И. Георгиевского»
E-mail: cjест_ma@mail.ru

Журнал является правопреемником Трудов КГМУ, издающихся с 1935 г.
Журнал зарегистрирован Федеральной службой по надзору в сфере связи,
информационных технологий и массовых коммуникаций
Российской Федерации. Свидетельство ПИ № ФС77-61787
от 18 мая 2015 г.

Индекс издания ISSN: 2224-6444 (печатная версия), 2244-6452 (online)

С 07 декабря 2015 года журнал включен в «Перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук».

В соответствии с распоряжением Минобрнауки России от 01.02.2022 г. №33-р о перечне рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученых степеней доктора наук (далее - Перечень) и вступлением в силу новой редакции номенклатуры научных специальностей, по которым присуждаются ученые степени, утвержденной приказом Минобрнауки России от 24.02.2021 №118, с изменениями, внесенными приказом Минобрнауки России от 27.09.2021 №886, журнал считается включенным в Перечень по следующим научным специальностям и соответствующим им отраслям наук:

- 1.5.2. Биофизика (медицинские науки),
- 1.5.3. Молекулярная биология (биологические науки),
- 1.5.4. Биохимия (медицинские науки),
- 1.5.5. Физиология человека и животных (медицинские науки),
- 1.5.8. Математическая биология, биоинформатика (медицинские науки),
- 1.5.22. Клеточная биология (медицинские науки);
- 1.5.23. Биология развития, эмбриология (медицинские науки);
- 1.5.24. Нейробиология (медицинские науки);
- 3.1.33. Восстановительная медицина, спортивная медицина, лечебная физкультура, курортология и физиотерапия (медицинские науки);
- 3.3.1. Анатомия человека (медицинские науки);
- 3.3.2. Патологическая анатомия (медицинские науки);
- 3.3.3. Патологическая физиология (медицинские науки);
- 3.3.5. Судебная медицина (медицинские науки);
- 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология (медицинские науки);
- 3.3.7. Авиационная, космическая и морская медицина (медицинские науки);
- 3.3.8. Клиническая лабораторная диагностика (медицинские науки)

В соответствии с вышеуказанным Приказом действие прежней Номенклатуры научных специальностей пролонгировано на период действия диссертационных советов для завершения защит подготовленных диссертационных исследований до 16 октября 2022 г.

- 03.01.07 – Молекулярная генетика (биологические науки) (действует до 16.10.2022 г.);
- 03.01.08 – Биоинженерия (биологические науки) (действует до 16.10.2022 г.);
- 03.03.02 – Антропология (медицинские науки) (действует до 16.10.2022 г.);
- 03.03.03 – Иммунология (медицинские науки) (действует до 16.10.2022 г.);
- 14.03.07 – Химиотерапия и антибиотики (медицинские науки) (действует до 16.10.2022 г.);
- 14.03.09 – Клиническая иммунология, аллергология (медицинские науки) (действует до 16.10.2022 г.);

Подписной индекс издания в каталоге Агентства «Роспечать» — 80124

Рекомендован к печати Ученым советом
Института «Медицинская академия имени С. И. Георгиевского»
(протокол № 8 от 13 июля 2022)

УЧРЕДИТЕЛЬ

ФГАОУ ВО «КРЫМСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ В. И. ВЕРНАДСКОГО»

Журнал основан в 2010 году. Издается 4 раза в год.

© Институт «Медицинская академия имени С. И. Георгиевского» ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», 2022

СОДЕРЖАНИЕ

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

ORIGINAL ARTICLES

Акименко М. А., Колмакова Т. С., Воронова О. В., Макалиш Т. П. ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ АДАПТАЦИИ И ПОВРЕЖДЕНИЯ НЕФРОНА ОБСТРУКТИВНОЙ И КОНТРАЛАТЕРАЛЬНОЙ ПОЧЕК ПРИ ОДНОСТОРОННЕЙ ОБСТРУКЦИИ МОЧЕТОЧНИКА.....	5
Akimenko M. A., Kolmakova T. S., Voronova O. V., Makalish T. P. PATHOGENETIC MECHANISMS OF ADAPTATION AND DAMAGE OF THE NEPHRON IN THE OBSTRUCTIVE AND CONTRALATERAL KIDNEY IN UNILATERAL URETER OBSTRUCTION.....	5
Демяшкин Г. А., Шаповалова Е. Ю., Григорян М. С., Зорин И. А. МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ГИППОКАМА ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ЭПИЛЕПТИЧЕСКОГО ПРИПАДКА	13
Demyashkin G. A., Shapovalova E. Y., Grigoryan M. S., Zorin I. A. MORPHOLOGICAL FEATURES OF MODELING EPILEPSY IN EXPERIMENTAL ANIMALS	13
Демяшкин Г. А., Болдырев Д. В., Ночной М. С., Вадюхин М. А., Щекин В. И. МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СПЕРМАТОГЕНЕЗА У ПАЦИЕНТОВ С COVID-19.....	20
Demyashkin G. A., Boldyrev D. V., Nochnoi M. S., Vadyukhin M. A., Shchekin V. I. MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS OF SPERMATOGENESIS IN PATIENTS WITH COVID-19	20
Игнатенко Г. А., Резниченко Н. А., Геворкян Р. Р., Румянцева З. С., Майлян Э. А., Ткаченко К. Е. УРОВНИ ВИТАМИНА D У ЖЕНЩИН ПОСТМЕНОПАУЗАЛЬНОГО ВОЗРАСТА СО СТРЕССОВОЙ ФОРМОЙ НЕДЕРЖАНИЯ МОЧИ.....	28
Ignatenko G. A., Reznichenko N. A., Gevorkyan R. R., Rumyantseva Z. S., Maylyan E. A., Tkachenko K. E. VITAMIN D LEVELS IN POST-MENOPAUSAL WOMEN WITH STRESS URINARY INCONTINENCE	28
Кузьминов В. И., Шаповалова Е. Ю., Миронов В. А., Барановский Ю. Г., Бойко Т. А., Барановский А. Г. СОДЕРЖАНИЕ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК В СТРУКТУРАХ БИОПТАТОВ РЕГЕНЕРИРУЮЩЕЙ ИШЕМИЗИРОВАННОЙ РАНЫ КОЖИ С ТРАНСПЛАНТИРОВАННЫМИ ГЕТЕРОФИБРОБЛАСТАМИ И ФИЛЛЕРОМ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНОЙ ГИАЛУРОНОВОЙ КИСЛОТОЙ ПОД ВЛИЯНИЕМ ВЫДЕЛЯЕМОГО ИХ КЛЕТКАМИ ХЕМОАТТРАКТАНТА SDF-1	35
Kuzminov D. N., Shapovalova Ye. Yu., Mironov V. A., Baranovsky Y. G., Boyko T. A., Baranovsky A. G. CONTENT OF STEM CELLS IN THE STRUCTURES OF BIOPDATES OF A REGENERATING ISCHEMISE SKIN WOUND WITH TRANSPLANTED HETEROFIBROBLASTS AND A LOW MOLECULAR HYALURONIC ACID FILLER UNDER THE INFLUENCE OF THE SDF-1 CHEMOATTRACTANT RELEASED BY THEIR CELLS	35
Мизин В. И., Ежов В. В., Яновский Т. С., Недопекина О. А., Игнатова Т. Б. СРАВНИТЕЛЬНАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ ЭЛЕКТРОСНА В СОЧЕТАНИИ С ДАЛАРГИНОМ В МЕДИЦИНСКОЙ РЕАБИЛИТАЦИИ ПАЦИЕНТОВ С ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА	41

Mizin V. I., Ezhov V. V., Yanovsky T. S., Nedopekina O. A., Ignatova T. B. COMPARATIVE EFFICACY OF THE USE OF ELECTROSLEEP IN COMBINATION WITH DALARGIN IN THE MEDICAL REHABILITATION OF PATIENTS WITH CORONARY HEART DISEASE	41
Попов К. А., Столярова А. Н., Ермакова Г. А., Есауленко Е. Е., Быков И. М., Тутаришева С. М., Устинова Е. С., Владимиров А. С. ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЕ ПРЕКОНДИЦИОНИРОВАНИЕ ИШЕМИЧЕСКИ-РЕПЕРFUЗИОННОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ ПЕЧЕНИ КРЫС СРЕДСТВАМИ ЭНЕРГОТРОПНОЙ НАПРАВЛЕННОСТИ ДЕЙСТВИЯ.....	50
Popov K. A., Stolyarova A. N., Ermakova G. A., Esaulenko E. E., Bykov I. M., Tutarisheva S. M., Ustinova E. S., Vladimirov A. S. PHARMACOLOGICAL PRECONDITIONING OF ISCHEMIC-REPERFUSION DAMAGE TO THE LIVER OF RATS BY PHARMACEUTICAL MEANS OF ENERGETROPIC ACTION	50
Рогова Л. Н., Филоненко О. С., Шестернина Н. В., Поветкина В. Н., Липов Д. С. ОСОБЕННОСТИ МАГНИЕВОГО БАЛАНСА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ДЕСТРУКТИВНО-ВОСПАЛИТЕЛЬНОМ ПРОЦЕССЕ В СИСТЕМЕ МОЧЕОБРАЗОВАНИЯ И МОЧЕВЫВЕДЕНИЯ И НА ФОНЕ ПРИМЕНЕНИЯ МАГНИЙСОДЕРЖАЩЕЙ КОМПОЗИЦИИ	57
Rogova L. N., Filonenko O. S., Shesternina N. V., Povetkina V. N., Lipov D. S. THE PECULIARITIES OF MAGNESIUM BALANCE IN EXPERIMENTAL DESTRUCTIVE-AND-INFLAMMATORY PROCESS IN URINE PRODUCTION AND EXCRETION SYSTEM AGAINST THE BACKGROUND OF MAGNESIUM-CONTENTING COMPOSITION APPLICATION	57
Штыгашева О. В., Агеева Е. С., Пузакова З. Ю., Пронькина К. В. КЛИНИЧЕСКАЯ И ЛАБОРАТОРНО-РЕНТГЕНОЛОГИЧЕСКАЯ МАНИФЕСТАЦИЯ COVID-19 СРЕДИ ПАЦИЕНТОВ РЕСПУБЛИКИ ХАКАСИЯ В 2020 ГОДУ.....	63
Shtygasheva O. V., Ageeva E. S., Puzakova Z. Yu., Pronykina Ks. V. CLINICAL AND LABORATORY-X-RAY MANIFESTATION OF COVID-19 AMONG PATIENTS OF THE HOSPITAL CONTINGENT OF THE REPUBLIC OF KHAKASIA IN 2020	63
Юрченко К. А., Оберемок В. В., Новиков И. А., Фомочкина И. И., Кубышкин А. В., Реган О. В. НАРУШЕНИЕ ПРОЛИФЕРАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ КЛЕТОК МЕЛАНОМЫ IN VITRO И IN VIVO ПОСЛЕ ТАРГЕТНОЙ ТЕРАПИИ ТИОФОСФАТНЫМ АНТИСМЫСЛОВЫМ ОЛИГОНУКЛЕОТИДОМ HUSH-11	72
Yurchenko K. A., Oberemok V. V., Novikov I. A., Fomochkina I. I., Kubyshkin A. V., Regan O. V. DISTURBANCE IN THE PROLIFERATIVE ACTIVITY OF MELANOMA CELLS IN VITRO AND IN VIVO AFTER TARGETING THERAPY WITH THE HUSH-11 PHOSPHOROTIOATE ANTISENSE OLIGONUCLEOTIDE	72
ОБЗОРЫ	
REVIEWS	
Мельникова В. М., Белякова А. Г., Иванцова Н. Л. РЕЦИДИВ COVID-19 ПОСЛЕ ЗАВЕРШЕНИЯ КУРСА ТЕРАПИИ НИРМАТРЕЛВИР/РИТОНАВИРОМ	78
Melnikova V. M., Belyakova A. G., Ivantsova N. L. COVID-19 RECURRENCE AFTER COMPLETION OF NIRMATRELVIR/RITONAVIR THERAPY	78
ЮБИЛЕЙ	
ANNIVERSARY	
Сатаева Т. П. К 75 ЛЕТИЮ ПРОФЕССОРА КАФЕДРЫ МИКРОБИОЛОГИИ, ВИРУСОЛОГИИ И ИММУНОЛОГИИ ХАЙТОВИЧА АЛЕКСАНДРА БОРИСОВИЧА	87

ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ АДАПТАЦИИ И ПОВРЕЖДЕНИЯ НЕФРОНА ОБСТРУКТИВНОЙ И КОНТРАЛАТЕРАЛЬНОЙ ПОЧЕК ПРИ ОДНОСТОРОННЕЙ ОБСТРУКЦИИ МОЧЕТОЧНИКА

Акименко М. А.¹, Колмакова Т. С.¹, Воронова О. В.², Макалиш Т. П.³

¹Кафедра медицинской биологии и генетика ФГБОУ ВО «Ростовский государственный университет», 344022, пер. Нахичеванский, 29, Ростов-на-Дону, Россия

²Кафедра судебной медицины ФГБОУ ВО «Ростовский государственный университет», 344022, пер. Нахичеванский, 29, Ростов-на-Дону, Россия

³Центральная научно-исследовательская лаборатория (ЦНИЛ), Институт «Медицинская академия имени С.И. Георгиевского» ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», 295051, бульвар Ленина 5/7, Симферополь, Россия

Для корреспонденции: Акименко Марина Анатольевна, ассистент кафедры медицинской биологии и генетика ФГБОУ ВО «Ростовский государственный университет», e-mail: akimenkoma@yandex.ru

For correspondence: Akimenko M. A., Assistant of the Department of Medical Biology and Genetics, Rostov State University, e-mail: akimenkoma@yandex.ru

Information about authors:

Akimenko M. A., <https://orcid.org/0000-0001-8792-6911>

Kolmakova T. S., <https://orcid.org/0000-0002-1923-3168>

Voronova O. V., <https://orcid.org/0000-0003-0542-6900>

Makalish T. P., <https://orcid.org/0000-0003-1884-2620>

РЕЗЮМЕ

Обструктивная уропатия является причиной 10% случаев острой почечной недостаточности и 4% хронической почечной недостаточности – одной из лидирующих причин смертности во всем мире. Длительная обструкция мочевыводящих путей приводит к заметным патологическим изменениям в почке, нарушая ее нормальное функционирование. Изучение патогенетических механизмов повреждения обструктивной и контралатеральной почек позволит установить критерии оценки необратимого повреждения почечной ткани, совершенствовать систему диагностики. Экспериментальное исследование выполнено на взрослых кроликах с воспроизведением модели полной односторонней обструкции левого мочеточника. В исследовании анализировали структурные изменения в нефроне обструктивной и контралатеральной почек, оценивали общее состояние организма животного по общему анализу крови и мочи и определяли наличие продуктов эндогенной интоксикации. Результаты работы позволили установить основные патогенетические механизмы развития заболевания, определить значимые структурные изменения в нефроне обструктивной и контралатеральной почек при длительной односторонней обструкции мочеточника, а также оценить диагностическое значение маркеров эндогенной интоксикации.

Ключевые слова: патогенез, адаптация, повреждение нефрона, почка, односторонняя обструкция мочеточника.

PATHOGENETIC MECHANISMS OF ADAPTATION AND DAMAGE OF THE NEPHRON IN THE OBSTRUCTIVE AND CONTRALATERAL KIDNEY IN UNILATERAL URETER OBSTRUCTION

Akimenko M. A.¹, Kolmakova T. S.¹, Voronova O. V.¹, Makalish T. P.²

¹Rostov State University, Rostov-on-Don, Russia

²Central research laboratory, Medical Academy named after S. I. Georgievsky of Vernadsky CFU, Simferopol, Russia

SUMMARY

Obstructive uropathy is the cause of 10% of acute renal failure and 4% of chronic renal failure, one of the leading causes of death worldwide. Prolonged obstruction of the urinary tract leads to noticeable pathological changes in the kidney, disrupting its normal functioning. The study of the pathogenetic mechanisms of damage to the obstructive and contralateral kidneys will make it possible to establish criteria for assessing irreversible damage to the renal tissue and improve the diagnostic system. An experimental study was performed on adult rabbits with the reproduction of a model of complete unilateral obstruction of the left ureter. The study analyzed structural changes in the nephron of the obstructive and contralateral kidneys, assessed the general condition of the animal's body according to the general analysis of blood and urine, and determined the presence of endogenous intoxication products. The results of the work made it possible to establish the main pathogenetic mechanisms of the development of the disease, to determine significant structural changes in the nephron of obstructive and contralateral kidneys with prolonged unilateral ureteral obstruction, and to evaluate the diagnostic value of markers of endogenous intoxication.

Key words: pathogenesis, adaptation, nephron damage, kidney, unilateral ureteral obstruction

Эпидемиологические исследования отмечают стойкую тенденцию к росту заболеваемости населения хроническими болезнями почек (ХБП) на фоне обструкции [1-3]. Согласно результатам популяционного мета-анализа обструктивная уропатия (ОУ) является причиной 10% случаев острой почечной недостаточности и 4% хронической почечной недостаточности (ХПН) – одной из лидирующих причин смертности во всем мире [4]. Основная проблема ОУ – затяжной бессимптомный период, что приводит к необратимым повреждениям почки [5]. Длительная обструкция мочевыводящих путей приводит к заметным патологическим изменениям в почке, нарушая ее нормальное функционирование [6].

Риск прогрессирования заболевания и эффективность лечения зависят от продолжительности обструкции и своевременной диагностики патологии [7; 8]. С учетом высокой социальной значимости ОУ как заболевания, приводящего к инвалидизации молодого трудоспособного населения, изучение патогенетических механизмов повреждения обструктивной и контралатеральной почек позволит установить критерии оценки необратимого повреждения почечной ткани, совершенствовать систему диагностики. Выполнить такого рода исследование в клинических условиях маловероятно, в связи с чем, актуальным является изучение последовательности изменений в почках на экспериментальной модели механической обструкции мочеточника.

Цель нашего исследования - определить патогенетические механизмы адаптации и повреждения нефрона обструктивной и контралатеральной почек при односторонней обструкции мочеточника (ОМ) и оценить диагностическое значение изучения уровня маркеров эндогенной интоксикации в острый период заболевания.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Методологической основой работы является научный эксперимент, системность и междисциплинарность, выраженная в подборе широкого спектра методов исследования, а также классический сравнительный математический подход оценки числовых показателей измерений в контрольной и основных группах. В ходе исследования воспроизводилась экспериментальная модель односторонней механической обструкции мочеточника на 27 взрослых кроликах по методике Giamairellors-Bourbalis E. с соавторами описанной в работе «Immunomodulatory Clarithromycin Treatment of Experimental Sepsis and Acute Pyelonephritis Caused by multidrug-Resistant *Pseudomonas aeruginosa*» [9]. Эксперимент выполнен в соответствии с «Правилами проведения качественных клинических испы-

таний в Российской Федерации» (утверждены Минздравом РФ и введены в действие с 1 января 1999 года), предусматривающими проведение экспериментов на животных при условии обоснования цели исследования, определения вида и числа животных, необходимых для решения поставленных задач. Содержание, питание, уход за животными и выведение из эксперимента выполнено в соответствии с этическими нормами обращения с животными, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для исследовательских и иных научных целей, Федерацией европейских ассоциаций по науке о лабораторных животных и Международным советом по науке о лабораторных животных. Вместе с тем, принимались во внимание положения Хельсинской декларации и рекомендации, содержащиеся в Директивах Европейского сообщества (86/609 ЕС). В исследовании кроликов разделили на 4 группы. Первая (контрольная) представляла собой ложно оперированных (ЛО) животных в количестве 9 особей. Три опытных группы по 6 особей в каждой – оперированные животные, с полной механической односторонней обструкцией мочеточника сроком 7, 14 и 21 сутки. Исследовали кровь, мочу и ткань обструктивной и контралатеральной почек в указанные сроки эксперимента.

Для оценки определения общего состояния организма проводили лабораторное исследование крови – общий анализ крови (ОАК) на 3, 7, 14 и 21-е сутки ОМ. В ОАК оценивали динамику уровня лейкоцитов, эритроцитов, гемоглобина, гематокрита, тромбоцитов. Кроме этого, в сыворотке крови устанавливали наличие маломолекулярного диальдегида (МДА), больших и малых циркулирующих иммунных комплексов (БИК и МИК), а также молекул средней массы (МСМ) как маркеров эндогенной интоксикации (ЭИ). На 7, 14 и 21 сутки эксперимента для выявления патофизиологических процессов в почках и мочевыводящих путях выполнялось исследование мочи (ОАМ) на следующие показатели: белок, билирубин, кетоновые тела, глюкоза, эритроциты и лейкоциты.

Фиксация ткани почек осуществлялась в 10% забуференном нейтральном формалине в течение 24 часов с последующей проводкой, уплотнением, заключением в парафиновую среду, микротомией биологического материала и окраской препаратов по общепринятым гистологическим методикам. Для микроскопии и анализа структурных изменений в исследуемых образцах использовали сканер гистопрепаратов с программным обеспечением (Aperio CS2 Leica, Germany). Статистический анализ полученных данных проводился с применением па-

кета R (версия 3.2, R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria) с помощью статистического U-критерия Манна-Уитни для сравнения медиан количественных показателей.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Результаты выполненной работы позволили установить основные патогенетически значимые структурные изменения в нефроне обструктивной и контралатеральной почек при длительной односторонней обструкции мочеточника, а также оценить диагностическое значение маркеров эндогенной интоксикации.

В ранние сроки (3 -7 сутки) обструкции клинико-лабораторные свидетельства развития патологического процесса отсутствуют. Однако в крови появляются предикторы патофизиоло-

гического процесса – продукты перекисного окисления (МДА) и маркеры ЭИ (МСМ). Цифры этих показателей на 3 сутки эксперимента возросли в 2,6 и в 2 раза соответственно в сравнении с контрольной группой (рис.1В – Е). Данный факт указывает на развитие эндогенной интоксикации у экспериментальных животных вследствие нарушения оттока мочи из обструктивной почки. В этот период идет адаптация органа к повышению давления на клетки канальцевой системы нефрона. Этот процесс сопровождается морфологическими изменениями в нефроне компенсаторного характера в виде трансформации формы эпителия канальцевой части нефрона обструктивной почки, при этом признаки атрофии клеток эпителия отсутствуют (рис.2А).

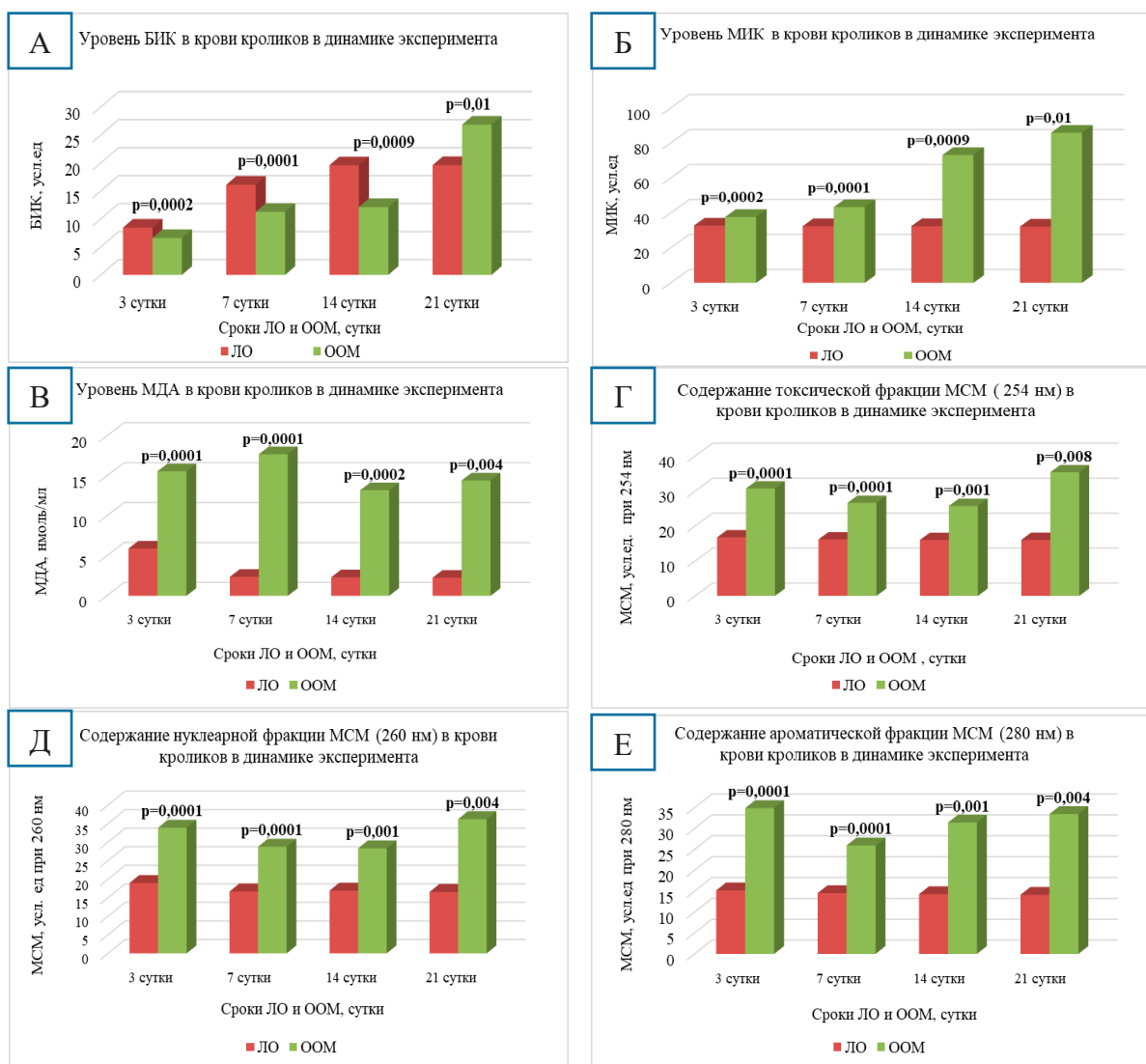


Рис.1. Содержание ЦИК (БИК и МИК), МДА, и МСМ в крови кроликов в динамике ООМ.

Примечание: р - обозначены статистически значимые изменения в сравнении с контрольной группой (ЛО).

Регистрировалось повышение содержания МИК в крови экспериментальных животных практически в 2 раза на 14 сутки ООМ (рис. 1Б). Непосредственно фракция МИК выводится через почки, а прогрессивное нарастание показателя в динамике ООМ свидетельствует о накоплении их в почечных клубочках, что в свою очередь приводит к развитию воспаления. Таким образом, параллельно с ишемией и гипоксией развивается ещё один патофизиологический процесс – воспаление, что подтверждалось лейкоцитозом в ОАК (9,27 тыс/мкл) в эти сроки эксперимента. Прогрессивное увеличение показателей МДА, МСМ (всех трех фракций) и МИК (рис. 1Б – Е), у кроликов, в сравнении с 7 сутками эксперимента, свидетельствует об активной эндотоксемии и нарушении в системе гомеостаза. В этот период ЭИ с одной стороны обусловлена патологической биологической активностью эндогенных продуктов, с другой стороны дисфункцией систем естественной

детоксикации. Увеличение уровня МДА – неблагоприятный прогностический показатель. В результате действия продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) на компоненты клеток (цитоплазма, ядро, мембрана) образуются также их высокоактивные свободнорадикальные продукты. Первичные продукты ПОЛ разрушаются с образованием вторичных: альдегидов, кетонов, малонового диальдегида, диеновых соединений. Именно накоплением в крови малонового диальдегида объясняется синдром интоксикации. В свою очередь накопление МСМ также усугубляет течение патологического процесса в связи с тем, что они способны приобретать свойства вторичных токсинов.

Успешная компенсаторная работа контралатеральной почки подтверждается нормальными показателями в ОАМ на протяжении двух недель эксперимента.

На 14 сутки ООМ четко прослеживается хронология изменения формы значительного коли-

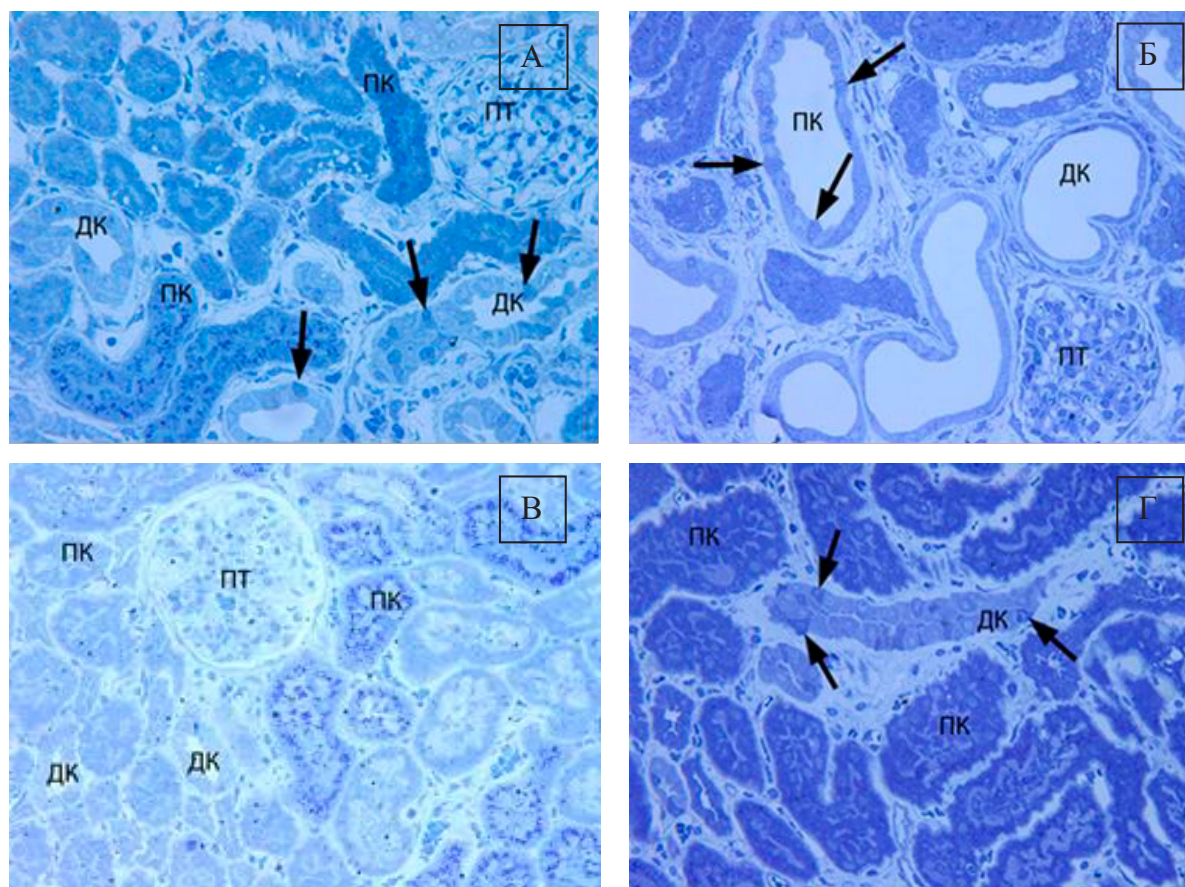


Рис.2. Световое микроскопическое исследование трансформации эпителиальных клеток канальцев нефрона: А - обструктивной почки на 7 сутки ООМ; Б - обструктивной почки на 21 сутки ООМ; В - контроль (ЛЮ); Г - контралатеральной почки на 21 сутки ООМ.

Обозначения: ПТ - почечное тельце; ДК - дистальный каналец; ПК -проксимальный каналец; → трансформированные эпителиальные клетки ДК и ПК. Окраска метиленовым синим. Увел. х 400.

чества эпителиальных клеток нефрона обструктивной почки, от однослойного кубического до неправильной треугольной формы, стремящейся к отслоению от базальной мембраны наряду с увеличением просвета канальцев нефрона. Признаки трансформации цитоскелета эпителия канальцев нефрона контралатеральной почки на 7 и 14 сутки ООМ не обнаружены.

На 21 сутки ООМ в крови экспериментальных животных увеличивается содержание БИК (рис.1А) и практически в 3 раза возрастает МИК (рис.1Б), в сравнении с контрольными значениями. Такая динамика показателей указывает на усугубление воспалительного процесса, что подтверждается лейкоцитозом (10,38 тыс/мкл) в ОАК. Прогрессивный рост показателей ЭИ служит доказательством эндотоксемии, а патологические сдвиги в анализе мочи свидетельствуют о нарушениях в системе гомеостаза. Так, на 21 сутки ООМ в моче кроликов определялись лейкоциты и белок у 67 % животных, а. кетоновые тела у 33%.

К 21 суткам большая часть просвета канальцев нефрона обструктивной почки была значительно эктазирована и выстлана резко уплощенным эпителием (рис.2Б). В канальцевой части нефрона контралатеральной почки регистрировались единичные эпителиальные клетки неправильной треугольной формы, стремящиеся к отслоению от базальной мембраны (рис.2Г) в сравнении с контролем (рис.2В).

ОБСУЖДЕНИЕ

Нарушение работы гомеостатических систем, поддерживающих окислительный баланс, является ключевым звеном патогенеза при обструктивных заболеваниях [10;11]. На мембрану клеток почки действует повреждающий фактор – давление скопившейся уже в первые сутки после обструкции, но не оттекающей мочи. В результате изменяется проницаемость мембраны, клетка отекает, а это в свою очередь приводит к набуханию внутриклеточных органелл (митохондрий, лизосом, эндоплазматического ретикулаума). Вышеперечисленные события вызывают расстройства биоэнергетики клетки, и как следствие появление продуктов ПОЛ и развитие оксидативного стресса [12;13]. Таким образом, острое течение заболевания (3-7 сутки), как показали результаты исследования, ассоциировано с появлением в ранние сроки в крови экспериментальных животных не элиминированных эндогенных продуктов (рис.3).

На 14 сутки ООМ перечисленные выше функциональные нарушения нарастают и подключаются дополнительные патофизиологические процессы, такие как воспаление, ишемия,

гипоксия и трофические изменения. В эти сроки помимо фильтрации частично затрагивается и процесс реабсорбции в обструктивной почке, что подтверждают результаты морфологического исследования. В динамике развития ООМ ишемия почки спровоцирована сдавлением сосудов в результате повышения внутрипочечного давления из-за нарушения оттока мочи. Чувствительность к ишемии различных органов неодинакова. Клетки почек очень восприимчивы к ней и повреждаются достаточно быстро [13; 14]. В свою очередь нарушение периферического (в пределах органа) кровообращения приводит к гипоксии почечных структур. Гипоксия является патогенетическим фактором в развитии функциональных и структурных нарушений в ткани обструктивной почки [14; 15]. Недостаток кислорода вызывает нарушения биоэнергетики клетки и в свою очередь ее последствия: расстройство функций клеточных мембран, внутриклеточных органелл и других энергозависимых процессов в клетке – синтеза, сокращения, расслабления, обмена электролитов и воды. Прогрессирующий энергодефицит приводит сначала к обратимым, а затем необратимым повреждениям клеток. Степень кислородного голодания и масштаб негативных последствий гипоксии зависит от скорости ее развития, продолжительности, функционального состояния органа [12 - 15].

На 21 сутки ООМ такие патофизиологические процессы, как воспаление, ишемия, гипоксия, трофические изменения прогрессируют и уже видны макроскопически – побледнение ишемизированного участка обструктивной почки на 21 сутки ООМ. Сокращение или полное прекращение кровообращения на участке ишемии приводит к гипоксии, включению анаэробного гликолиза, приводящего в свою очередь к накоплению недоокисленных продуктов и началу преобладания катаболических процессов. Все это ведет к грубым дистрофическим и дальнейшим некробиотическим изменениям.

Длительная ООМ приводит к нарушению как межклеточных связей, так и связей эпителия канальцевой части нефрона с базальной мембраной в обструктивной почке, что снижает его устойчивость к механическому перенапряжению. Первые признаки трансформации эпителия обструктивной почки проявлялись уже на 7 сутки с дальнейшей прогрессией к 21 суткам эксперимента. Однако, в контралатеральной почке в течение двух недель эксперимента признаков трансформации эпителиоцитов зарегистрировано не было и только к 21 суткам ООМ наблюдалось появление единичных клеток неправильной треугольной формы, что свидетельствовало о раннем этапе трансформации нефротелия ка-

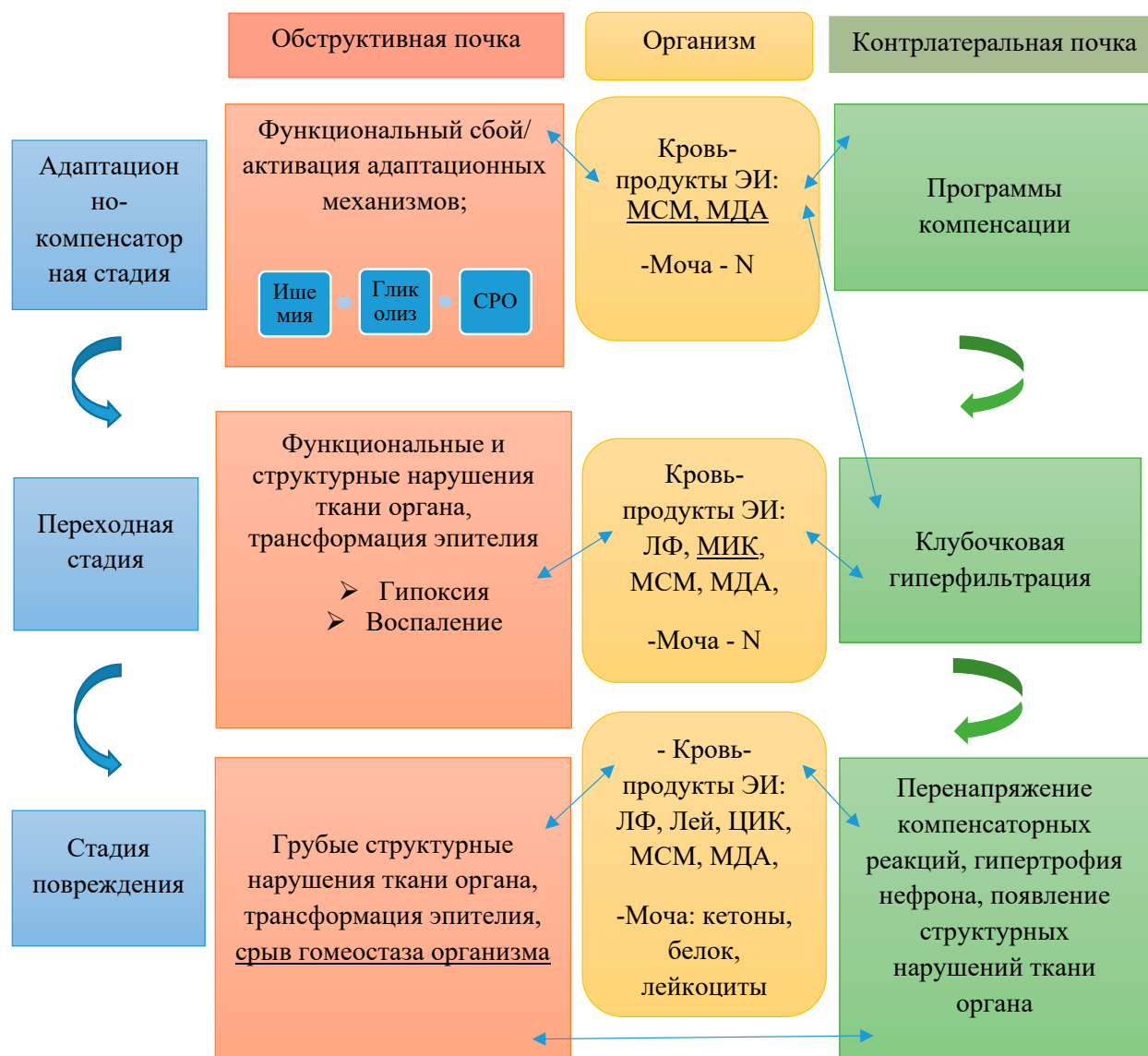


Рис.3. Схема патогенетических механизмов адаптации и повреждения обструктивной и контралатеральной почек при односторонней обструкции мочеточника.

нальцев в ответ на повышение функциональной нагрузки на орган.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, исследование динамики односторонней обструкции мочеточника позволило определить механизмы адаптации нефрона обструктивной и контралатеральной почек, ключевые звенья патогенеза данного заболевания, а также выявить ранние клинико-лабораторные маркеры, указывающие на начало патофизиологического процесса. Полученные данные наглядно отражают адаптацию и этапы трансформации эпителия канальцевой части нефрона в ответ на ООМ как в обструктивном, так и в компенсаторном органе на разных сроках обструкции. Четкое

понимание этих процессов позволит по-новому взглянуть на патогенетические аспекты развития ХБП и, как следствие, эффективно строить прогнозы и точно устанавливать сроки лечения. Это также позволит определить возможные терапевтические подходы и профилактику снижения почечной функции еще до появления необратимых изменений.

По результатам динамического исследования для ранней диагностики обструктивного процесса целесообразно использовать неспецифические маркеры эндогенной интоксикации (МСМ, ЦИК) и продукты перекисного окисления (МДА), поскольку в этот период (7-14 суток ООМ) классические клинико-лабораторные свидетельства развития патологического процесса отсутствуют.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors have no conflict of interests to declare.

ЛИТЕРАТУРА

1. Crews D. C., Bello A. K., Saadi G. World Kidney Day Editorial - burden, access, and disparities in kidney disease. *Brazilian Journal of Nephrology*. 2019;41(1):1-09. doi: 10.1590/2175-8239-JBN-2018-0224.

2. Yang C. W., Harris D. C., Luyckx V. A., Nangaku M., Hou F. F., Garcia G. G., Abu-Aisha H., Niang A., Sola L., Bunnag S., Eiam-Ong S., Tungsanga K., Richards M., Richards N., Goh B. L., Dreyer G., Evans R., Mzingajira H., Twahir A., McCulloch M.I., Ahn C., Osafo C., Hsu H. H., Barnieh L., Donner J., Tonelli M. Global case studies for chronic kidney disease/end-stage kidney disease care. *Kidney International Supplements*. 2020;10(1):24-48. doi:10.1016/j.kisu.2019.11.010.

3. Piccoli G. B., Alrukhaimi M., Liu Z. H., Zakharova E., Levin A. What we do and do not know about women and kidney diseases - questions unanswered and answers unquestioned: Reflection on World Kidney Day and International Woman's Day. *Nefrologia*. 2018;38(2):114-124. doi:10.1111/nep.13193.

4. Neuen B. L., Chadban S. J., Demaio A. R., Johnson D. W., Perkovic V. Chronic kidney disease and the global NCDs agenda. *BMJ Global Health*. 2017;2(2):e000380. doi: 10.1136/bmjgh-2017-000380.

5. Bello A. K., Levin A., Tonelli M., Okpechi I. G., Feehally J., Harris D., Jindal K., Salako B.L., Rateb A., Osman M. A., Qarni B., Saad S., Lunney M., Wiebe N., Ye F., Johnson D. W. Assessment of Global Kidney Health Care Status. *JAMA*. 2017;317(18):1864–1919. doi: 10.1001/jama.2017.4046.

6. Nagalakshmi V. K., Li M., Shah S., Gigliotti J. C., Klibanov A. L., Epstein F. H., Chevalier R. L., Gomez R. A., Sequeira-Lopez M. L. Changes in cell fate determine the regenerative and functional capacity of the developing kidney before and after release of obstruction. *Clinical Science*. 2018;132(23):2519-2545. doi:10.1042/CS20180623.

7. Chevalier R. L. The proximal tubule is the primary target of injury and progression of kidney disease: role of the glomerulotubular junction. *American Journal of Physiology. Renal Physiology*. 2016;311:145–161. doi:10.1152/ajprenal.00164.2016.

8. Chevalier R. L. Evolution, Kidney Development, and Chronic Kidney Disease. *Semin Cell Dev Biol*. 2019;91:119–131. doi:10.1016/j.semcdb.2018.05.024

9. Giamarellou-Bourboulis E. J., Adamis T., Laoutaris G., Sabracos L., Koussoulas V., Mouktaroudi M., Perrea D., Karayannacos P. E., Giamarellou H. Immunomodulatory clarithromycin treatment of experimental sepsis and acute pyelonephritis caused by multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2004;48(1):93–99. doi:10.1128/AAC.48.1.93-99.2004.

10. Docherty M-H., O'Sullivan E. D., Bonventre J. V., Ferenbach D. A. Cellular Senescence in the Kidney. *American Society of Nephrology*. 2019;30(5):726-736. doi: 10.1681/ASN.2018121251.

11. Hunter R. W., Bailey M. A. Hyperkalemia: pathophysiology, risk factors and consequences. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 2019;34(3):2-11. doi: 10.1093/ndt/gfz206.

12. Coppolino G., Andreucci M., Bolignano D. Oxidative Stress and Kidney Function: A Brief Update. *Current Pharmaceutical Design*. 2018;24(40):4794–4799. doi: 10.2174/1381612825666190112165206.

13. Osborn J. W., Tyshynsky R., Vulchanova L. Function of Renal Nerves in Kidney Physiology and Pathophysiology. *Annual Review of Physiology*. 2021;10(83):429–450. doi: 10.1146/annurev-physiol-031620-091656.

14. Sugahara M., Tanaka T., Nangaku M. Hypoxia-Inducible Factor and Oxygen Biology in the Kidney. *Kidney*. 2020;1(9):1021-1031. doi:10.34067/KID.0001302020.

15. Wang B., Li Z.-L., Zhang Y.-L., Wen Y., Gao Y.-M., Liu B.-C. Hypoxia and chronic kidney disease. *EBioMedicine*. 2022;77:1-11. doi:10.1016/j.ebiom.2022.103942.

REFERENCES

1. Crews D. C., Bello A. K., Saadi G. World Kidney Day Editorial - burden, access, and disparities in kidney disease. *Brazilian Journal of Nephrology*. 2019;41(1):1-09. doi: 10.1590/2175-8239-JBN-2018-0224.

2. Yang C. W., Harris D. C., Luyckx V. A., Nangaku M., Hou F. F., Garcia G. G., Abu-Aisha H., Niang A., Sola L., Bunnag S., Eiam-Ong S., Tungsanga K., Richards M., Richards N., Goh B. L., Dreyer G., Evans R., Mzingajira H., Twahir A., McCulloch M. I., Ahn C., Osafo C., Hsu H. H., Barnieh L., Donner J., Tonelli M. Global case studies for chronic kidney disease/end-stage kidney disease care. *Kidney International Supplements*. 2020;10(1):24-48. doi:10.1016/j.kisu.2019.11.010.

3. Piccoli G. B., Alrukhaimi M., Liu Z. H., Zakharova E., Levin A. What we do and do not know about women and kidney diseases - questions unanswered and answers unquestioned: Reflection on World Kidney Day and International Woman's Day. *Nefrologia*. 2018;38(2):114-124. doi:10.1111/nep.13193.

4. Neuen B. L., Chadban S. J., Demaio A. R., Johnson D. W., Perkovic V. Chronic kidney disease and the global NCDs agenda. *BMJ Global Health*. 2017;2(2):e000380. doi: 10.1136/bmjgh-2017-000380.

5. Bello A. K., Levin A., Tonelli M., Okpechi I. G., Feehally J., Harris D., Jindal K., Salako B. L., Rateb A., Osman M. A., Qarni B., Saad S., Lunney M., Wiebe N., Ye F., Johnson D.W. Assessment of Global Kidney Health Care Status. *JAMA*. 2017;317(18):1864–1919. doi: 10.1001/jama.2017.4046.

6. Nagalakshmi V. K., Li M., Shah S., Gigliotti J. C., Klibanov A. L., Epstein F. H., Chevalier R. L., Gomez R. A., Sequeira-Lopez M. L. Changes in cell fate determine the regenerative and functional capacity of the developing

kidney before and after release of obstruction. *Clinical Science*. 2018;132(23):2519-2545. doi:10.1042/CS20180623.

7. Chevalier R. L. The proximal tubule is the primary target of injury and progression of kidney disease: role of the glomerulotubular junction. *American Journal of Physiology. Renal Physiology*. 2016;311:145–161. doi:10.1152/ajprenal.00164.2016.

8. Chevalier R. L. Evolution, Kidney Development, and Chronic Kidney Disease. *Semin Cell Dev Biol*. 2019;91:119–131. doi:10.1016/j.semcdb.2018.05.024

9. Giamarellos-Bourboulis E. J., Adamis T., Laoutaris G., Sabracos L., Koussoulas V., Mouktaroudi M., Perrea D., Karayannacos P. E, Giamarellou H. Immunomodulatory clarithromycin treatment of experimental sepsis and acute pyelonephritis caused by multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2004;48(1):93–99. doi:10.1128/AAC.48.1.93-99.2004.

10. Docherty M-H., O’Sullivan E. D., Bonventre J. V., Ferenbach D. A. Cellular Senescence in the Kidney.

American Society of Nephrology. 2019;30(5):726-736. doi: 10.1681/ASN.2018121251.

11. Hunter R. W., Bailey M. A. Hyperkalemia: pathophysiology, risk factors and consequences. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 2019;34(3):2-11. doi: 10.1093/ndt/gfz206.

12. Coppolino G., Andreucci M., Bolignano D. Oxidative Stress and Kidney Function: A Brief Update. *Current Pharmaceutical Design*. 2018;24(40):4794–4799. doi: 10.2174/1381612825666190112165206.

13. Osborn J. W., Tyshynsky R., Vulchanova L. Function of Renal Nerves in Kidney Physiology and Pathophysiology. *Annual Review of Physiology*. 2021;10(83):429–450. doi: 10.1146/annurev-physiol-031620-091656.

14. Sugahara M., Tanaka T., Nangaku M. Hypoxia-Inducible Factor and Oxygen Biology in the Kidney. *Kidney 360*. 2020;1(9):1021-1031. doi: 10.34067/KID.0001302020.

15. Wang B., Li Z.-L., Zhang Y.-L., Wen Y., Gao Y.-M., Liu B.-C. Hypoxia and chronic kidney disease. *EBioMedicine*. 2022;77:1-11. doi:10.1016/j.ebiom.2022.103942.

УДК 616.853

DOI: 10.29039/2224-6444-2022-12-3-13-19

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ГИППОКАМА ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ЭПИЛЕПТИЧЕСКОГО ПРИПАДКА

Демяшкин Г. А.¹, Шаповалова Е. Ю.², Григорян М. С.², Зорин И. А.¹

¹ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет)», 119048, ул. Трубецкая, 8 стр.2, Москва, Россия

²Институт «Медицинская академия имени С. И. Георгиевского» ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», 295051, бульвар Ленина, 5/7, Симферополь, Россия

Для корреспонденции: Демяшкин Григорий Александрович, к.м.н., заведующий лабораторией гистологии и иммуногистохимии ИТМиБ Первого МГМУ им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет); e-mail: dr.dga@mail.ru

For correspondence: Grigory Demyashkin, PhD, Head of Department of Histology and Immunohistochemistry, ITM of I. M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), e-mail: dr.dga@mail.ru

Information about authors:

Demyashkin G. A., <https://orcid.org/0000-0001-8447-2600>

Shapovalova E. Y., <http://orcid.org/0000-0003-2544-7696>

Grigoryan M. S., <https://orcid.org/0000-0002-8417-9153>

Zorin I. A., <https://orcid.org/0000-0002-1621-7015>

РЕЗЮМЕ

На сегодняшний день изучение эпилепсии остается одним из основных направлений в современной неврологии. Несмотря на многолетнюю историю наблюдения эпилепсии и эпилептических припадков, нейробиологическая составляющая болезни остается малоизученной. Для понимания основных механизмов развития и разработки новых методов лечения эпилептического приступа в основном используется экспериментальный метод моделирования приступа на животных. Цель исследования – морфологическая оценка гиппокампа в условиях коразоловой модели острого и хронического приступа эпилепсии. Материал и методы. Животные были поделены на группы: 1-ая (n=20) – моделирование острого приступа эпилепсии, 2-ая (n=20) – моделировали хронический приступ эпилепсии на основе киндлинг-эффекта, 3-ья (n=10) – контрольная. Полученные фрагменты головного мозга исследовали гистологическим методом. Результаты. У I группы животных после введения ПТЗ наблюдали клиническую симптоматику острого приступа эпилепсии. При морфологическом исследовании гиппокампа экспериментальных обнаружили нарушение гистоархитектоники с появлением «темных» нейронов, которые исчезали к 5 дню от начала эксперимента. У II группы животных была успешно смоделирована модель хронической эпилепсии с развитием генерализованного припадка после 3-го введения препарата. Характер морфологических изменений в головном мозге был более мягкий по сравнению с I группой. Заключение. Морфологической особенностью эпилепсии является появление в гиппокампе «темных» нейронов, количество которых при остром приступе больше, чем при киндлинг-эффекте. На основании обнаруженной клинико-морфологической картины пентилтетразол можно использовать для моделирования острого и хронического приступа эпилепсии у мышей линии СВА.

Ключевые слова: эпилепсия, гиппокамп, зубчатая извилина, пентилтетразол.

MORPHOLOGICAL FEATURES OF MODELING EPILEPSY IN EXPERIMENTAL ANIMALS

Demyashkin G. A.¹, Shapovalova E. Y.², Grigoryan M. S.², Zorin I. A.¹

¹I. M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia

²Institution «Medical Academy named after S. I. Georgievsky» of Vernadsky CFU, Simferopol, Russia

SUMMARY

The study of epilepsy remains one of the main areas in modern neurology. Despite a long history of observation of epilepsy and epileptic seizures, the neurobiological component of the disease remains poorly understood. To understand the main mechanisms of development and develop new methods for the treatment of an epileptic seizure, an experimental method of simulating a seizure in animals is mainly used. The aim of the study was to evaluate the morphological assessment of the hippocampus in the corazole model of epilepsy. Material and methods. Animals were divided into groups: group 1 (n=20) - simulation of an acute epileptic seizure, group 2 (n=20) - chronic epileptic seizure modeled based on the kindling effect, group 3 (n=10) - control. The obtained fragments of the brain were examined by the histological method. Results. In group I animals after the administration of PTZ observed clinical symptoms of generalized seizure. A morphological study of the experimental hippocampus revealed a violation of histoarchitectonics with the appearance of «dark» neurons, which disappeared by the 5th day from the start of the experiment. In group II animals, a model of chronic epilepsy was successfully modeled with the development of a generalized seizure after the 3rd injection of the PTZ. The nature of morphological changes in the brain was milder compared to group I. Conclusion. The morphological feature of epilepsy is the appearance of «dark» neurons in the hippocampus, the number of which during an acute seizure is greater than after the kindling effect. Based on the detected clinical and morphological picture, pentyltetrazole can be used to simulate acute and chronic epilepsy seizures in CBA mice.

Key words: epilepsy, hippocampus, dentate gyrus, pentyltetrazole.

На сегодняшний день изучение эпилепсии остается одним из основных направлений в современной неврологии [1; 2]. Несмотря на многолетнюю историю наблюдения эпилепсии и эпилептических припадков, нейробиологическая составляющая болезни остаётся малоизученной [3]. Для понимания основных механизмов развития и разработки новых методов лечения эпилептического приступа в основном используется экспериментальный метод моделирования приступа на животных.

Принципиально модели эпилепсии можно разделить на генетические и индуцированные. Генетические модели основаны на специфических мутациях в ДНК, которые приводят к спонтанным эпилептическим приступам у животных. Индуцированные могут быть вызваны химическим (лекарственным) веществом, электрической или акустической стимуляцией. В настоящее время предпочтение отдается использованию химических нейроконвульсантов, которые обеспечивают хорошую воспроизводимость и, как предполагается, соответствуют идиопатическим эпилептическим припадкам у человека [4; 5]. Одной из наиболее популярной моделью является коразоловая модель, в которой используется вещество коразолового ряда – пентилтетразол (ПТЗ). При использовании ПТЗ возможно добиться, как острого эпилептического приступа, так и хронической эпилепсии. Механизм развития приступа под действием ПТЗ на сегодняшний день остается до конца не изученным, но предполагается, что эпилептогенетический эффект достигается за счет воздействия на ГАМК- и глутаматергическую, а также антиоксидантную системы [6; 7].

Необходимо отметить, что многочисленные исследования, которые проводились с использованием ПТЗ-индуцированной модели эпилепсии, доказали, что ПТЗ-модель может быть использована не только для оценки эффективности противозэпилептических препаратов и методов лечения эпилептических приступов, но и для исследования механизмов эпилептогенеза [7]. Клинические данные, полученные в ходе моделирования приступов, согласуются с результатами реальных пациентов с эпилепсией. Таким образом, ПТЗ-модель эпилепсии является одной из немногих, которая подходит для изучения нейробиологического субстрата как острого припадков, так и хронической эпилепсии, которую возможно моделировать с использованием киндлинг-эффекта [8; 9].

Ограничения для использования этого метода, во-первых, обусловлены большой вариативностью протоколов и схем для вызова эпилептического припадков. Во-вторых, ПТЗ-модель не

подходит для изучения инициации эпилептического приступа и механизмов его распространения.

Тем не менее, на основании ПТЗ-модели возможно провести морфологическую оценку гиппокампа и зубчатой извилины для изучения изменений, вызываемых приступом. Это является необходимым для продолжения работы по исследованию патогенетических механизмов эпилепсии и созданию новых эффективных методов лечения.

Таким образом, на сегодняшний день необходима дальнейшая разработка и усовершенствование модели эпилепсии с использованием ПТЗ для улучшения понимания патоморфологических и молекулярно-биологических процессов в головном мозге при эпилепсии, что в дальнейшем послужит базисом для разработки новых методов лечения и профилактики эпилепсии.

В данном исследовании будет впервые подробно описана процедура воспроизведения острого эпилептического припадков и хронической эпилепсии с характерными гистопатологическими особенностями в головном мозге.

Цель исследования – морфологическая оценка гиппокампа в условиях коразоловой модели острого и хронического приступа эпилепсии.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Экспериментальное морфологическое исследование проводили на базах института «Медицинская академия имени С. И. Георгиевского» ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского» и Сеченовского Университета.

Модель животных для исследования *in vivo*.

В качестве моделей использовали самцов половозрелых мышей популяции СВА (30 – 35 г; 12 недель; n=50). Животные содержались в виварии при 12 часовом световом дне, кондиционировании при температуре 23°C и влажности 40 – 60%, на стандартном рационе питания с водой *ad libitum*. Мышей содержали в пластиковых клетках со слоем, покрытым абсорбирующим материалом (рисовой шелухой), обеспечивающим гнездовой материал. На время длительного эксперимента животные были размещены в клетках по две особи, чтобы исключить возможное влияние длительного одиночного содержания на поведение. Все манипуляции осуществляли согласно Международным рекомендациям и Руководствам по проведению медико-биологических исследований по уходу и использованию лабораторных животных (ILAR, DELS) и Правилам лабораторной практики и приказу Министерства здравоохранения РФ № 199н от 01.04.2016 «Об утверждении правил лабораторной практики».

Животные были поделены на группы: 1-ая (n=20) – моделирование острого приступа эпилепсии, 2-ая (n=20) – моделировали хронический приступ эпилепсии на основе киндлинг-эффекта, 3-ья (n=10) – контрольная.

Протокол моделирования острого приступа эпилепсии.

1. Измерить массу животного.
2. Поместить животное в экспериментальную камеру на 3 минуты для привыкания.
3. Во время привыкания, рассчитать количество раствора ПТЗ для интраперитонеального введения на основе массы животного и дозировки раствора. Для моделирования острого приступа эпилепсии использовали дозировку 45 мкг/кг однократно.
4. Ввести раствор ПТЗ интраперитонеально, избегая его попадания в белую линию живота.
5. Провести наблюдение животных в течение 30 минут после инъекции и оценить реакцию, используя шкалу Расина.
6. После оценки приступа животных оставляют на 6 – 10 часов для наблюдения за состоянием.

Протокол моделирования хронической эпилепсии на основе киндлинг-эффекта.

1. Измерить массу животного.
2. Поместить животное в экспериментальную камеру на 3 минуты для привыкания.
3. Во время привыкания, рассчитать количество раствора ПТЗ для интраперитонеального введения на основе массы животного и дозировки раствора. Для моделирования острого приступа эпилепсии использовали дозировку 30 мкг/кг.
4. Ввести раствор ПТЗ интраперитонеально, избегая его попадания в белую линию живота.
5. Провести наблюдение животных в течение 30 минут после инъекции и оценить реакцию, используя шкалу Расина.
6. После оценки приступа животных оставляют на 6 – 10 часов для наблюдения за состоянием.
7. Для развития хронической эпилепсии на основе киндлинг-эффекта экспериментальным животным вводили ПТЗ на 1, 3, 5 сутки.

Оценка тяжести эпилептического приступа.

1. Наблюдение за животным в течение 30 мин после введения ПТЗ.
2. Оценка эпилептического поведения, используя модифицированную шкалу Расина, в баллах [10]:

Баллы	Поведенческая реакция
-1	Нормальное поведение
0	Подёргивание усов
1	Внезапное нарушение поведения (неподвижный взгляд)
2	Подергивание лица
3	Подергивание лица и шеи
4	Клонические судороги в положении сидя
5	Клонические судороги лёжа на животе
6	Клонические и тонико-клонические судороги с хаотичными движениями по клетке
7	Тоническое сокращение, внезапная кардиальная/респираторная недостаточность, смерть

Количество баллов от 0 до 2 расценивали как малые/фокальные припадки, а от 3 до 6 как генерализованный приступ. Максимальное количество баллов (7) приводило к тоническому сокращению мускулатуры с дальнейшей гибелью животного.

Выведение мышей из эксперимента

Животных 1-ой группы выводили из эксперимента последовательно на 1, 3 и 5 сутки от начала введения ПТЗ. Животных 2-ой группы выводили из эксперимента последовательно после каждой инъекции для динамической оценки изменений в зубчатой извилине гиппокампа. Животных 3-ей группы выводили из эксперимента планомерно через неделю после инъекции.

Выводили животных из эксперимента путем введения высоких доз анестетика.

Морфологическое исследование

Для исследования морфологического субстрата эпилепсии исследовали гиппокамп экспериментальных животных, особой зоной интереса являлись регионы СА1, СА3 и зубчатая извилина (Рис. 1).

Фрагменты головного мозга фиксировали в 10% нейтральном формалине, забуференным по Лилли (при pH 7,2 – 7,4), заливали в парафин по стандартной методике. После депарафинизации и регитратации парафиновых срезов их окрашивали гематоксилином и эозином.

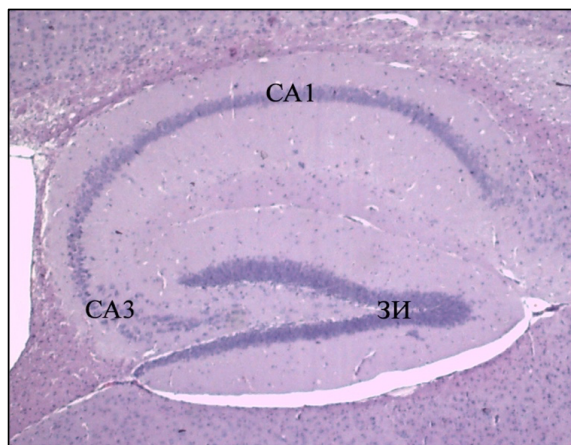
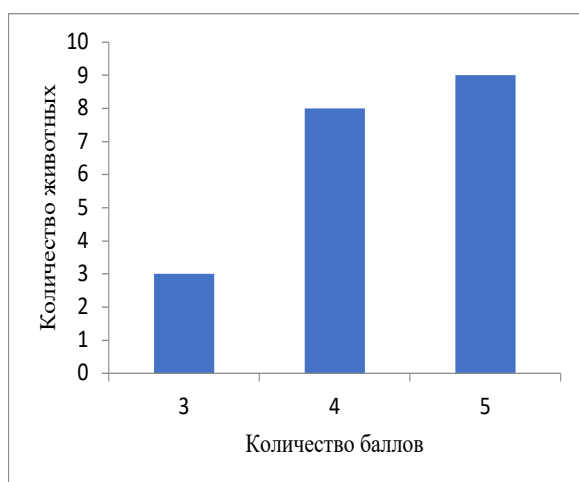


Рис. 1. Гиппокамп контрольной группы с обозначенными зонами интереса. Окраска: гематоксилин и эозин, увелич. x 50. ЗИ – зубчатая извилина.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Характеристика поведения животных во время эксперимента.

Животные 1-ой группы, которые получали ПТЗ в дозировке 45 мкг/кг, показали хорошую восприимчивость к препарату и демонстрировали генерализованный приступ в течение 30 минут после инъекции. Большинство приступов было оценено на 4 – 5 баллов по модифицированной шкале Расина (таблица 1). У некоторых особей (n=3) развившейся приступ был оценен на 3 балла. Длительность приступа у всех особей не превышала 5 минут.



Оценка тяжести приступа эпилепсии у животных 1-ой группы.

На животных 2-ой группы была смоделирована хроническая эпилепсия на основе киндлинг-эффекта. Экспериментальные мыши получали ПТЗ в дозировке 30 мкг/кг, что соот-

ветствует подпороговому значению для развития большого тонико-клонического приступа эпилепсии. Фракционное введение ПТЗ проводили по 3-ступенчатой схеме, что позволило добиться развития генерализованного приступа на 5 сутки эксперимента (3-ья доза ПТЗ). После 1-го введения у животных отмечали развития фокального припадка, что соответствовала 1 – 2 баллам по шкале Расина, после 2-го введения у большинства животных зафиксировали 2 – 3 балла. После финальной инъекция (3-ья доза) у животных наблюдали генерализованный припадок, который был оценен на 4 балла.

В ходе обоих экспериментов было установлено, что используемые дозировки и схемы введения способны эффективно вызывать эпилептические приступы. Животные второй группы выдавали регулярные приступы с тенденцией к генерализации, что характерно для хронической эпилепсии.

В результате эксперимента животные контрольной группы набрали -1 балл по модифицированной шкале Расина.

Морфологическая характеристика в гиппокампе экспериментальных животных.

В контрольной группе наблюдали типичную гистологическую картину: нейроны округлой или овальной формы с голубой цитоплазмой и светло-голубым ядром, четкие границы.

У животных первой группы обнаружили значительные нейрональные изменения в организации зубчатой извилины гиппокампа, нарушение гистоархитектоники пирамидных и гранулярных клеток: нейроны были сморщены, «тёмные», без различимой границы между ядром и цитоплазмой. Количество «тёмных» нейронов демонстрировало прямую корреляцию со временем, прошедшим с момента приступа. Таким образом, наибольшее количество измененных нейронов обнаружили через сутки после генерализованного приступа с тенденцией к их сокращению к 5 дню после приступа (Рис. 2).

Патоморфологические изменения, вызванные фракционным введением препарата (2-ая группа) носили менее выраженный характер. Количество «тёмных» нейронов было незначительным, они появились через сутки после первого введения ПТЗ, а на третьи и пятые сутки их количество сократилось. Так же при исследовании гиппокампа животных 2-ой группы наблюдали миграцию гранулярных клеток (Рис. 2).

ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящем исследовании мы исследовали эффекты применения коразоловой модели эпилепсии на основе ПТЗ для симуляции острого приступа и хронической эпилепсии у экспериментальных животных.

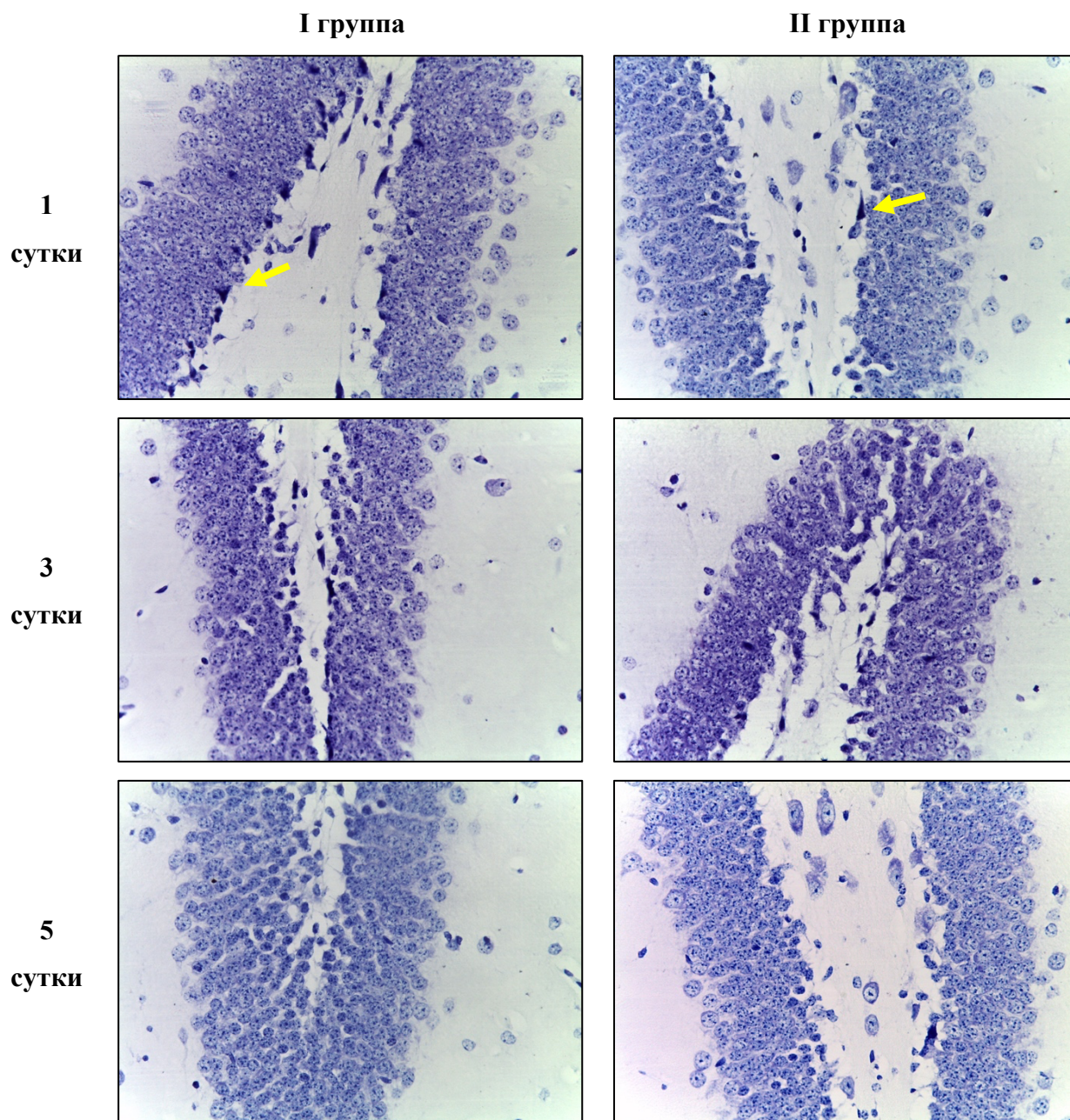


Рис. 2. Морфологические изменения в гиппокампе экспериментальных животных I и II группы. «Тёмные» нейроны с признаками пикноза отмечены стрелкой. Окраска: по Нислю.

Несмотря на имеющиеся данные специализированной научной литературы об использовании коразоловой модели их количество остается недостаточным для наиболее полного описания возможностей этого метода. В настоящем исследовании мы стандартизировали протокол выполнения эксперимента для вызова острого приступа и модели хронической эпилепсии на основе киндлинг-эффекта. Более того, клиническая картина эпилепсии, оцененная с помощью модифицированной шкалы Расина, была дополнена морфологической характеристикой гиппокампа, как во время эпилепсии, так и в период восстановления после приступа.

Одна из ключевых особенностей коразоловой модели заключается в появлении «тёмных» нейронов. На сегодняшний день роль «темных» нейронов в гистоархитектонике головного мозга остаётся предметом научных споров. В некоторых исследованиях приводятся доказательства того, что темные нейроны являются клетками в состоянии апоптоза. Однако, другие авторы предполагают, что «темные» клетки, по всей видимости, являются транзитной формой, необходимой для выживания общей популяции нейронов, а их способность передавать и генерировать сигналы остается неясной [11–14]. В настоящей работе мы наблюдали довольно быстрое сокра-

щении количества «тёмных» нейронов на 5 сутки от начала эксперимента в обеих группах.

В I группе такие результаты могут указывать на восстановление нейрональных связей и нормальной структуры головного мозга, что согласуется с морфологическими исследованиями других авторов. Таким образом, можно однозначно подтвердить, что описанная нами схема введения ПТЗ является надёжной для вызова генерализованного (тонико-клонического) приступа у экспериментального животного. Однако, необходимо учитывать, что степень и характер проявлений может быть различен не только в пределах разных линий животных, но и у одного вида, что было продемонстрировано в таблице 1.

Характер морфологических изменений в II группе носил более «мягкий» характер, что по всей видимости, связано с меньшей дозой введения и тяжестью начальных приступов. Особенно стоит отметить тот факт, что при регулярном введении препарата количество «темных» нейронов у экспериментальных животных продолжало снижаться и на 5 сутки их количество оставалось незначительным, несмотря на то что у животных развился тонико-клонический приступ. Такие результаты свидетельствуют о том, что роль «темных» нейронов остается до конца неясной. На основе нашего сравнительного анализа можно с уверенностью сказать, что существует связь между эпилептическими припадками и формированием гиперхромных нейронов. Однако, четкой корреляции между дозой ПТЗ, клинической симптоматикой и морфологической характеристикой не выявлено. Для более подробного освещения этой темы необходимо продолжить изучение в этом направлении с применением молекулярно-генетических, иммуногистохимических и других специфических методов исследования.

Преимуществом нашего исследования является сравнительная оценка двух разных по характеру приступов в динамике, при которой мы можем четко проследить стадийность, как клинических проявлений, так и морфологических изменений, что несет в себе научную новизну, необходимую для дальнейшего изучения эпилепсии. Так же необходимо отметить, что мы впервые публикуем столь подробный анализ применения коразоловой модели у животных мышей линии СВА.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Морфологической особенностью эпилепсии является появление в гиппокампе «темных» нейронов, количество которых при остром приступе больше, чем при киндлинг-эффekte.

На основании обнаруженной клинко-морфологической картины пентилтетразол можно использовать для моделирования острого и хро-

нического приступа эпилепсии у мышей линии СВА.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors have no conflict of interests to declare.

ЛИТЕРАТУРА

1. Beghi E. The Epidemiology of Epilepsy. *Neuroepidemiology*. 2020;54(2):185-191. doi:10.1159/000503831.
2. Andrade-Machado R., Benjumea-Cuartas V., Santos-Santos A., Sosa-Dubón M. A., García-Espinosa A., Andrade-Gutierrez G. Mortality in patients with refractory temporal lobe epilepsy at a tertiary center in Cuba. *Epilepsy Behav*. 2015;53:154-160. doi:10.1016/j.yebeh.2015.08.038.
3. Akyuz E., Polat A. K., Eroglu E., Kullu I., Angelopoulou E., Paudel Y. N. Revisiting the role of neurotransmitters in epilepsy: An updated review. *Life Sci*. 2021;265:118826. doi:10.1016/j.lfs.2020.118826.
4. Löscher W. Animal Models of Seizures and Epilepsy: Past, Present, and Future Role for the Discovery of Antiseizure Drugs. *Neurochem Res*. 2017;42(7):1873-1888. doi:10.1007/s11064-017-2222-z.
5. Kandratavicius L., Balista P. A., Lopes-Aguiar C. Animal models of epilepsy: use and limitations. *Neuropsychiatr Dis Treat*. 2014;10:1693-1705. doi:10.2147/NDT.S50371
6. Shimada T., Yamagata K. Pentylentetrazole-Induced Kindling Mouse Model. *J Vis Exp JoVE*. 2018;(136):56573. doi:10.3791/56573.
7. Vasilev D. S., Tumanova N. L., Kim K. Kh. Transient Morphological Alterations in the Hippocampus After Pentylentetrazole-Induced Seizures in Rats. *Neurochem Res*. 2018;43(8):1671-1682. doi:10.1007/s11064-018-2583-y.
8. Löscher W. Critical review of current animal models of seizures and epilepsy used in the discovery and development of new antiepileptic drugs. *Seizure*. 2011;20(5):359-368. doi:10.1016/j.seizure.2011.01.003.
9. Grone B. P., Baraban S. C. Animal models in epilepsy research: legacies and new directions. *Nat Neurosci*. 2015;18(3):339-343. doi:10.1038/nn.3934.
10. Van Erum J., Van Dam D., De Deyn P. P. PTZ-induced seizures in mice require a revised Racine scale. *Epilepsy Behav*. 2019;95:51-55. doi:10.1016/j.yebeh.2019.02.029.
11. Zimatkin S. M., Bon' E. I. Dark Neurons of the Brain. *Neurosci Behav Physiol*. 2018;48(8):908-912. doi:10.1007/s11055-018-0648-7.
12. Ahmadpour S., Behrad A., Vega I. F. Dark Neurons: A protective mechanism or a mode of death. *J Med Histol*. 2019;3(2):125-131. doi:10.21608/jmh.2020.40221.1081.
13. Ooigawa H., Nawashiro H., Fukui S. The fate of Nissl-stained dark neurons following traumatic brain injury

in rats: difference between neocortex and hippocampus regarding survival rate. *Acta Neuropathol (Berl)*. 2006;112(4):471-481. doi:10.1007/s00401-006-0108-2.

14. Kostyaeva M. G., Kastyro I. V., Yunusov T. Yu. Protein p53 Expression and Dark Neurons in Rat Hippocampus after Experimental Septoplasty Simulation. *Mol Genet Microbiol Virol*. 2022;37(1):19-24. doi:10.3103/S0891416822010037.

REFERENCES

1. Beghi E. The Epidemiology of Epilepsy. *Neuroepidemiology*. 2020;54(2):185-191. doi:10.1159/000503831.

2. Andrade-Machado R., Benjumea-Cuartas V., Santos-Santos A., Sosa-Dubón M. A., García-Espinosa A., Andrade-Gutierrez G. Mortality in patients with refractory temporal lobe epilepsy at a tertiary center in Cuba. *Epilepsy Behav*. 2015;53:154-160. doi:10.1016/j.yebeh.2015.08.038.

3. Akyuz E., Polat A. K., Eroglu E., Kullu I., Angelopoulou E., Paudel Y. N. Revisiting the role of neurotransmitters in epilepsy: An updated review. *Life Sci*. 2021;265:118826. doi:10.1016/j.lfs.2020.118826.

4. Löscher W. Animal Models of Seizures and Epilepsy: Past, Present, and Future Role for the Discovery of Antiseizure Drugs. *Neurochem Res*. 2017;42(7):1873-1888. doi:10.1007/s11064-017-2222-z.

5. Kandratavicius L., Balista P. A., Lopes-Aguiar C. Animal models of epilepsy: use and limitations. *Neuropsychiatr Dis Treat*. 2014;10:1693-1705. doi:10.2147/NDT.S50371

6. Shimada T., Yamagata K. Pentylentetrazole-Induced Kindling Mouse Model. *J Vis Exp JoVE*. 2018;(136):56573. doi:10.3791/56573.

7. Vasilev D. S., Tumanova N. L., Kim K. Kh. Transient Morphological Alterations in the Hippocampus After Pentylentetrazole-Induced Seizures in Rats. *Neurochem Res*. 2018;43(8):1671-1682. doi:10.1007/s11064-018-2583-y.

8. Löscher W. Critical review of current animal models of seizures and epilepsy used in the discovery and development of new antiepileptic drugs. *Seizure*. 2011;20(5):359-368. doi:10.1016/j.seizure.2011.01.003.

9. Grone B. P., Baraban S. C. Animal models in epilepsy research: legacies and new directions. *Nat Neurosci*. 2015;18(3):339-343. doi:10.1038/nn.3934.

10. Van Erum J., Van Dam D., De Deyn P. P. PTZ-induced seizures in mice require a revised Racine scale. *Epilepsy Behav*. 2019;95:51-55. doi:10.1016/j.yebeh.2019.02.029.

11. Zimatkin S. M., Bon' E. I. Dark Neurons of the Brain. *Neurosci Behav Physiol*. 2018;48(8):908-912. doi:10.1007/s11055-018-0648-7.

12. Ahmadpour S., Behrad A., Vega I. F. Dark Neurons: A protective mechanism or a mode of death. *J Med Histol*. 2019;3(2):125-131. doi:10.21608/jmh.2020.40221.1081.

13. Ooigawa H., Nawashiro H., Fukui S. The fate of Nissl-stained dark neurons following traumatic brain injury in rats: difference between neocortex and hippocampus regarding survival rate. *Acta Neuropathol (Berl)*. 2006;112(4):471-481. doi:10.1007/s00401-006-0108-2.

14. Kostyaeva M. G., Kastyro I. V., Yunusov T. Yu. Protein p53 Expression and Dark Neurons in Rat Hippocampus after Experimental Septoplasty Simulation. *Mol Genet Microbiol Virol*. 2022;37(1):19-24. doi:10.3103/S0891416822010037.

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СПЕРМАТОГЕНЕЗА У ПАЦИЕНТОВ С COVID-19

Демяшкин Г. А.¹, Болдырев Д. В.², Ночной М. С.¹, Вадюхин М. А.¹, Щекин В. И.¹

¹ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), 119048, ул. Трубецкая, 8 стр.2, Москва, Россия

²ГБУЗ Городская клиническая больница имени В.П. Демихова Департамента здравоохранения города Москвы, Московский клинический центр инфекционных болезней «Вороновское», 109263, ул. Шкулева, 4, Москва, Россия

Для корреспонденции: Демяшкин Григорий Александрович, к.м.н., заведующий лабораторией гистологии и иммуногистохимии ИТМиБ Первого МГМУ им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет); e-mail: dr.dga@mail.ru

For correspondence: Grigory Demyashkin, PhD, Head of Department of Histology and Immunohistochemistry, ITM of I. M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), e-mail: dr.dga@mail.ru

Information about authors:

Demyashkin G. A., <https://orcid.org/0000-0001-8447-2600>

Boldyrev D. V., <https://orcid.org/0000-0002-4548-5430>

Nochnoy M. S., <https://orcid.org/0000-0003-0057-9561>

Vadyukhin M. A., <https://orcid.org/0000-0002-6235-1020>

Shchekin V. I., <https://orcid.org/0000-0003-3763-7454>

РЕЗЮМЕ

В феврале 2020 года ВОЗ была объявлена пандемия SARS-CoV-2. В настоящее время в мире зарегистрировано 219 млн. случаев этого заболевания и 4,5 млн. смертей. Согласно литературным данным, существуют прямые доказательства наличия патоморфологических изменений в яичках при некоторых вирусных инфекциях. Однако, большинство исследований проведены при малой выборке пациентов, а их результаты противоречивы. Цель исследования – морфологическая оценка сперматогенеза пациентов с подтвержденной COVID-19-инфекцией. Материал и методы. На основании клинических и морфологических данных были сформированы группы, каждая из которых включала подгруппы согласно возрастной периодизации: I – пациенты с COVID-19, ПЦР+ (n = 96; возрастом от 25 до 91 года); II – контроль (n = 20). Методом световой микроскопии рассчитывали следующие параметры: диаметр семенных извитых канальцев, толщину белочной оболочки яичка, высоту сперматогенного эпителия; количество сперматогенных клеток, клеток Сертоли и Лейдига. Результаты. При микроскопическом и морфометрическом анализе яичек во всех возрастных группах обнаружили признаки гипосперматогенеза различной степени выраженности, лимфоцитарно-плазмочитарную инфильтрацию, тромбозы мелких кровеносных сосудов. Заключение. Морфологические изменения в яичках у пациентов с COVID-19 указывают на потенциальное влияние SARS-CoV-2 на сперматогенез и гистоархитектонику, которые проявляются снижением количества сперматогенных клеток и развитием вирусного орхита. При этом, у мужчин пожилого и старческого возрастов данные изменения наиболее выражены.

Ключевые слова: яички, вирусный орхит, гипосперматогенез, SARS-CoV-2, COVID-19.

MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS OF SPERMATOGENESIS IN PATIENTS WITH COVID-19

Demyashkin G. A.¹, Boldyrev D. V.², Nochnoi M. S.¹, Vadyukhin M. A.¹, Shchekin V. I.¹

¹I. M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia

²Moscow Department of Health V.P. Demikhov Hospital, Moscow, Russia

SUMMARY

In February 2020, WHO declared SARS-CoV-2 a pandemic. Currently, 219 million cases of this disease and 4.5 million deaths have been registered in the world. According to the literature, there is direct evidence of the presence of pathomorphological changes in the testicles in some viral infections. However, most of the studies were conducted with a small sample of patients, and their results are conflicting. The purpose of the study was to morphologically assess spermatogenesis in patients with confirmed COVID-19 infection. Material and methods. Based on clinical and morphological data, groups were formed, each of which included subgroups according to age periodization: I – patients with COVID-19, PCR+ (n = 96; aged 25 to 91 years); II – control (n = 20). The following parameters were calculated by light microscopy: the diameter of the seminiferous tubules, the thickness of the albuginea of the testis, the height of the germinal epithelium; the number of germ cells, Sertoli cells and Leydig cells. Results. Microscopic and morphometric analysis of the testicles in all age groups revealed signs of hypospermatogenesis of varying severity, lymphocytic-plasmacytic infiltration, thrombosis of small blood vessels. Conclusion. Morphological changes in the testicles of patients with COVID-19 indicate the potential impact of SARS-CoV-2 on spermatogenesis and histoarchitecture, which is manifested by a decrease in the number of germ cells and the development of viral orchitis. At the same time, in men of elderly age, these changes are most pronounced.

Key words: testicles, viral orchitis, hypospermatogenesis, SARS-CoV-2, COVID-19.

Первые случаи заболевания COVID-19, вызываемые вирусом SARS-CoV-2, были зарегистрированы в декабре 2019 года в Китае [1], а в феврале 2020 года ВОЗ была объявлена пандемия SARS-CoV-2. В настоящее время в мире зарегистрировано 219 млн. случаев заболевания и 4,5 млн. смертей [2].

Согласно литературным данным, существуют прямые доказательства наличия патоморфологических изменений в яичках при некоторых вирусных инфекциях [3; 4]. При исследовании пациентов, перенесших SARS-CoV-инфекцию в 2002 году, обнаружили вирусный орхит, который характеризуется поражением мужских сперматогенных клеток (вплоть до их апоптоза), склерозом базальной мембраны и воспалительной инфильтрацией интерстициальной ткани [5]. Аналогичные структурно-функциональные изменения в яичках были выявлены и при новой SARS-CoV-2-инфекции. При TUNEL анализе отмечается увеличение количества апоптотических клеток, CD3+ Т-лимфоцитов, CD20+ В-лимфоцитов, CD138+ плазматических, CD68+ макрофагов в интерстициальной ткани [6]. Эти данные указывают на то, что SARS-CoV-2 может вызвать вторичное аутоиммунное воспаление, которое является одним из звеньев патогенеза вирусного орхита, приводящего к поражению яичек и нарушению сперматогенеза [7; 8].

Однако, большинство исследований проведены при малой выборке пациентов, а их результаты противоречивы. В связи с этим, вопрос влияния COVID-19 на мужскую репродуктивную систему остаётся открытым [9]. Особый интерес представляет изучение влияния SARS-CoV-2 на сперматогенез в разных возрастных группах, в первую очередь у молодых.

Для того, чтобы пролить свет на эту проблему впервые была собрана когорта пациентов с подтвержденной COVID-19-инфекцией для изучения основных морфологических изменений паренхимы и стромального компонента яичек в ответ на инфекционный процесс, а также выявления вероятных различий в нарушении сперматогенеза в зависимости от возраста.

Цель исследования – морфологическая оценка сперматогенеза пациентов с подтвержденной COVID-19-инфекцией.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Дизайн эксперимента. На основании анамнестических, клинических и морфологических данных были сформированы группы, каждая из которых включала подгруппы согласно возрастной периодизации ВОЗ (табл. 1).

I группа (n = 96; возраст 25 – 91 лет, средний возраст – 59 лет). Причина смерти: коронавирусная инфекция, вызванная вирусом SARS-CoV-2

Таблица 1

Распределение по группам, согласно возрастной периодизация мужчин (ВОЗ, 2014 г.).

Возраст	Подгруппа	n	Возраст	Подгруппа	n
25 – 44 (молодой)	I – COVID-19	9	61 – 75 (пожилой)	I – COVID-19	43
	II – контроль	5		II – контроль	5
45 – 60 (средний)	I – COVID-19	17	76 – 90 (старческий); > 90 (долгожители)	I – COVID-19	21/6
	II – контроль	5		II – контроль	5

(ПЦР+), с развитием двусторонней тотальной пневмонии смешанного генеза. Течение заболевания осложнилось острым респираторным дистресс синдромом взрослых (диффузное альвеолярное повреждение) и полиорганной недостаточностью, что и явилось непосредственной причиной смерти.

II группа (n = 20) – аутопаты нормальных яичек, полученные не позднее 6 часов после констатации биологической смерти, без макроскопических признаков наличия воспалительного и/или опухолевого процесса, все пациенты этой подгруппы родили по крайней мере одного ребенка и ранее не подвергались воздействию токсических веществ. Причинами смерти у мужчин пожилого и старческого возрастов чаще были по-

стинфарктный кардиосклероз или хроническая ишемия головного мозга, у средней возрастной группы – язва желудка с прободением и/или кровотечением, панкреатит, обструктивный пиелонефрит, аневризмы различной локализации, а у молодых – врождённые пороки развития не мочевыделительной и половой систем. SARS-CoV-2, ПЦР – отрицательная.

Критерии исключения: эпидемический паротит, бесплодие, сепсис, бактериальная инфекция, ВИЧ, вирусные гепатиты В и С, вирус Эпштейна-Барр, атеросклероз, гипертоническая болезнь, сахарный диабет, эндокринные заболевания, ожирение, хронический алкоголизм, наркомания.

Морфологическое исследование. После извлечения оценивали внешний вид яичек и состояние

паренхимы на разрезе, взвешивали (в граммах) и измеряли. Затем нарезали параллельно сагитальной плоскости каждые 2 мм, фиксировали в формалине, после проводки (аппарат гистологической проводки тканей, «Leica Biosystems», Германия) заливали в парафиновые блоки, из которых готовили серийные срезы (толщиной 3 мкм), депарафинировали, дегидратировали и окрашивали гематоксилином и эозином для гистологического исследования.

Морфологический и морфометрический анализ проводили в 10-ти случайно выбранных полях зрения микроскопа при увеличении $\times 400$ в 5-ти рандомных срезах с каждого образца. Цифровые изображения гистологических срезов (отсканированные препараты) для морфометрических исследований получали с помощью системы видео-микроскопии (микроскоп Leica DM3000, Германия; камера DFC450 C; компьютер Platrun LG) и программного обеспечения для обработки и анализа изображений Leica Application Suite (LAS) Version 4.9.0. В каждом из полей рассчитывали следующие параметры: диаметр семенных извитых канальцев, толщину белочной оболочки яичка, высоту сперматогенного эпителия; количество сперматогенных клеток (подсчёт ядер сперматогоний, сперматоцитов, округлых сперматид), клеток Сертоли и Лейдига.

Оценку воспалительной инфильтрации проводили, используя полуколичественную шкалу, по 3-балльной системе с подсчетом количества иммунокомпетентных клеток в 10 случайно отобранных полях зрения светового микроскопа при увеличении $\times 400$: «1/+» слабая (2 – 5 клеток), «2/++» умеренная (6 – 15 клеток), «3/+++» выраженная (16 – 25 клеток).

Оценку сперматогенного эпителия проводили с использованием критериев S.G. Johansen и модифицированную De Kretser and Holstein, согласно рекомендациям Европейского урологического общества [10]. Средний балл рассчитывали в 10-ти полях зрения микроскопа, при увеличении $\times 400$.

По одному препарату от каждого случая окрашивали с использованием гистохимического метода по Гимзе для идентификации иммунокомпетентных клеток.

Статистический анализ. Полученные в результате подсчёта данные обрабатывали с использованием компьютерной программы SPSS 12.0 for Windows statistical software package (IBM Analytics, США). При этом определяли вариационные ряды, среднюю арифметическую, среднее квадратическое отклонения, среднюю ошибку и вероятность различия. Затем оценивали соответствие/несоответствие полученных

результатов нормальному распределению с применением критерия Колмагорова–Смирнова. При статистической обработке для оценки достоверности различий средних значений между группами использовались следующие непараметрические критерии: U-критерий Манна-Уитни, H-критерий Краскала-Уоллеса. При отсутствии нормального распределения данных использовали непараметрический критерий F. Wilcoxon (Statistical methods for research workers) с уровнем значимости $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Вес и макроскопическое строение яичек у пациентов с COVID-19 не отличалось от значений контрольной группы. Аутопсии яичек были выполнены с целью выявления причины и степени поражения сперматогенеза при одновременном исключении обструкции семенных протоков.

Сравнительная морфологическая характеристика яичек с установленным патологоанатомическим основным диагнозом коронавирусная инфекция (COVID-19+, ПЦР+) и нормой.

При микроскопическом анализе яичек разных возрастных групп выявили следующие нарушения гистоархитектоники: снижение количества сперматогенных клеток (табл. 2), которые на большом протяжении отслаивались от базальной мембраны и заполняли просвет (десквамация и конгломерация); сперматозоиды – отсутствуют. Клетки Сертоли сохранены у большинства пациентов, отсутствуют лишь у некоторых мужчин старческого возраста. Базальная мембрана семенных извитых канальцев утолщена и разрыхлена (табл. 2) (рис. 1).

При оценке по С. Джонсену (JS) у пациентов всех возрастных групп диагностировали гипосперматогенез различной степени выраженности (в семенных извитых канальцах располагаются сперматогонии и разрушенные сперматоциты, JS – 5 баллов), блок созревания с фокусами субтотальной аплазии сперматогенных клеток (единичные сперматогонии, JS – 3 балла); Сертоли-клеточный синдром, JS – 2 балла; тубулярную аплазию канальцев, JS – 1 балл (табл. 3).

Также во всех исследуемых случаях выявили гиперплазию клеток Лейдига. В большинстве микропрепаратов отмечали утолщение интерстициального компонента, выраженный отек. Во всех образцах межканальцевых пространств обнаружена выраженная воспалительная инфильтрация: большое количество плазмоцитов, тучных клеток и лимфоцитов, а также единичные нейтрофилы. Кроме того, отмечали другие признаки воспаления – обильные внутрисосудистые тромбозы и эндотелииты. Таким образом, преобладание в образцах иммунокомпетентных

Таблица 2

Количественная характеристика сперматогенеза у пациентов с COVID-19.

возраст (лет)	количество пациентов	диаметр канальца (мкм)	толщина белочной оболочки (мкм)	клетки Сертоли	сперматогонии	сперматозоиды	сперматиды (Sa+Sb)*	сперматиды (Sc+Sd)*
25-44 (контроль)	9	160±8	9,2±0,9	10,0±0,3	19±0,5	25±0,4	33±1,0	21±0,6
45-60	17	158±7	9,4±1,1	10,1±0,7	18±0,9	25±1,0	31±1,9	17±1,0
61-75	43	154±10	11,6±1,3	9,2±0,5	17±1,0	23±0,8	27±2,0	6±0,3
76-90	21	121±10	13,6±1,5	8,6±0,7	13±0,7	20±1,1	19±1,5	4±0,6
>90	6	92±9	17,4±2,0	7,3±1,0	8±0,2	12±0,9	11±2,0	2±0,5

Примечание: Средние значения параметров, определяемых в поперечных срезах извитых канальцев; $p < 0,05$. * Sa, Sb, Sc, Sd – сперматиды на разных стадиях сперматогенеза.

Таблица 3.

Оценка сперматогенного эпителия по шкале С. Джонсона, в баллах.

Возраст	Подгруппа	по шкале С. Джонсона	Возраст	Подгруппа	по шкале С. Джонсона
25 – 44 (молодой)	I – COVID-19	6 – 7	61 – 75 (пожилой)	I – COVID-19	4 – 6
	II – контроль	9 – 10		II – контроль	9 – 10
45 – 60 (средний)	I – COVID-19	6 – 7	76 – 90 (старческий); > 90 (долгожители)	I – COVID-19	1 – 3
	II – контроль	9 – 10		II – контроль	9 – 10

клеток лимфоцитарного ряда (от 15 до 25 в поле зрения) свидетельствует о вирусной природе орхита. Просветы кровеносных сосудов были полнокровными, местами с признаками тромбообразования, отмечали выраженную метахромазию внутренней оболочки. Лимфатические сосуды расширены, их просветы содержат большое количество белка (рис. 1).

ОБСУЖДЕНИЕ

Настоящее исследование показывает, что у пациентов разных возрастов с COVID-19 наблюдаются поражения яичек воспалительного характера и кровеносных сосудов с признаками ишемии [11].

Воздействие SARS-CoV-2 приводит к нарушению сперматогенеза (гипосперматогенез), который опосредованно усугубляется вирусным орхитом.

Выявленные морфологические изменения образцов яичек у пациентов с подтвержденной коронавирусной инфекцией очень схожи с таковыми при паротите, который осложняется орхитом в 1 из 3 случаев [12]. Предполагается, что фокальная аплазия семенных извитых канальцев при коронавирусной инфекции также

является морфологическим проявлением индуцированного вирусом иммунного воспаления, которое в ряде случаев может способствовать гиподисфункции сперматогенеза, особенно у лиц старше 70 лет, что было выявлено в ходе нашего исследования. Высота сперматогенного эпителия у SARS-CoV-2-положительных пациентов после 70 лет ниже в среднем на 34% относительно контрольной группы, однако у пациентов средней возрастной категории данный показатель не превышал 5%. Десквамация и отслойка базальной мембраны семенных извитых канальцев можно связать с нарушением трофики гематотестикулярного барьера на фоне ишемии кровеносных сосудов и тромбообразования.

О вирусной природе орхита свидетельствует преобладание в образцах I группы иммунокомпетентных клеток лимфоидного ряда [13].

В основе механизма развития патологического процесса лежит первичное опосредованное АПФ-2 повреждающее воздействие вируса SARS-CoV-2 на ткань яичка, усугубляемое развитием синдрома высвобождения цитокинов и приводящее к выраженному отеку и дистрофии сперматогенных клеток [14; 15; 16]. Избыточная продукция интерлейкина-6, как основного меди-

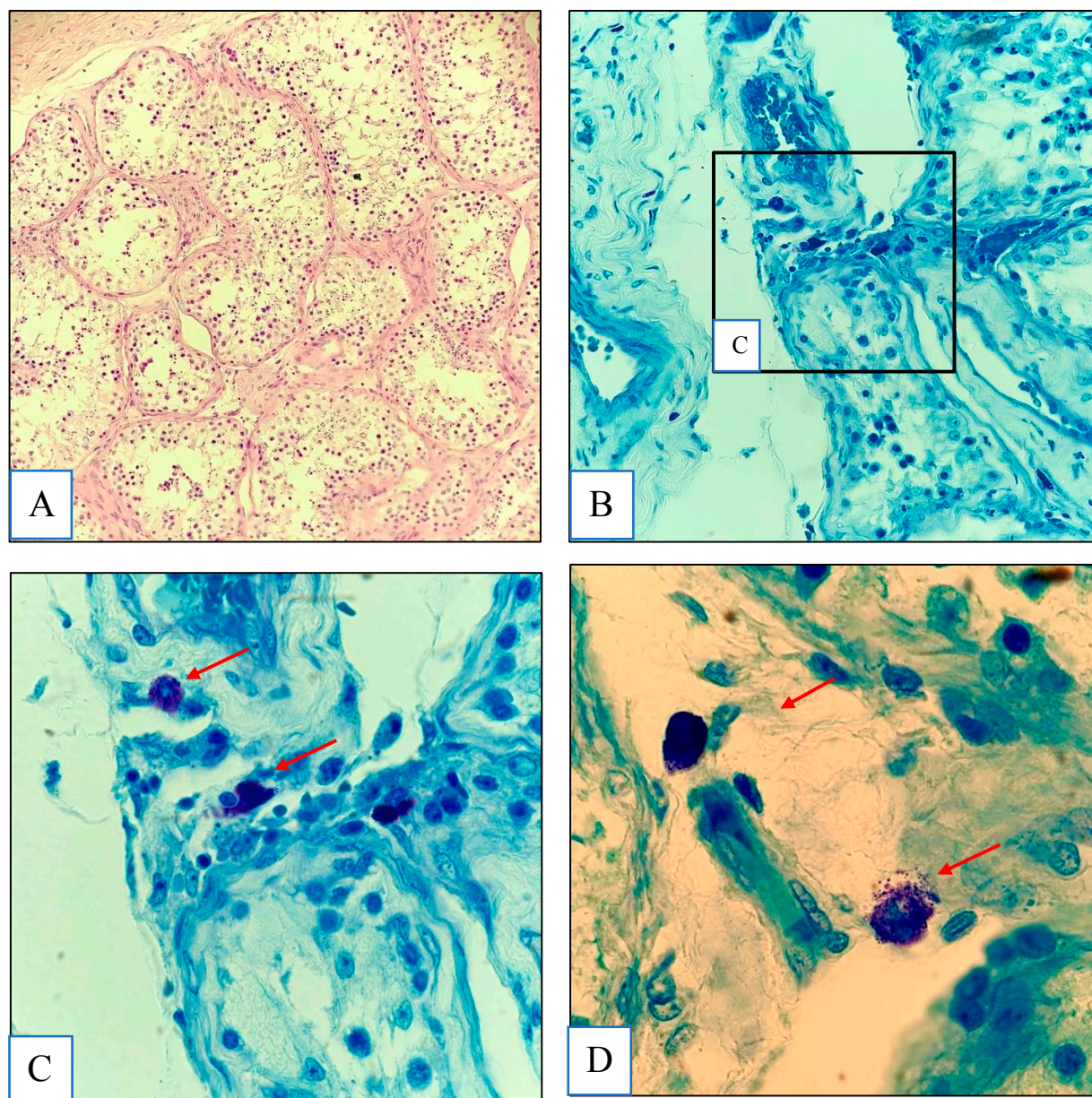


Рисунок 1. Микроскопическая картина яичек пациента В., 43 года. А – выраженная дезорганизация сперматогенного эпителия и его очаговая десквамация, о чем свидетельствует расположение сперматогенных клеток в адлюминальном отсеке семенных извитых канальцев; гипосперматогенез, окраска – гематоксилином и эозином, увелич. $\times 100$; В, С, D – миграция тучных клеток с их дегрануляцией (стрелки), окраска по Романовскому-Гимзе, увелич. $\times 100$, $\times 400$, $\times 1000$.

атора цитокинового «шторма», может вызвать повреждение базальной мембраны семенных извитых канальцев вследствие аутоиммунной реакции и, как следствие, нарушение проницаемости гематотестикулярного барьера. Если вирусный орхит носит односторонний характер, что маловероятно при коронавирусной инфекции, со временем может произойти нарушение сперматогенеза и в нормальном яичке в связи с началом выработки аутоантител к антигенам на поверхности сперматогенных клеток.

Двукратное увеличение числа клеток Лейдига в аутоптатах I группы в свою очередь происходит по компенсаторному механизму на фоне нейроиммунного воспаления. Подавление интерферонами андрогенсинтезирующей функции клеток Лейдига по принципу отрицательной обратной связи стимулирует выработку лютеинизирующего гормона передней долей гипофиза, что и приводит к их гиперплазии [17].

Несмотря на схожую морфологическую картину, воспаление яичек при свинке характерно

для 15 – 40% мужчин постпубертатного периода через неделю после перенесенного паротита, к тому же поражение чаще носит односторонний характер (в 70% случаев). В свою очередь, ассоциированный с COVID-19 орхит – двусторонний, а средний возраст пациентов превышает 55 лет [18]. Следует обратить внимание на то, что наше исследование впервые позволяет сделать заключение о связи возраста больного COVID-19 с тяжестью вирусного орхита и последующим снижением фертильности, не исключая физиологический гипосперматогеenez.

Патоморфологические изменения кровеносных сосудов, такие как, гиперемия, отёк эндотелия и фибриновые тромбы, более вероятно являются проявлениями системного поражения SARS-CoV-2 (гипоксемия, гиперкоагуляция и тромбообразование, присоединение вторичной инфекции) [19].

Предметом дальнейших исследований может служить возможное отсутствие корреляции между степенью экспрессии АПФ-2 (в зависимости от возраста) и вероятностью развития орхита при коронавирусной инфекции, так как по результатам исследования в каждом из аутопатов COVID-19-положительных пациентов были обнаружены исчерпывающие признаки вирусного воспаления [20].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Морфологические изменения в яичках у пациентов с COVID-19 указывают на потенциальное влияние SARS-CoV-2 на сперматогеenez и гистоархитектонику, которые проявляются в снижении количества сперматогенных клеток и развитием вирусного орхита. При этом у мужчин пожилого и старческого возрастов данные изменения наиболее выражены.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors have no conflict of interests to declare.

ЛИТЕРАТУРА

1. Chaolin H. Y., Wang X., Li Huang C., Wang Y., Li X., Ren L., Zhao J., Hu Y. et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet*. 2020;395(10223):497–506. doi:10.1016/S0140-6736(20)30183-5.
2. Cereda D., Tirani M., Rovida F., Demicheli V., Ajelli M., Poletti P. et al. The early phase of the COVID-19 outbreak in Lombardy, Italy. *Epidemics*. 2021;37:100528. doi: 10.1016/j.epidem.2021.100528.
3. Lardone M., Piottante A., Valdevenito R. Histological and hormonal testicular function in oligo/azoospermic infertile men. *Andrologia*. 2013;45(1):379–85. doi: 10.1111/and.12026.
4. Xixiang M., Chuhuai G., Rong Ch., Yunyun W., Shenglei F., Shenglei F. et al. Pathological and molecular examinations of postmortem testis biopsies reveal SARS-CoV-2 infection in the testis and spermatogenesis damage in COVID-19 patients. *Cellular Molecular Immunology*. 2021;14(12):487–9. doi:10.1038/s41423-020-00604-5.
5. Xu J., Qi L., Chi X., Yang J., Wei X., Yang J. et al. Orchitis: A complication of severe acute respiratory syndrome (SARS). *Biol Reprod*. 2006;74(1):410–6. doi: 10.1095/biolreprod.105.044776.
6. Ming Y., Shuo C., Bo H., Jing-Min Z., Hua S., Ya-Jun C. et al. Pathological Findings in the Testes of COVID-19 Patients: Clinical Implications. 2020;15(9):1124–9. doi: 10.1016/j.euf.2020.05.009.
7. Rong Li, Tailang Y., Fang F., Qin Li, Jiao C., Yixin W. et al. Potential risks of SARS-CoV-2 infection on reproductive health. *Reprod Biomed Online*. 2020;41(1):89–95. doi: 10.1016/j.rbmo.2020.04.018.
8. Yanfei H., Jie W., Junlin R., Yubo Z., Jing C., Xuejiao C. et al. Effect of COVID-19 on Male Reproductive System – A Systematic Review. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2021;12(1):677–701. doi:10.3389/fendo.2021.677701.
9. Achua J., Chu K., Ibrahim E., Khodamoradi K., Delma K., Iakymenko O. et al. Histopathology and Ultrastructural Findings of Fatal COVID-19 Infections on Testis. *J Mens Health*. 2021;39(1):65–74. doi:10.5534/wjmh.200170.
10. Johnsen S. G. Testicular biopsy score count – a method for registration of spermatogenesis in human testis: normal values and results in 335 hypogonadal males. *Hormones*. 1970;1(1):2–25. doi:10.1159/000178170.
11. Abdel-Moneim A. COVID-19 Pandemic and Male Fertility: Clinical manifestations and pathogenic mechanisms. *Biochemistry*. 2021;86(4):389–96. doi: 10.1134/S0006297921040015.
12. Rubin S., Eckhaus M., Rennick L., Bamford C., Duprex P. Molecular biology, pathogenesis and pathology of mumps virus. *J Pathol*. 2015;235(2):242–52. doi: 10.1002/path.4445.
13. Roychoudhury S., Das A., Jha N., Kesari K., Roychoudhury S., Jha S. et al. Viral pathogenesis of SARS-CoV-2 infection and male reproductive health. *Open Biol*. 2021;11(1):200–347. doi: 10.1098/rsob.200347.
14. Hoffmann M., Kleine-Weber H., Schroeder S., Krüger N., Herrler T., Erichsen S. et al. SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor. *Cell*. 2020;181(2):271–80. doi: 10.1016/j.cell.2020.02.052.
15. Hoffmann M., Kleine-Weber H., Krüger N. The novel coronavirus 2019 (2019-nCoV)

- uses the SARS-coronavirus receptor ACE2 and the cellular protease TMPRSS2 for entry into target cells. *BioRxiv*. 2020;31(1). doi: 10.1016/j.cell.2020.02.052.
16. Fan C., Li K., Ding Y., Lu W., Wang J. ACE2 Expression in kidney and testis may cause kidney and testis damage after 2019-nCoV infection. *MedRxiv*. 2020;13(2). doi: 10.3389/fmed.2020.563893.
17. Wang Z., Xu X. scRNA-seq Profiling of Human Testes Reveals the Presence of ACE2 Receptor, a Target for SARS-CoV-2 Infection, in Spermatogonia, Leydig and Sertoli Cells. *Preprints*. 2020;9(4):920. doi: 10.3390/cells9040920.
18. Lai C. C., Shih T. P., Ko W. C., Tang H. J., Hsueh P. R. Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) and coronavirus disease-2019 (COVID-19): The epidemic and the challenges. *J Antimicrob Agents*. 2020;55(3):105–924. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2020.105924.
19. Maccio U., Zinkernagel A., Shambat S., Zeng Xi, Cathomas G., Ruschitzka F. et al. SARS-CoV-2 leads to a small vessel endotheliitis in the heart. *EBioMedicine*. 2021;63(1):103–82. doi: 10.1016/j.ebiom.2020.103182.
20. Beyerstedt S., Casaro E., Rangel E. COVID-19: angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) expression and tissue susceptibility to SARS-CoV-2 infection. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2021;40(5):905–19. doi: 10.1007/s10096-020-04138-6.
- ### REFERENCES
1. Chaolin H. Y., Wang X., Li Huang C., Wang Y., Li X., Ren L., Zhao J., Hu Y. et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet*. 2020;395(10223):497–506. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30183-5.
2. Cereda D., Tirani M., Rovida F., Demicheli V., Ajelli M., Poletti P. et al. The early phase of the COVID-19 outbreak in Lombardy, Italy. *Epidemics*. 2021;37:100528. doi: 10.1016/j.epidem.2021.100528.
3. Lardone M., Piottante A., Valdevenito R. Histological and hormonal testicular function in oligo/azoospermic infertile men. *Andrologia*. 2013;45(1):379–85. doi: 10.1111/and.12026.
4. Xixiang M., Chuhuai G., Rong Ch., Yunyun W., Shenglei F., Shenglei F. et al. Pathological and molecular examinations of postmortem testis biopsies reveal SARS-CoV-2 infection in the testis and spermatogenesis damage in COVID-19 patients. *Cellular Molecular Immunology*. 2021;14(12):487–9. doi: 10.1038/s41423-020-00604-5.
5. Xu J., Qi L., Chi X., Yang J., Wei X., Yang J. et al. Orchitis: A complication of severe acute respiratory syndrome (SARS). *Biol Reprod*. 2006;74(1):410–6. doi: 10.1095/biolreprod.105.044776.
6. Ming Y., Shuo C., Bo H., Jing-Min Z., Hua S., Ya-Jun C. et al. Pathological Findings in the Testes of COVID-19 Patients: Clinical Implications. 2020;15(9):1124–9. doi: 10.1016/j.euf.2020.05.009.
7. Rong Li, Tailang Y., Fang F., Qin Li, Jiao C., Yixin W. et al. Potential risks of SARS-Cov-2 infection on reproductive health. *Reprod Biomed Online*. 2020;41(1):89–95. doi: 10.1016/j.rbmo.2020.04.018.
8. Yanfei H., Jie W., Junlin R., Yubo Z., Jing C., Xuejiao C. et al. Effect of COVID-19 on Male Reproductive System – A Systematic Review. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2021;12(1):677–701. doi: 10.3389/fendo.2021.677701.
9. Achua J., Chu K., Ibrahim E., Khodamoradi K., Delma K., Iakymenko O. et al. Histopathology and Ultrastructural Findings of Fatal COVID-19 Infections on Testis. *J Mens Health*. 2021;39(1):65–74. doi: 10.5534/wjmh.200170.
10. Johnsen S. G. Testicular biopsy score count – a method for registration of spermatogenesis in human testis: normal values and results in 335 hypogonadal males. *Hormones*. 1970;1(1):2–25. doi: 10.1159/000178170.
11. Abdel-Moneim A. COVID-19 Pandemic and Male Fertility: Clinical manifestations and pathogenic mechanisms. *Biochemistry*. 2021;86(4):389–96. doi: 10.1134/S0006297921040015.
12. Rubin S., Eckhaus M., Rennick L., Bamford C., Duprex P. Molecular biology, pathogenesis and pathology of mumps virus. *J Pathol*. 2015;235(2):242–52. doi: 10.1002/path.4445.
13. Roychoudhury S., Das A., Jha N., Kesari K., Roychoudhury S., Jha S. et al. Viral pathogenesis of SARS-CoV-2 infection and male reproductive health. *Open Biol*. 2021;11(1):200–347. doi: 10.1098/rsob.200347.
14. Hoffmann M., Kleine-Weber H., Schroeder S., Krüger N., Herrler T., Erichsen S. et al. SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor. *Cell*. 2020;181(2):271–80. doi: 10.1016/j.cell.2020.02.052.
15. Hoffmann M., Kleine-Weber H., Krüger N. The novel coronavirus 2019 (2019-nCoV) uses the SARS-coronavirus receptor ACE2 and the cellular protease TMPRSS2 for entry into target cells. *BioRxiv*. 2020;31(1). doi: 10.1016/j.cell.2020.02.052.
16. Fan C., Li K., Ding Y., Lu W., Wang J. ACE2 Expression in kidney and testis may cause kidney and testis damage after 2019-nCoV infection. *MedRxiv*. 2020;13(2). doi: 10.3389/fmed.2020.563893.

17. Wang Z., Xu X. scRNA-seq Profiling of Human Testes Reveals the Presence of ACE2 Receptor, a Target for SARS-CoV-2 Infection, in Spermatogonia, Leydig and Sertoli Cells. Preprints. 2020;9(4):920. doi: 10.3390/cells9040920.

18. Lai C. C., Shih T. P., Ko W. C., Tang H. J., Hsueh P. R. Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) and coronavirus disease-2019 (COVID-19): The epidemic and the challenges. *J Antimicrob Agents*. 2020;55(3):105–924. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2020.105924.

19. Maccio U., Zinkernagel A., Shambat S., Zeng Xi, Cathomas G., Ruschitzka F. et al. SARS-CoV-2 leads to a small vessel endotheliitis in the heart. *EBioMedicine*. 2021;63(1):103–82. doi: 10.1016/j.ebiom.2020.103182.

20. Beyerstedt S., Casaro E., Rangel E. COVID-19: angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) expression and tissue susceptibility to SARS-CoV-2 infection. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2021;40(5):905–19. doi: 10.1007/s10096-020-04138-6.

УДК: 618.173-053.7:612.015.6+616-003.261-008.222:159.96 DOI: 10.29039/2224-6444-2022-12-3-28-34

УРОВНИ ВИТАМИНА D У ЖЕНЩИН ПОСТМЕНОПАУЗАЛЬНОГО ВОЗРАСТА СО СТРЕССОВОЙ ФОРМОЙ НЕДЕРЖАНИЯ МОЧИ

Игнатенко Г. А.¹, Резниченко Н. А.², Геворкян Р. Р.³, Румянцева З. С.², Майлян Э. А.¹,Ткаченко К. Е.¹¹ГОО ВПО «Донецкий национальный медицинский университет имени М. Горького», 283003, проспект Ильича, 16, Донецк²Институт «Медицинская академия имени С. И. Георгиевского» ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», 295051, бульвар Ленина, 5/7, Симферополь, Россия³ГБУЗ РК «Республиканская клиническая больница им. Н. А. Семашко», 295017, улица Киевская, 69, Симферополь, Россия

Для корреспонденции: Майлян Эдуард Апетнакович, доктор медицинских наук, заведующий кафедрой микробиологии, вирусологии, иммунологии и аллергологии ГОО ВПО «Донецкий Национальный Медицинский Университет имени М. Горького», e-mail: eduardmailyan095@gmail.com

For correspondence: Maylyan Eduard Apetnakovich, MD, Head of the Department of Microbiology, Virology, Immunology and Allergology of M. Gorky Donetsk National Medical University, e-mail: eduardmailyan095@gmail.com

Information about authors:

Ignatenko G. A., <https://orcid.org/0000-0003-3611-1186>Reznichenko N. A., <https://orcid.org/0000-0003-3396-1046>Gevorkyan R. R., <https://orcid.org/0000-0001-6281-4104>Rumyantseva Z. S., <https://orcid.org/0000-0002-1711-021X>Maylyan E. A., <http://orcid.org/0000-0003-2845-7750>Tkachenko K. E., <https://orcid.org/0000-0003-0816-5339>

РЕЗЮМЕ

Целью работы было исследование уровней витамина D у женщин постменопаузального возраста со стрессовым недержанием мочи (СНМ) и выявление связей данного показателя с выраженностью клинических проявлений инконтиненции. Всего было обследовано 150 женщин в постменопаузе, страдающих СНМ. Группу контроля составили 57 относительно здоровых женщин аналогичного возраста. Всем пациентам исследовали сывороточные концентрации витамина D. Степень выраженности отдельных клинических проявлений недержания мочи и их влияние на качество жизни больных оценивали на основании данных основного и дополнительного опросника для оценки недержания мочи – соответственно The Overactive Bladder Questionnaire Short Form (OAB q SF) и The Overactive Bladder Questionnaire (OAB q). Установлено, что женщины постклимактерического возраста характеризуются низкими сывороточными уровнями витамина D вне зависимости от наличия у них симптомов СНМ ($p > 0,05$). Выявлены отрицательные корреляционные связи ($p < 0,05$) между выраженностью отдельных клинических проявлений СНМ (1 вопрос по данным опросника OAB q SF и 4 вопроса по данным опросника OAB q) и сывороточным содержанием витамина D. Установлена отрицательная корреляционная зависимость ($p < 0,05$) между балльной оценкой ухудшения качества жизни женщин, страдающих СНМ (сумма баллов дополнительного опросника OAB q), и сывороточным содержанием витамина D. Полученные данные отражают важную роль недостаточности витамина D в нарастании симптомов СНМ и связанном с ним снижением качества жизни больных. Результаты проведенных исследований могут быть использованы для разработки персонализированных схем лечебно-профилактических мероприятий у женщин постклимактерического возраста с СНМ.

Ключевые слова: стрессовое недержание мочи, витамин D, постменопауза.

VITAMIN D LEVELS IN POST-MENOPAUSAL WOMEN WITH STRESS URINARY INCONTINENCE

Ignatenko G. A.¹, Reznichenko N. A.², Gevorkyan R. R.³, Rumyantseva Z. S.², Maylyan E. A.¹, Tkachenko K. E.¹¹Donetsk National Medical University named after M. Gorky, Donetsk²Institute «Medical Academy named after S. I. Georgievsky» of Vernadsky CFU, Simferopol, Russia³Republican Clinical Hospital named after N. A. Semashko, Simferopol, Russia

SUMMARY

The aim of the work was to study the levels of vitamin D in postmenopausal women with stress urinary incontinence (SUI), and to identify the relationship of this marker with the severity of incontinence clinical manifestations.

A total of 150 postmenopausal women with SUI were examined. The control group consisted of 57 relatively healthy women of the same age. Serum concentrations of vitamin D were measured in all patients. The severity of individual clinical manifestations of urinary incontinence and their impact on the quality of patients life were assessed on the basis of data from The Overactive Bladder Questionnaire Short Form (OAB-q SF) and The Overactive Bladder Questionnaire (OAB-q). It was found that postmenopausal women are characterized by low serum levels of vitamin D, regardless of the presence of SUI symptoms ($p>0.05$). There were negative correlations ($p<0.05$) between the severity of individual clinical manifestations of SUI (1 question according to the OAB-q SF and 4 questions according to the OAB-q) and serum vitamin D levels. A negative correlation was established ($p<0, 05$) between the deterioration score in the quality of life of women suffering from SUI (the sum of the points of the OAB-q) and serum vitamin D levels. The data obtained reflect the important role of vitamin D deficiency in the increase in symptoms of SUI and the associated decrease in the quality of patients life. The results of the conducted studies can be used to develop personalized schemes of therapeutic and preventive measures in postmenopausal women with SUI.

Key words: stress urinary incontinence, vitamin D, postmenopause.

Недержание мочи (НМ) или инконтиненция представляет собой произвольное выделение мочи из наружного отверстия мочеиспускательного канала [1] и является важной гигиенической и социальной проблемой для человека. Наиболее распространенным типом инконтиненции является стрессовое недержание мочи (СНМ), на долю которого приходится от 50% до 88% всех типов НМ. СНМ обусловлено ослаблением мышц тазового дна и дисфункцией сложных мышечно-связочно-кожно-фасциальных взаимодействий [2].

СНМ возникает в периоды повышения внутрибрюшного давления (например, при чихании, кашле или физической нагрузке), когда внутрипузырное давление поднимается выше, чем давление, которое может выдержать механизм закрытия уретры, что приводит к потере мочи. В основном СНМ наблюдается у женщин в репродуктивной возрастной группе и в постменопаузе, достигая пика на пятом десятилетии. К факторам риска СНМ относят возраст женщин, ожирение, диабет, уровень образования, число родов, гипертонию, курение, перенесенные инфекции мочевыводящих путей, а также менопаузу [3]. Период менопаузального перехода является критическим отрезком в жизни женщины, и неизбежно сопровождается рядом метаболических изменений, влияющих на общее состояние здоровья [4].

Среди возможных причин развития СНМ обращает на себя внимание дефицит витамина D. Биологическая роль вышеуказанного витамина не ограничивается только лишь регуляцией костного метаболизма. Научные исследования последних двух десятилетий существенно расширили наши представления о роли витамина D в организме человека [5-8]. Установлено, что дефицит витамина ассоциируется с повышением риска и более тяжелым течением сердечно-сосудистой патологии, онкологических, аутоиммунных, аллергических, эндокринных заболеваний. Низкая насыщенность организма человека витамином способствует увеличению показателей

как общей смертности, так и летальности от сердечно-сосудистой патологии, онкопатологии и заболеваний органов дыхания.

Считается, что среди пожилого населения удельный вес лиц с дефицитом витамина D достигает 50-100% [9]. Поскольку рецепторы витамина D присутствуют в мышечной ткани человека, включая поперечно-полосатые мышцы тазового дна, уретерий и мышечную ткань детрузора мочевого пузыря [10; 11], объяснение непосредственного влияния витамина D на физиологию мышц тазового дна физиологически оправдано. Вполне вероятно, что низкий статус витамина D может способствовать снижению мышечной силы и развитию различных расстройств тазового дна, в том числе инконтиненции. Вместе с тем немногочисленные данные проведенных ранее исследований о роли вышеуказанного витамина в формировании СНМ противоречивы и, как правило, отражают результаты, полученные при изучении разнородных выборок – как по возрастному составу, так и по гинекологическому статусу обследованных пациентов.

Цель настоящего исследования – оценить уровни витамина D у женщин постменопаузального возраста с СНМ и изучить связи данного показателя с выраженностью клинических проявлений недержания мочи.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Всего при выполнении работы было обследовано 207 женщин в постменопаузальном периоде. Группу исследования составили 150 женщин с впервые выявленным СНМ, преимущественно средней степени тяжести. В группу контроля вошли 57 женщин аналогичного возраста, не имеющих симптомов недержания мочи.

Критерии включения в исследование: женский пол, постменопауза (стойкое отсутствие менструаций сроком минимум 12 месяцев), стрессовое недержание мочи, письменное добровольное информированное согласие пациента.

Критерии исключения: наличие других форм недержания мочи (ургентное, смешанное и др.),

инфекций мочевыводящих путей, сопутствующей патологии нижних мочевыводящих путей и органов малого таза (травмы спинного мозга, последствия хирургических вмешательств, опухоли, урогенитальные свищи и др.), аутоиммунной, эндокринной патологии, метаболических расстройств; хронических заболеваний почек и печени; онкологических, гематологических и психических заболеваний; хронических воспалительных заболеваний (неспецифический язвенный колит и др.); прием гормональных препаратов, витамина D и иммунодепрессантов (глюкокортикоиды и др.).

Клиническое исследование включало изучение выраженности отдельных клинических проявлений недержания мочи с помощью основного опросника для оценки недержания мочи «The Overactive Bladder Questionnaire Short Form» (OAB q SF), включающего 6 вопросов. Также пациентам был предложен дополнительный опросник для оценки недержания мочи The Overactive Bladder Questionnaire (OAB-q), состоящий из 13 вопросов и нацеленный на оценку качества жизни женщин за последние 4 недели [12].

Все женщины, входящие в группу исследования и группу контроля, были обследованы лабораторно. В утренних образцах сыворотки периферической крови определяли концентрации 25(OH)D с помощью иммуноферментных тест-систем производства «DRG Instruments GmbH» (Германия), обладающих аналитической чувствительностью 2,89 нг/мл и диапазоном измерений 2,9-130 нг/мл. Учет результатов осуществляли при помощи иммуноферментного анализатора «LabLine-022» (LABLINE Diagnostics, Австрия). Нормальными показателями насыщенности витамином D считали значения 30 нг/мл и более. Уровни 25(OH)D от 20 до <30 нг/мл классифицировались как недостаточность витамина D, от 10 до <20 нг/мл соответствовали умеренному дефициту, менее 10 нг/мл – тяжелому дефициту витамина D.

Статистическую обработку полученных результатов выполняли на персональном компьютере с помощью электронных таблиц «Microsoft Excel» и пакета прикладных программ «MedStat». Поскольку характер распределения выборок был отличным от нормального, статистический анализ осуществляли с применением непараметрических методов. Описательная статистика включала расчет медианы (Me), 25% и 75% квартилей [Q1; Q3]. Для сравнения центральных тенденций двух независимых выборок использовали U-тест Манна-Уитни. Для корреляционного анализа производили расчет коэффициента ранговой корреляции Спирмена (rs). Сравнения доли проводили с помощью

критерия χ^2 (анализ таблиц сопряженности – таблицы k×m) и углового преобразования Фишера с учетом поправки Йейтса. Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Проведение сравнительного анализа центральных тенденций уровней 25(OH)D в сыворотке крови показало отсутствие статистически значимых различий ($p > 0,05$) между значениями показателя в основной и контрольной группах (рис. 1).

Так, содержание витамина D в сыворотке крови женщин постменопаузального возраста с СНМ составило 18,36 [13,85; 23,21] нг/мл. Значения сывороточного показателя 25(OH)D в контрольной группе относительно здоровых женщин составили 19,34 [15,43; 24,19] нг/мл.

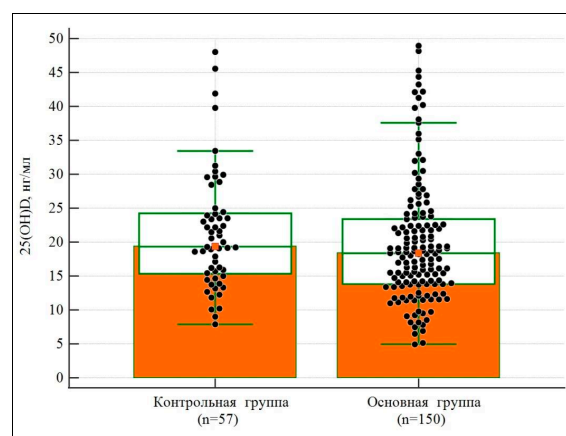


Рис. 1. Уровни витамина D в сыворотке крови у женщин постменопаузального возраста со стрессовым недержанием мочи

Наряду с вышеизложенным анализом насыщенности витамином D женщин постменопаузального возраста, имеющих СНМ, была выполнена оценка у пациентов также и структуры выявленных значений 25(OH)D в сыворотке крови. В таблице 1 представлена частота регистрации у обследованных женщин обеих групп нормальных уровней вышеуказанного витамина, его недостаточности, умеренного и тяжелого дефицита. Полученные данные свидетельствуют об отсутствии различий в структуре значений витамина D у пациентов с СНМ и в контрольной группе ($p > 0,05$).

Следует отметить низкий процент регистрации нормальных концентраций 25(OH)D, как у больных стрессовым недержанием мочи (в 12,7% случаев), так и среди относительно здоровых женщин (в 12,3% случаев). При этом у обследованных обеих групп была отмечена одинаково высокая частота дефицита витамина D (менее 20 нг/мл). В основной группе дефицит

Таблица 1

Частота регистрации различных уровней 25(ОН)D в сыворотке крови у женщин постменопаузального возраста со стрессовым недержанием мочи

Уровень 25(ОН)D в сыворотке	Контрольная группа (n=57)		Основная группа (n=150)		p
	Количество	%	Количество	%	
Норма (30 нг/мл и более)	7	12,3	19	12,7	0,873
Недостаточность (от 20 до <30 нг/мл)	20	35,1	39	26,0	0,273
Умеренный дефицит (от 10 до <20 нг/мл)	28	49,1	78	52,0	0,834
Тяжелый дефицит (<10 нг/мл)	2	3,5	14	9,3	0,232

витамина определялся у 61,3% лиц, а в контрольной – у 52,6% ($p>0,05$).

Изучение корреляционных связей между уровнем витамина D у женщин с СНМ и полученными баллами по основному опроснику для оценки недержания мочи OAB-q SF позволило установить наличие отрицательной корреляционной зависимости ($rs=-0,349$; $p<0,05$) между сывороточным содержанием 25(ОН)D и дискомфортом, связанным с непроизвольными выделениями небольшого количества мочи (3-й вопрос основного опросника OAB q SF).

Также выявлены отрицательные ассоциации между содержанием в сыворотке крови 25(ОН)D и выраженностью отдельных симптомов СНМ, определяемых по дополнительному опроснику OAB-q. Так, у женщин постменопаузального возраста с СНМ установлена отрицательная корреляция ($rs=-0,457$; $p<0,05$) между сывороточным уровнем витамина D и баллами полученными ими за ответ на 1-й вопрос дополнительного опросника «Вы вынуждены планировать, как быстро дойти до туалета в общественных местах?». Аналогичная отрицательная корреляционная зависимость была выявлена между сывороточным уровнем витамина D и баллами, полученными женщинами с СНМ при ответе на 2-й вопрос дополнительного опросника «Вы чувствовали, что с Вами что-то не в порядке?» ($rs=-0,366$; $p<0,05$). Кроме того, обнаружена отрицательная корреляция ($rs=-0,233$; $p<0,05$) между сывороточной концентрацией витамина D и чувством неудовлетворенности от ночного сна (3-й вопрос дополнительного опросника). Также проведенный корреляционный анализ у женщин постменопаузального возраста с СНМ позволил выявить отрицательную корреляционную зависимость ($rs=-0,340$; $p<0,05$) между содержанием в сыворотке крови 25(ОН)D и необходимостью избегать любой деятельности, при которой недоступен туалет (5-й вопрос дополнительного опросника).

Обращает на себя внимание устойчивый отрицательный характер корреляционных зависи-

мостей между сывороточными концентрациями витамина D и выраженностью клинических признаков СНМ у женщин в постменопаузе. Проведение корреляционного анализа между уровнем витамина D в сыворотке крови и суммой баллов по дополнительному опроснику OAB-q также установило наличие обратной корреляционной связи ($rs=-0,352$; $p<0,05$) между исследуемыми показателями, что подтверждает роль недостаточности и дефицита витамина D в патогенезе симптомов СНМ у женщин постклимактерического возраста.

ОБСУЖДЕНИЕ

Таким образом, нами уставлено, что у женщин в постменопаузальном периоде как у больных СНМ, так и у относительно здоровых, редко регистрируются нормальные значения витамина D в сыворотке крови (в 12,7% и в 12,3% случаев соответственно). При этом более чем у половины женщин в обеих группах зафиксировано наличие дефицита витамина D (менее 20 нг/мл). Полученные нами данные полностью отражают общемировые тенденции чрезвычайно высокой распространенности дефицита витамина D среди лиц пожилого возраста [9]. В исследовании, проведенном в Индии, показано, что частота дефицита витамина D среди женщин, страдающих СНМ, составляет 75% [11]. А работа, выполненная в США, включавшая 394 женщины с расстройствами тазового дна, выявила наличие дефицита витамина D у 51% обследованных женщин [10]. Следует отметить, что в нашем исследовании более высокий процент дефицита сывороточного содержания 25(ОН)D все же был отмечен в основной группе – 61,3%, против 52,6% в группе контроля, хотя данные различия и не были статистически значимы ($p>0,05$).

Нами также не было выявлено достоверных различий в средних уровнях витамина D между группой больных СНМ и группой контроля, что совпадает с данными некоторых исследований, свидетельствующих об отсутствии связи низ-

кого уровня витамина D в сыворотке и недержанием мочи у женщин среднего и пожилого возраста [13; 14]. Интересно отметить, что полученные нами результаты не только качественно, но и количественно схожи с данными Корейского Национального исследования 2008–2009 гг., посвященном оценке состояния здоровья и питания. Так, средние уровни витамина D в данной работе составили $18,4 \pm 6,6$ нг/мл в группе женщин с НМ против $18,5 \pm 7,0$ нг/мл в группе контроля ($p=0,752$). Кроме того, аналогично полученным нами данным, в Корейском исследовании не было выявлено достоверной разницы и в структуре выявленных значений 25(OH)D в сыворотке крови в зависимости от наличия у женщин НМ ($p=0,107$) [13]. Полученные нами результаты об уровнях витамина D согласуются и с результатами обследования женщин постменопаузального возраста, проживающих в Донбасском регионе [15]. Так, значения в сыворотке крови 25(OH)D у пациентов с постменопаузальным остеопорозом составили $20,8$ [15,0; 28,7] нг/мл, а в контрольной группе – $18,5$ [12,8; 24,4] нг/мл.

В то же время, результаты большинства ранее проведенных исследований указывают на наличие связи между низкими показателями витамина D и развитием симптомов НМ у женщин. Систематический анализ 23 исследований, включавший 86 332 участников, показал, что у пациентов с недостаточностью витамина D вероятность появления симптомов со стороны нижних мочевыводящих путей, включая НМ, была выше в $1,37$ – $2,06$ раза по сравнению с лицами, имеющими нормальные показатели витамина D. Кроме того, у пациентов с симптомами со стороны нижних мочевых путей уровень витамина D был достоверно ниже [16].

В другом ретроспективном исследовании с участием 394 женщин было показано, что женщины с расстройствами тазового дна, в том числе СНМ, имели значительно более низкие уровни витамина D, чем женщины контрольной группы ($p<0,001$). Также авторами было продемонстрировано, что недостаток витамина D может сопровождаться снижением способности контролировать НМ при стрессовой его форме и снижением эффективности подавления позывов при ургентной форме [10]. Перекрестный анализ данных обследования 1 041 небеременных женщин старше 50 лет, посвященный изучению связей уровня витамина D с нарушениями тазового дна, установил, что женщины с сывороточными концентрациями витамина D менее 30 нг/мл страдали недержанием мочи достоверно чаще, чем женщины с нормальным уровнем витамина ($25,7\%$ против $14,0\%$, при $p<0,05$). Средние

уровни витамина D у женщин, имеющих хотя бы одно заболевание тазового дна, и у женщин с недержанием мочи, были значительно ниже по сравнению с группой контроля вне зависимости от возраста. Особого внимания заслуживает тот факт, что у женщин в возрасте 50 лет и старше с нормальными уровнями витамина D (30 нг/мл и выше) отношение шансов развития НМ было достоверно ниже [17]. Эти данные косвенно указывают на потенциально протективную роль витамина D в отношении симптомов НМ у женщин старшей возрастной категории.

Несмотря на то, что нами не было выявлено достоверных различий в сывороточных уровнях 25(OH)D между женщинами с СНМ и группой контроля, проведенный нами корреляционный анализ все же подтвердил роль дефицита витамина D в развитии симптомов СНМ у женщин климактерического возраста. Так, выявлены отрицательные корреляционные связи между уровнем витамина D и выраженностью ряда клинических симптомов СНМ (r_s = от $-0,233$ до $-0,457$; при $p<0,05$). Также оценка коэффициента корреляции между уровнем витамина D и суммой баллов по дополнительному опроснику OAB-q ($r_s=-0,352$; $p<0,05$) подтвердила негативное влияние низких значений 25(OH)D на качество жизни женщин больных СНМ. Нами найдены единичные работы, в которых для оценки роли витамина D в развитии СНМ авторами также были использованы данные опросников. Вместе с тем, авторы данных исследований получили результаты аналогичные нашим собственным. В одном из исследований пациентам была предложена краткая форма Опросника по оценке влияния недержания мочи (Incontinence Impact questionnaire-7, IIQ-7). Было показано, что более высокие баллы IIQ-7 были независимо связаны с недостаточностью/дефицитом витамина D ($p<0,001$), что позволило авторам работы сделать выводы о связи недостатка витамина D с большим влиянием недержания мочи на качество жизни [10]. В другой работе, где для оценки тяжести СНМ был использован Индекс тяжести недержания мочи (Incontinence Severity Index, ISI), было отмечено, что средние уровни витамина D снижаются по мере увеличения тяжести СНМ ($19,18$ нг/мл при умеренном, $16,96$ нг/мл при тяжелом и $13,60$ нг/мл при очень тяжелом СНМ), однако эти данные не были статистически значимы ($p=0,62$), что, вероятнее всего, связано с малым объемом выборок – всего в исследование вошло 40 женщин [11].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, установлено, что женщины постменопаузального возраста, имеющие СНМ,

существенно не отличаются сывороточными уровнями 25(ОН)D от условно здоровых женщин контрольной группы (18,36 [13,85; 23,21] нг/мл против 19,34 [15,43; 24,19] нг/мл; $p > 0,05$). При этом частота дефицита витамина D чрезвычайно высокая и составляет 61,3% в группе женщин с СНМ и 52,6% в группе контроля ($p > 0,05$). Выявлены отрицательные корреляционные связи ($p < 0,05$) между выраженностью отдельных клинических проявлений СНМ (1 вопрос по данным опросника ОАВ q SF и 4 вопроса по данным опросника ОАВ q) и сывороточным содержанием 25(ОН)D. Также установлена отрицательная корреляционная зависимость ($p < 0,05$) между суммой баллов дополнительного опросника ОАВ q и уровнем 25(ОН)D. Полученные данные отражают важную роль дефицита витамина D в нарастании симптомов СНМ и связанном с ним снижением качества жизни больных. Результаты проведенных исследований могут быть использованы для разработки персонализированных схем лечебно-профилактических мероприятий у женщин постменопаузального возраста с СНМ.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of Interests. The authors declare that there is no conflict of interests.

ЛИТЕРАТУРА

1. Касян Г. Р., Гвоздев М. Ю., Конопляников А. Г., Пушкарь Д. Ю. Недержание мочи у женщин: методические рекомендации №4. Москва: АБВ-пресс; 2017.
2. Hrycyna M., Strupińska-Thor E. Ćwiczenia wzmacniające mięśnie dna miednicy mniejszej u kobiet z wysiłkowym nietrzymaniem moczu. *Zeszyty Naukowe WSKFiT*. 2016;11:21–28.
3. Batmani S., Jalali R., Mohammadi M., Bokaee S. Prevalence and factors related to urinary incontinence in older adults women worldwide: a comprehensive systematic review and meta-analysis of observational studies. *BMC Geriatr*. 2021;21(1):212. doi:10.1186/s12877-021-02135-8.
4. Зуйкова А. А., Добрынина И. С., Ханина Е. А. Особенности синдрома недержания мочи у женщин по результатам амбулаторного обследования. *Научно-медицинский вестник Центрального Черноземья*. 2018;74:33–39.
5. Поворознюк В. В., Резниченко Н. А., Майлян Э. А. Основные экстраклетные эффекты витамина D. *Проблемы остеологии*. 2014;17(3):22–28.
6. Майлян Э. А., Резниченко Н. А., Майлян Д. Э. Роль витамина D в регуляции противоинфекционного иммунитета. *Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины*. 2016;6(4):75–82.
7. Майлян Э. А. Ассоциации полиморфизма 283 A>G (BSMI) гена рецептора витамина D с остеопорозом у женщин в зависимости от длительности постменопаузы. *Научные ведомости Белгородского государственного университета. Медицина. Фармация*. 2017;38(12):12–21.
8. Майлян Э. А., Резниченко Н. А., Майлян Д. Э. Экстраклетные эффекты витамина D: роль в патогенезе аллергических заболеваний. *Научные ведомости Белгородского государственного университета. Медицина. Фармация*. 2017; 37(5):22–32.
9. Hernigou P., Sitbon J., Dubory A., Auregan J. C. Vitamin D history part III: the «modern times»-new questions for orthopaedic practice: deficiency, cell therapy, osteomalacia, fractures, supplementation, infections. *Int Orthop*. 2019;43(7):1755–1771. doi:10.1007/s00264-019-04334-w.
10. Parker-Autry C. Y., Markland A. D., Ballard A. C., Downs-Gunn D., Richter H. E. Vitamin D status in women with pelvic floor disorder symptoms. *Int Urogynecol J*. 2012;23(12):1699–1705. doi:10.1007/s00192-012-1700-8.
11. Sharma J. B., Kakkad V., Kumar S., Roy K. K. Cross-sectional Study on Vitamin D Levels in Stress Urinary Incontinence in Women in a Tertiary Referral Center in India. *Indian J Endocrinol Metab*. 2019;23(6):623–627. doi:10.4103/ijem.IJEM_531_19.
12. Российское общество урологов, Общероссийская общественная организация «Российская ассоциация геронтологов и гериатров». Недержание мочи: клинические рекомендации. М.: Издательство Перо; 2021.
13. Lee H. S., Lee J. H. Vitamin D and Urinary Incontinence among Korean Women: a Propensity Score-matched Analysis from the 2008–2009 Korean National Health and Nutrition Examination Survey. *J Korean Med Sci*. 2017;32(4):661–665. doi:10.3346/jkms.2017.32.4.661.
14. Markland A. D., Vaughan C., Huang A., Tangpricha V., Grodstein F. Vitamin D intake and the 10-year risk of urgency urinary incontinence in women. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2020;199:105601. doi:10.1016/j.jsbmb.2020.105601.
15. Майлян Э. А., Игнатенко Г. А., Резниченко Н. А. Уровни гормонов и маркеров костного обмена при постменопаузальном остеопорозе. *Медико-социальные проблемы семьи*. 2018;23(1):41–48.
16. Yuan P., Wang T., Li H., Lan R., Li M., Liu J. Systematic Review and Meta-Analysis of the Association between Vitamin D Status and Lower

Urinary Tract Symptoms. *J Urol*. 2021;205(6):1584–1594. doi:10.1097/JU.0000000000001441.

17. Badalian S. S., Rosenbaum P. F. Vitamin D and pelvic floor disorders in women: results from the National Health and Nutrition Examination Survey. *Obstet Gynecol*. 2010;115(4):795–803. doi:10.1097/AOG.0b013e3181d34806.

REFERENCES

1. Kasyan G. R., Gvozdev M. Yu., Konoplyannikov A. G., Pushkar' D. Yu. Urinary incontinence in women: guidelines No. 4. Moscow: ABV-press; 2017. (In Russ.).

2. Hrycyna M., Strupińska-Thor E. Ćwiczenia wzmacniające mięśnie dna miednicy mniejszej u kobiet z wysiłkowym nietrzymaniem moczu. *Zeszyty Naukowe WSKFiT*. 2016;11:21–28.

3. Batmani S., Jalali R., Mohammadi M., Bokae S. Prevalence and factors related to urinary incontinence in older adults women worldwide: a comprehensive systematic review and meta-analysis of observational studies. *BMC Geriatr*. 2021;21(1):212. doi:10.1186/s12877-021-02135-8

4. Zuykova A. A., Dobrynina I. S., Khanina E. A. Peculiarities of urinary incontinence syndrome in women according to the results of an outpatient examination. *Nauchno-meditsinskiy vestnik Tsentral'nogo Chernozem'ya*. 2018;74:33–39. (In Russ.).

5. Povoroznyuk V. V., Reznichenko N. A., Maylyan E. A. Main extraskeletal effects of vitamin D. *Problems of osteology*. 2014;17(3):22–28. (In Russ.).

6. Maylyan E. A., Reznichenko N. A., Maylyan D. E. The role of vitamin D in the regulation of anti-infective immunity. *Crimean Journal of Experimental and Clinical Medicine*. 2016;6(4):75–82. (In Russ.).

7. Maylyan E. A. Associations of polymorphism 283 A>G (BSMI) of the vitamin D receptor gene with osteoporosis in women depending on the duration of postmenopause. *Belgorod State University Scientific Bulletin. Medicine. Pharmacy*. 2017;38(12):12–21. (In Russ.).

8. Maylyan E. A., Reznichenko N. A., Maylyan D. E. Extraskeletal effects of vitamin D: role in the pathogenesis of allergic diseases. *Belgorod State University Scientific Bulletin. Medicine. Pharmacy*. 2017; 37(5):22–32. (In Russ.).

9. Hernigou P., Sitbon J., Dubory A., Auregan J. C. Vitamin D history part III: the «modern times»-new questions for orthopaedic practice: deficiency, cell therapy, osteomalacia, fractures, supplementation, infections. *Int Orthop*. 2019;43(7):1755–1771. doi:10.1007/s00264-019-04334-w.

10. Parker-Autry C. Y., Markland A. D., Ballard A. C., Downs-Gunn D., Richter H. E. Vitamin D status in women with pelvic floor disorder symptoms. *Int Urogynecol J*. 2012;23(12):1699–1705. doi:10.1007/s00192-012-1700-8.

11. Sharma J. B., Kakkad V., Kumar S., Roy K. K. Cross-sectional Study on Vitamin D Levels in Stress Urinary Incontinence in Women in a Tertiary Referral Center in India. *Indian J Endocrinol Metab*. 2019;23(6):623–627. doi:10.4103/ijem.IJEM_531_19.

12. Russian Society of Urologists, All-Russian Public Organization «Russian Association of Gerontologists and Geriatricians». Urinary incontinence: clinical guidelines. Moscow: Izdatel'stvo Pero; 2021. (In Russ.).

13. Lee H. S., Lee J. H. Vitamin D and Urinary Incontinence among Korean Women: a Propensity Score-matched Analysis from the 2008-2009 Korean National Health and Nutrition Examination Survey. *J Korean Med Sci*. 2017;32(4):661–665. doi:10.3346/jkms.2017.32.4.661.

14. Markland A. D., Vaughan C., Huang A., Tangpricha V., Grodstein F. Vitamin D intake and the 10-year risk of urgency urinary incontinence in women. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2020;199:105601. doi:10.1016/j.jsbmb.2020.105601.

15. Maylyan E. A., Ignatenko G. A., Reznichenko N. A. Levels of hormones and markers of bone metabolism in postmenopausal osteoporosis. Medical and social problems of family. 2018;23(1):41–48. (In Russ.).

16. Yuan P., Wang T., Li H., Lan R., Li M., Liu J. Systematic Review and Meta-Analysis of the Association between Vitamin D Status and Lower Urinary Tract Symptoms. *J Urol*. 2021;205(6):1584–1594. doi:10.1097/JU.0000000000001441.

17. Badalian S. S., Rosenbaum P. F. Vitamin D and pelvic floor disorders in women: results from the National Health and Nutrition Examination Survey. *Obstet Gynecol*. 2010;115(4):795–803. doi:10.1097/AOG.0b013e3181d34806.

УДК 611-018:611.778:611.91+611.9

DOI: 10.29039/2224-6444-2022-12-3-35-40

СОДЕРЖАНИЕ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК В СТРУКТУРАХ БИОПТАТОВ РЕГЕНЕРИРУЮЩЕЙ ИШЕМИЗИРОВАННОЙ РАНЫ КОЖИ С ТРАНСПЛАНТИРОВАННЫМИ ГЕТЕРОФИБРОБЛАСТАМИ И ФИЛЛЕРОМ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНОЙ ГИАЛУРОНОВОЙ КИСЛОТОЙ ПОД ВЛИЯНИЕМ ВЫДЕЛЯЕМОГО ИХ КЛЕТКАМИ ХЕМОАТТРАКТАНТА SDF-1

Кузьминов В. И.¹, Шаповалова Е. Ю.¹, Миронов В. А.³, Барановский Ю. Г.², Бойко Т. А.¹,

Барановский А. Г.²

¹Кафедра гистологии и эмбриологии, ²кафедра хирургии №2, Институт «Медицинская академия имени С.И. Георгиевского» ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», 295051, бульвар Ленина 5/7, Симферополь, Россия

³ФГБУ «НМИЦ ТО им. Н.Н. Приорова» Минздрава России, 127299, ул. Приорова, д. 10, Москва, Россия

Для корреспонденции: Шаповалова Елена Юрьевна, профессор, зав. кафедрой гистологии и эмбриологии института «Медицинская академия имени С.И. Георгиевского» ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского», e-mail: Shapovalova_L@mail.ru

For correspondence: Shapovalova Yelena Yur'evna, Professor, Head of the Department of Histology and Embryology, Institute «Medical Academy named after S.I. Georgievsky» of Vernadsky CFU, e-mail: Shapovalova_L@mail.ru

Information about authors:

Kuzminov D. N., <http://orcid.org/0000-0002-3691-5531>

Shapovalova Ye. Yu., <http://orcid.org/0000-0003-2544-7696>;

Mironov V. A., <http://orcid.org/0000-0003-1229-2170>;

Baranovsky Y. G., <http://orcid.org/0000-0002-7044-1122>;

Boyko T. A., <http://orcid.org/0000-0002-9627-4051>;

Baranovsky A. G., <http://orcid.org/0000-0001-6995-3975>

РЕЗЮМЕ

Клетки поврежденных тканей секретируют Stromal-derived factor-1 (SDF-1), являющийся хемоаттрактантом для мезенхимных стволовых клеток (МСК) с рецептором CXCR4 на поверхности. Целью исследования было изучение экспрессии SDF-1и содержания CD34+ МСК в биоптатах регенерирующей модельной ишемизированной раны кожи после трансплантации низкомолекулярной гиалуроновой кислоты (НГК) и дермальных аллофибробластов. Исследование выполнено на 71 белой половозрелой мыши линии С57/В1 в возрасте 5-7 месяцев, которые были разделены на контрольную группу (КГ) и экспериментальную группу (ЭГ). В обеих группах формировали модельную ишемизированную рану. Для трансплантации использовали 2% НГК в сочетании с 1,33 млн клеток аллофибробластов. Наличие SDF-1 и CD34-положительных клеток определяли иммуногистохимическим методом. Получено, что в биоптатах на 4-е сутки после трансплантации тканеинженерной конструкции индекс SDF-1-позитивных клеток в эпидермисе и дерме выше по сравнению с контролем, что привлекает МСК. Однако индекс SDF-1+ клеток в дальнейшем растет медленнее, не достигая значений в КГ, и раньше начинает снижаться (к 12-м суткам в эпидермисе и 10-м суткам в грануляционной ткани). Аналогичную динамику демонстрирует индекс МСК. Присутствие ГК в межклеточном веществе свойственно не поврежденной ткани, это тормозит продукцию SDF-1, которая привлекает меньше МСК. Вероятно, трансплантированные фибробласты и вслед за ними эпидермоциты сами активно делятся без привлечения МСК и обеспечивают заживление раны на 16,94% раньше, чем в контроле.

Ключевые слова: регенеративная медицина, ишемизированная рана кожи, аллофибробласты, мезенхимные стволовые клетки, Stromal-derived factor-1, низкомолекулярная гиалуроновая кислота.

CONTENT OF STEM CELLS IN THE STRUCTURES OF BIOPATES OF A REGENERATING ISCHEMISE SKIN WOUND WITH TRANSPLANTED HETEROFIBROBLASTS AND A LOW MOLECULAR HYALURONIC ACID FILLER UNDER THE INFLUENCE OF THE SDF-1 CHEMOATTRACTANT RELEASED BY THEIR CELLS

Kuzminov D. N.¹, Shapovalova Ye. Yu.¹, Mironov V. A.², Baranovsky Y. G.¹, Boyko T. A.¹, Baranovsky A. G.¹

¹Institution «Medical Academy named after S.I. Georgievsky» of Vernadsky CFU, Simferopol, Russia

²Priorov CITO, Moscow, Russia

SUMMARY

Damaged tissue cells secrete Stromal-derived factor-1 (SDF-1), which is a chemoattractant for mesenchymal stem cells (MSCs) with the CXCR4 receptor on the surface. The aim of the study was to study the expression of SDF-1 and

the content of CD34+ MSCs in biopsy specimens of a regenerating model ischemic skin wound after transplantation of low molecular weight hyaluronic acid (LHA) and dermal allofibroblasts. The study was performed on 71 white mature mice of the C57/B1 line at the age of 5-7 months, which were divided into the control group (CG) and the experimental group (EG). In both groups, a model ischemic wound was formed. For transplantation, 2% NGK was used in combination with 1.33 million allofibroblast cells. The presence of SDF-1 and CD34-positive cells was determined by immunohistochemistry. It was found that the index of SDF-1-positive cells in the epidermis and dermis in biopsy specimens on the 4th day after transplantation of the tissue-engineered construct is higher compared to the control, which attracts MSCs. However, the index of SDF-1+ cells subsequently grows more slowly, not reaching values in CG, and begins to decrease earlier (by day 12 in the epidermis and by day 10 in the granulation tissue). A similar trend is demonstrated by the MSC index. The presence of LHA in the intercellular substance is characteristic of intact tissue; this inhibits the production of SDF-1, which attracts fewer MSCs. It is likely that transplanted fibroblasts and, following them, epidermocytes themselves actively divide without attracting MSCs and ensure wound healing 16.94% earlier than in control.

Key words: regenerative medicine, ischemic skin wound, allofibroblasts, mesenchymal stem cells, Stromal-derived factor-1, low molecular weight hyaluronic acid.

Хронические раны кожи у стареющего населения на фоне гемодинамических проблем, увеличения числа случаев, как сахарного диабета, так и ожирения становятся глобальной проблемой здравоохранения. Несмотря на возросшую распространенность, современные традиционные методы лечения имеют ограниченную эффективность для ускорения закрытия раны и содействия заживлению [1]. В случае повреждения кожи заживление ран происходит в три перекрывающиеся стадии: воспаление, пролиферация и ремоделирование [2]. При хронизации процесса заживления возможно одновременное присутствие признаков всех трех стадий. Клетки дермы кожи фибробласты имеют решающее значение во всех трех фазах, секретировав компоненты внеклеточного матрикса, ремоделируя внеклеточный матрикс и сокращая рану [3]. Фибробласты используются в регенеративной медицине, являясь основными клетками заменителей кожи, созданных на основе клеточных технологий. В основе заменителей кожи могут выступать компоненты межклеточного вещества, такие как низкомолекулярная гиалуроновая кислота (НГК), создающие микроокружение для фибробластов. Она представляет собой неразветвленный гликозаминогликан, состоящий из повторяющихся дисахаридных звеньев N-ацетил-D-глюкозамина и D-глюкуроновой кислоты и является несulfатированным гликозаминогликаном межклеточного вещества соединительной ткани. НГК участвует во многих ключевых процессах, включая передачу сигналов клетками, репарацию ран, регенерацию тканей, морфогенез, организацию матрикса и обладает уникальными физико-химическими свойствами, такими как биосовместимость, биоразлагаемость, мукоадгезивность, гигроскопичность и вязкоупругость [4]. Молекулярная масса и обстоятельства синтеза / деградации являются ключевыми факторами, определяющими биологическое действие ГК [5]. Гиалуронан с высокой молекулярной массой и с низкой молекулярной массой демонстрируют противоположные эффекты [6].

Клетки кожных ран выделяют стромальный фактор-1 (SDF-1, также известный как CXCL12), являющийся одним из хемоаттрактантов для мезенхимальных стволовых клеток (МСК), имеющих СХС хемокиновый рецептор 4 (CXCR4) на поверхности и связывающийся с SDF-1 [7]. МСК представляют собой важный источник для восстановления поврежденных тканей, как на животных моделях, так и в клинических испытаниях на людях [8]. Миграция МСК к целевому участку имеет решающее значение в регенеративной медицине [9]. Сведения об экспрессии клетками SDF-1, а также присутствии МСК в тканях регенерирующих кожных дефектов на фоне ишемии после трансплантации конструкта из НГК и дермальных аллофибробластов отсутствуют, тем самым обуславливая актуальность проведенного исследования.

Целью исследования было изучение экспрессии Stromal-derived factor-1 (SDF-1) и содержания МСК в тканях кожного дефекта в условиях недостаточности кровоснабжения и трансплантации тканеинженерной конструкции из НГК и аллогенных фибробластов.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В основу работы положено изучение заживления ишемизированной кожной раны у 87 особей взрослых молодых мышей линии C57/B1, родившихся и живущих в обычных условиях вивария Крымского федерального университета имени В.И. Вернадского. Работа выполнена в рамках протокола (номер 6 от 10 мая 2018 г.), утвержденного этической комиссией Крымского федерального университета. Грызуны были сгруппированы в контроль (К) и основную группу (ОГ). Распределение животных по срокам заживления кожного дефекта расписано в таблице 1 (таблица 1). Эксперименты проводились с учетом всех принципов гуманности, включенных в Директиву 2010/63/EU, и в соответствии с руководящими принципами ICMR по исследованиям на животных (2006 г.).

Таблица 1

Распределение экспериментальных животных по дням иссечения биоптатов в контроле и опытной группе

Количество дней после трансплантации	Контроль (К)	Опытная группа (ОГ)
4	4	4
7	5	6
10	4	6
12	6	7
15	5	7
19	6	8
23	4	6
26	3	5
Всего	39	48
Общее число прооперированных мышей – 87 особей		

Операционным путем была сформирована ишемическая кожная рана в межлопаточной области контрольных и опытных животных. Для ОГ кожные гетерофибробласты выделяли с помощью ферментов комбинирования коллагеназы и диспазы и выращивали в культуральном медиуме DMEM/F12 (Lonza) [10]. Для трансплантации была использована 2% НГК биосинтетического происхождения «Hialuron 2», производитель: Toskani Cosmetics (Испания) в сочетании с 1,33 млн клеток гетерогенных фибробластов 2-3 пассажа с фенотипом CD44+CD90+CD105+CD73+CD 45+CD31-CD34-CD45- на ростовой среде DMEM/F12. Смесь вводили тоннельным способом с помощью игл 30G, 12 мм.

На 4-й, 7-й, 10-й, 12-й, 15-й, 19-й, 23-й и 26-й день после операции в обеих группах интраоперационно иссекали биоптаты раны и фиксировали в 10% растворе формалина. Материал был залит в парафин и окрашен Н&Е. Изучение гистологических препаратов проводилось с помощью светооптического микроскопа OLIMPUS SX-31. Наличие SDF-1 и CD34-положительных клеток определяли иммуногистохимическим методом. Первичными антителами были SDF-1-поликлональные антитела (Gene Tex Inc., США) и CD34 - моноклональные (клон EP373Y) (Abcam, США) в разведении 1:100. В качестве вторичных применяли универсальные антитела (HiDef Detection™ HRP Polymer system, «Cell Marque», США), позволяющие выявлять мышьиные и кроличьи первичные антитела, конъюгированные с ферментным комплексом на основе пероксидазы хрена. Срезы докрашивали гематоксилином Майера для визуализации ядер. Индекс SDF-1 и CD34-позитивных клеток опреде-

ляли путем подсчета их количества на 100 клеток во время микроскопического исследования (увеличение $\times 1350$) с последующим вычислением среднего процента на основе результатов изученных срезов каждого образца биопсии в К и ОГ. Полученные в результате подсчета данные обрабатывали с использованием компьютерной программы SPSS 7.5 for Windows statistical software package (IBM Analytics, США). При статистической обработке для оценки достоверности различий средних значений между группами использовались следующие непараметрические критерии: U-критерий Манна-Уитни (значение вероятности $P = 0,05$ считалось статистически значимым), H-критерий Краскала-Уоллеса.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

К 4-му послеоперационному дню эпидермиса в К и ОГ еще нет и оперативно сформированная рана кожи снаружи покрыта обширным слоем фибрина, экссудата с частично разрушенными клеточными элементами. В ОГ в этом слое также имеются эозинофильно тонированные островки, начиненные НГК. Основу содержимого кожного дефекта составляет гиподерма и тонкая прослойка грануляционной ткани с малочисленными капиллярами и коллагеновыми волокнами.

SDF-1 – позитивные клетки имеются в биоптатах обеих экспериментальных групп (таблица 2). В биоптатах КГ таких клеток непосредственно под струпом (условно названных эпидермисом) в 3 раза меньше, чем в глубоких слоях. В аналогичных слоях ЭГ индекс клеток с маркером SDF-1 на $71,18 \pm 0,18\%$, и $37,45 \pm 0,18\%$ соответственно больше, чем в контроле. МСК, экспрессирующие маркер CD34, присутствуют только в глубоких слоях биоптатов ЭГ.

Таблица 2

Индекс клеток, секретирующих фактор SDF-1, и индекс клеток с экспрессией антигена CD34+ в биоптатах контроля и основной группы

Сутки после операции	Контроль				Основная группа			
	Индекс SDF-1+ клеток в %		Индекс CD34+ клеток в %		Индекс SDF-1+ клеток в %		Индекс CD34+ клеток в %	
	ЭП	ГТ	ЭП	ГТ	ЭП	ГТ	ЭП	ГТ
4-е	3,21± 0,01	10,22± 0,07	0	0	11,14± 0,11*	16,34± 0,13*	0	6,15± 0,01*
7-е	12,41± 0,11**	14,41± 0,11**	0	0	18,28± 0,10* **	27,41± 0,14* **	0	13,27± 0,10* **
10-е	20,00± 0,12**	19,38± 0,11**	0	5,10± 0,01**	22,33± 0,12 **	36,82± 0,15* **	0	24,72± 0,11* **
12-е	70,67± 2,01**	26,51± 0,13**	1,23± 0,01**	12,18± 0,09**	113,42± 0,13* **	29,56± 0,12**	6,24± 0,01* **	19,33± 0,14* **
15-е	76,23± 0,22**	31,58± 0,18**	2,12± 0,01	19,16± 0,11**	5,04± 0,09* **	12,27± 0,11* **	2,51± 0,01**	10,47± 0,11* **
19-е	72,33± 0,22	29,27± 0,20**	2,12± 0,01	10,09± 0,05**	0* **	3,17± 0,02* **	0* **	2,82± 0,05* **
23-и	39,15± 0,14**	16,10± 0,11**	0**	3,10± 0,02**	0*	0* **	0	1,02± 0,01**
26-е	0**	0**	0	1,02± 0,01	0	0	0	0* **

Примечание: *Достоверность различия с контролем, P = 0,05. ** Достоверность различия с предыдущим этапом исследования, P = 0,05.

На 7-е сутки силиконовое кольцо, удерживающее края раны, по-прежнему плотно фиксировано. У мышей в К кожный дефект закрыт развивающимся эпителием, который в этот день насчитывает 1-2 ряда низких эпителиоцитов. Его внешняя поверхность закрыта слоем фибрина в сочетании с деструктурированными клеточными элементами. У животных ОГ поверхностный эпителий заметно более объемный за счет 3-х рядов эпителиальных клеток. Индекс SDF-1+ клеток не дифференцированной грануляционной ткани с 4-х по 7-е сутки увеличился на 25,64±0,20% в Г и на 40,39±0,15% в ОГ (см. табл. 2). При этом индекс таких клеток в ЭГ на 47,43±0,20%, больше. Присутствие МСК (CD34-позитивные клетки) по-прежнему фиксируется только в грануляционной ткани ОГ.

На 10-е сутки у мышей ЭГ силиконовое кольцо отсутствует. Эпителизация раны и самопроизвольное отпадение кольца зафиксировано на 10,3±0,10 сутки после операции. В КГ кольцо по-прежнему пришито к краям кожного дефекта. Рана в обеих группах закрыта уменьшившимся в толщину струпом. Индекс SDF-1+ эпидермоцитов продолжил рост в К и ЭГ и составил 37,95±0,19% и 18,14±0,16% соответственно. Таких эпидермоцитов в ОГ на

10,43±0,17% больше, чем в контроле. На 10-е сутки репарации раны в эпидермисе обеих групп CD34-позитивные клетки так и не обнаружены. На 10-й день индекс SDF-1 секретирующих клеток возрос на 25,64±0,20% в К и на 25,56±0,10% в ЭГ, оставаясь на 47,37±0,13%, больше, чем в контроле. В этом сроке в грануляционной ткани КГ впервые обнаруживались отдельные CD34-экспрессирующие клетки. В грануляционной ткани биоптатов ЭГ индекс МСК увеличился на 46,32±0,19% в сравнении с 7-ми сутками. Их индекс сильно превышает таковой в КГ (79,37±0,20%).

На 12-й день в К и ОГ вся поверхность модельной раны эпителизировалась. Струп присутствует над эпидермисом только в К. Количество эпидермоцитов с маркером SDF-1в биоптатах КГ очень большое, увеличение их индекса с 10-х по 12-й день заживления раны составило 71,70±0,26%. Индекс SDF-1-позитивных эпидермоцитов в ОГ уменьшился на 85,74±0,23%, что сделало его на 81,01±0,06 % меньше, чем в контроле. В эпидермисе К и ОГ встречаются единичные МСК. Грануляционная ткань в ОГ выглядит более дифференцированной. В ее составе появились параллельно лежащие окрашенные в розовый цвет пучки коллагеновых

волокон. С 10-го по 12-й день индекс SDF-1+ клеток грануляционной ткани в К продолжил возрастать и увеличился на $26,90 \pm 0,22\%$. В биоптатах грануляционной ткани ОГ наблюдался противоположный процесс - индекс SDF-1+ клеток уменьшился на $19,72 \pm 0,19\%$, что привело к тому, что индекс клеток с такой экспрессией в ЭГ стал на $10,32 \pm 0,05\%$, меньше по сравнению с контролем. Индекс клеток с антигеном CD34 увеличился в К на $58,13 \pm 0,23\%$, а в ОГ уменьшился на $21,80 \pm 0,12\%$. Это не привело к изменению соотношения индекса МСК в группах: в ЭГ их все равно было больше на $36,99 \pm 0,16\%$, чем в контроле.

На 15-й день модельный дефект кожи продолжает рубцеваться. В ОГ этот процесс продвинулся дальше и привел к потере сетчатой ориентации коллагеновой структуры, которая модифицировалась в параллельное эпидермису расположение тонких пучков коллагеновых волокон. Индекс SDF-1 – положительных клеток в КГ увеличился на $16,05 \pm 0,14\%$ по сравнению с предыдущим сроком. В ЭГ индекс таких клеток грануляционной ткани уменьшился на $58,49 \pm 0,23\%$. В целом на 15-й день индекс SDF-1+ клеток в ЭГ меньше на $61,15 \pm 0,22\%$, чем в контроле. Индекс МСК уменьшился в грануляционной ткани биоптатов обеих групп: в КГ на $47,34 \pm 0,33\%$, в ЭГ на $45,84 \pm 0,20\%$. На 15-й день индекс CD34 – положительных клеток в ЭГ меньше на $45,35 \pm 0,12\%$, чем в контроле. В эпидермисе в этот срок индекс CD34 – положительных клеток в КГ и ЭГ одинаков, хотя в эпидермисе КГ он увеличился на $49,98 \pm 0,22\%$, а в ЭГ уменьшился на $59,78 \pm 0,20\%$.

В последующий до 26 суток отрезок времени раневой процесс в биоптатах обеих групп находился на стадии формирования рубца. Наиболее активно этот процесс развивался в клетках биоптатов ЭГ, что сопровождалось прекращением секреции хемоаттрактанта МСК SDF-1 (см. табл. 2) и сохранением единичных МСК только в глубоких слоях рубцовой ткани. В КГ этот процесс запаздывает.

Кожные раны продуцируют множество хемокинов, например CXCL12 (SDF-1), которые могут служить хемоаттрактантами для МСК [11]. МСК - это взрослые стволовые клетки, обладающие терапевтическим эффектом для хронических ран и способные дифференцироваться в активные фибробласты [12]. Зафиксировано, что на 4-й день после трансплантации гетерофибробластов в коллаборации с НГК индекс SDF-1+ и CD34+ клеток выше, чем в ОГ. В дальнейшем индекс SDF-1+ клеток в К активно нарастает, а в ОГ увеличивается медленно, т.к. наличие НГК в экстрацеллюлярном матриксе свойствен-

но не поврежденной ткани и, видимо, это тормозит синтез и секрецию клетками фактора SDF-1. МСК в ОГ не привлекаются активно, поэтому их сравнительно мало, хотя рана заживает быстрее, чем в К. Вероятно, трансплантированные фибробласты сами активно делятся и формируют грануляционную ткань. Их пролиферативного потенциала достаточно и без привлечения МСК. В К создается высокая концентрация SDF-1, но приход МСК запаздывает и заживление раны растягивается на более длительный срок. Григорян А.С. [13] показал, что, несмотря на то, что клетки поврежденных тканей секретируют в большом объеме фактор SDF-1, его избыточное количество не только не привлекает МСК, но и отпугивает их. Также есть сведения, что среда в зоне повреждения, богата протеолитическими ферментами: сериновыми протеазами, катепсином G, эластазами и матриксными металлопротеиназами [14], которые разрушают хемоаттрактанты, такие как SDF-1.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, нами получено, что в биоптатах заживающей модельной ишемизированной кожной ране на 4-й день после внесения гетерофибробластов в сочетании с НГК индекс SDF-1-секретирующих клеток в эпидермисе и дерме выше по сравнению с К, что привлекает МСК. В дальнейшем индекс SDF-1+ клеток увеличивается медленнее, не приближаясь вплотную к такому в К, и раньше начинает уменьшаться (к 12-му дню в эпидермисе и 10-му дню в грануляционной ткани). Аналогичную динамику демонстрирует индекс МСК. Наличие НГК в экстрацеллюлярном матриксе свойственно поврежденной ткани, что снижает синтез и секрецию клетками фактора SDF-1, который привлекает меньше МСК. По всей видимости, гетерофибробласты в композиции с НГК и на таком фоне эпидермоциты пролиферируют без хемотаксиса МСК и приводят к устранению кожного дефекта на $16,94\%$ раньше, чем в К.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors have no conflict of interests to declare.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Hocking A. M. The Role of Chemokines in Mesenchymal Stem Cell Homing to Wounds. *Adv Wound Care (New Rochelle)*. 2015;4(11):623–630. doi: 10.1089/wound.2014.0579.
2. Jardins-Park H. E., Foster D. S., Longaker M. T. Fibroblasts and wound healing: an update. *Regenerative medicine*. 2018;13(5):491–495. doi: 10.2217/rme-2018-0073.

3. Zielins E. R., Atashroo D. A., Maan Z.N. Wound healing: an update. *Regen. Med.* 2014;9(6):817–830. doi: 10.2217/rme.14.54.
4. Fallacara A., Baldini E., Manfredini S., Vertuan S. Hyaluronic Acid in the Third Millennium. *Polymers (Basel)*. 2018;10(7):E701. doi: 10.3390/polym10070701.
5. Heldin P., Lin C.Y., Kolliopoulos K., Chen Y. H., Skandalis S. S. Regulation of hyaluronan biosynthesis and clinical impact of excessive hyaluronan production. *Matrix Biol.* 2018;7(9): 100-117. doi: 10.1016/j.matbio.2018.01.017.
6. Cyphert J. M., Trempus C. S., Garantzotis S. Size matters: Molecular weight specificity of hyaluronan effects in cell biology. *Int. J. Cell Biol.* 2015;563818. doi: 10.1155/2015/563818.
7. Ying J. W., Wen T. Y., Pei S. S., Su L. H., Ruan D. K.. Stromal cell-derived factor-1 α promotes recruitment and differentiation of nucleus pulposus-derived stem cells. *World J Stem Cells.* 2019;11(3):196–211. doi: 10.4252/wjsc.v11.i3.196.
8. Fu X., Liu G., Halim A., Ju Y., Luo Q., Song G. Mesenchymal Stem Cell Migration and Tissue Repair. *Cells.* 2019;8(8):784. doi.org/10.3390/cells8080784
9. Tebebi P.A., Burks S. R., Kim S. J. Cyclooxygenase-2 or tumor necrosis factor-alpha inhibitors attenuate the mechanotransductive effects of pulsed focused ultrasound to suppress mesenchymal stromal cell homing to healthy and dystrophic muscle. *Stem Cells.* 2015;33:1173–1186. doi.org/10.1002/stem.1927
10. Shapovalova E. Y., Boyko T.A., Baranovskiy Y. G., Morozova M. N., Barsukov N. P., Ilchenko F. N., Baranovskiy A. G. Effects of Fibroblast Transplantation on the Content of Macrophages and the Morphology of Regenerating Ischemic Cutaneous Wounds. *International Journal of Biomedicine.* 2017;7(4):302-306. doi:10.21103/Article7(4)_OA6
11. Martins-Green M., Petreaca M., Wang L. Chemokines and their receptors are key players in the orchestra that regulates wound healing. *Adv Wound Care.* 2013;2:327-328. doi: 10.1089/wound.2012.0380.
12. Frenette P. S., Pinho S., Lucas D., Scheiermann C. Mesenchymal stem cell: keystone of the hematopoietic stem cell niche and a stepping-stone for regenerative medicine. *Annual Review of Immunology.* 2013;31:285-316. doi: 10.1146/annurev-immunol-032712-095919.
13. Grigorjan A. S. The role of directed migration of SDF-1-CXCR4 while homing cells-precursors in malignant dissemination. *Genes & Cells.* 2006;1(4):32-38. doi: 10.1016/j.yjmcc.2015.01.024
14. Seppanen E., Roy E., Ellis R., Bou-Gharios G., Fisk N. M., Khosrotehrani K. Distant mesenchymal progenitors contribute to skin wound healing and produce collagen: evidence from a murine fetal microchimerism model. *PloS One.* 2013;8:e62662. doi: 10.1371/journal.pone.0062662 doi: 10.1371/journal.pone.0062662

УДК 616.12-005.4+615.844

DOI: 10.29039/2224-6444-2022-12-3-41-49

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ ЭЛЕКТРОСНА В СОЧЕТАНИИ С ДАЛАРГИНОМ В МЕДИЦИНСКОЙ РЕАБИЛИТАЦИИ ПАЦИЕНТОВ С ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА

Мизин В. И.¹, Ежов В. В.¹, Яновский Т. С.², Недопекина О. А.¹, Игнатова Т. Б.¹

¹Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Республики Крым «Академический научно-исследовательский институт физических методов лечения, медицинской климатологии и реабилитации им. И.М. Сеченова», 298603, ул. Мухина. 10/2, Ялта, Россия

²ООО «Праймер», 295017, ул. Скрипниченко, 30/13, Симферополь, Россия

Для корреспонденции: Мизин Владимир Иванович, доктор медицинских наук, доцент, заведующий научно-исследовательским отделом физиотерапии, медицинской климатологии и курортных факторов, «Академический научно-исследовательский институт физических методов лечения, медицинской климатологии и реабилитации им. И.М. Сеченова», e-mail: yaltamizin@mail.ru

For correspondence: Vladimir I. Mizin, MD, DSc, Associate Professor, Head of the Research Department of Physiotherapy, Medical Climatology and Health Resort Factors, "Academic Research Institute of Physical Methods of Treatment, Medical Climatology and Rehabilitation named after I.M. Sechenov", e-mail: yaltamizin@mail.ru.

Information about authors:

Mizin V. I., <http://orcid.org/0000-0001-9121-8184>

Ezhov V. V., <http://orcid.org/0000-0002-1190-967X>

Yanovsky T. S., <http://orcid.org/0000-0002-8516-7015>

Nedopekina O. A., <http://orcid.org/0000-0003-4589-0900>

Ignatova T. B., <http://orcid.org/0000-0002-1021-7866>

РЕЗЮМЕ

Учитывая влияние электросна (ЭС) на повышение уровня эндорфинов, было бы целесообразно потенцировать его эффекты у пациентов с ишемической болезнью сердца (ИБС) за счет дополнительного введения Даларгина в составе комплексного физио-фармакотерапевтического воздействия. Цель – исследование сравнительной эффективности применения у пациентов с ИБС электросна в сочетании с Даларгином и без сочетания с Даларгином. Материал и методы. Одноцентровое проспективное контролируемое клиническое исследование проведено в группе 119 пациентов с ИБС, проходивших курс комплексной санаторно-курортной медицинской реабилитации (МР), в том числе у 26 пациентов применялся ЭС длительностью 30-60 мин, ежедневно, на курс в среднем 8,9±0,4 процедур, из них у 11 пациентов непосредственно перед процедурой ЭС дополнительно вводили фармацевтический препарат «Даларгин» производства НПО «МИКРОГЕН», по 0,5 мг, растворенных в 0,5 мл изотонического раствора в каждую ноздрю на курс в среднем 8,5±0,6 мг. Результаты. Получены ряд новых данных в отношении эффективности ЭС, оцененной по критериям «Международной классификации функционирования, нарушений жизнедеятельности и здоровья» (МКФ). Воздействия ЭС и ЭС в сочетании с Даларгином (ЭСД) достоверно повышают эффективность МР по доменам b2401 «Головокружение», b280 «Ощущение боли», b455 «Функции толерантности к физической нагрузке», b4552 «Утомляемость», b4601 «Ощущения, связанные с сердечно-сосудистой и дыхательной системами». Регрессионный анализ выявил, что курс ЭС обеспечивает положительный прогноз результата МР по 2 критериям – b410 «Функции сердца» и b4601 «Ощущения, связанные с сердечно-сосудистой и дыхательной системами», а курс ЭСД обеспечивает положительный прогноз результата МР по 3 критериям – b2401 «Головокружение», субшкала боли опросника SF-36 и общая эффективность МР по шкале ВАШ, но и негативный прогноз по 1 критерию – b410 «Функции сердца». Выводы. Исходя из перечня клинических задач МР по уменьшению нарушений конкретных параметров пациентов с ИБС, врач может выбрать ЭС или ЭСД в зависимости от их эффективности в отношении этих параметров.

Ключевые слова: ишемическая болезнь сердца, медицинская реабилитация, электросон, Даларгин

COMPARATIVE EFFICACY OF THE USE OF ELECTROSLEEP IN COMBINATION WITH DALARGIN IN THE MEDICAL REHABILITATION OF PATIENTS WITH CORONARY HEART DISEASE

Mizin V. I.¹, Ezhov V. V.¹, Yanovsky T. S.², Nedopekina O. A.¹, Ignatova T. B.¹

¹Academic Research Institute of Physical Methods of Treatment, Medical Climatology and Rehabilitation named after I.M. Sechenov», Yalta, Russia

²LLC «Primer», Simferopol, Russia

SUMMARY

Taking into account the effect of electric sleep (ES) on the increase in the level of endorphins, it would be advisable to potentiate its effects in patients with coronary heart disease (CHD) by additional administration of Dalargin as part

of a complex physio-pharmacotherapeutic intervention. Purpose – to study the comparative effectiveness of the use of electric sleep in combination with Dalargin and without combination with Dalargin in patients with CHD. Materials and methods. A single-center prospective controlled clinical study was conducted in a group of 119 patients with CHD disease who underwent a course of complex medical rehabilitation (MR), including 26 patients who received ES – lasting 30-60 minutes, daily, on average 8.9 ± 0.4 procedures per course, 11 patients of which were additionally injected immediately before the ES procedure with the pharmaceutical preparation Dalargin produced by NPO MICROGEN, off 0.5 mg, dissolved in 0.5 ml of isotonic solution into each nostril for a course of on average 8.5 ± 0.6 mg. Results. A number of new data have been obtained regarding the effectiveness of ES, assessed according to the criteria of the «International Classification of Functioning, Disability and Health» (ICF). The effects of ES and ES in combination with Dalargin (ESD) significantly increase the effectiveness of MR in the domains b2401 «Dizziness», b280 «Sensation of pain», b455 «Exercise tolerance functions», b4552 «Fatiguability», b4601 «Sensations associated with cardiovascular and respiratory systems». Regression analysis revealed that the course of ES provides a positive prognosis of the outcome of MR according to 2 criteria – b410 «Heart functions» and b4601 «Sensations associated with the cardiovascular and respiratory systems», and the course of ESD provides a positive prognosis of the outcome of MR according to 3 criteria – b2401 «Dizziness», pain subscale of the SF-36 questionnaire and the overall effectiveness of MR on the VAS scale, but also a negative prognosis for 1 criterion – b410 «Heart functions». Conclusions. Based on the list of clinical goals of MR to reduce impairment of specific parameters in patients with CHD, the physician may choose ES or ESD depending on their effectiveness in relation to these parameters.

Key words: coronary heart disease, medical rehabilitation, electric sleep, Dalargin

Исторически в основу разработки метода электросна (ЭС) был положен феномен дремоты у собак под влиянием слабого электрокожного раздражения, отмеченного в опытах лаборатории И.П. Павлова [1]. Импульсный постоянный ток является действующим фактором ЭС и при воздействии на проекцию головного мозга стимулирует выделение серотонина и эндорфинов, чем вызывает у пациента состояние, близкое к физиологическому сну и сопровождающееся седативным и болеутоляющим действием. Вследствие опосредованного воздействия на другие физиологические системы, электросон вызывает ряд изменений, в т.ч. снижение сосудистого тонуса, повышение кислородной емкости крови, стимуляцию кроветворения, нормализацию свертывающей функции крови, иммунитета, углеводного и липидного метаболизма [2].

У пациентов с ишемической болезнью сердца (ИБС) отмечаются ведущие клинические синдромы – боли в области сердца, одышка, учащенное сердцебиение, перебои в работе сердца и головные боли. У пациентов с ИБС отмечаются также нарушения функции центральной и вегетативной нервной систем, вызывающие другие симптомы и синдромы – неврозы, бессонницу, вегетососудистую дистонию, психо-эмоциональный дистресс и снижение качества жизни. Эти состояния являются показаниями для применения ЭС у пациентов с ИБС. Применение ЭС в реабилитации больных ИБС (стабильная стенокардия ФК 1-2 с желудочковыми аритмиями I-IVa класса по Б. Лауну) приводит к повышению толерантности к физической нагрузке (физической работоспособности) и коронарного резерва сердца, к снижению выраженности аритмии и социально-психологической дезадаптации. В то же время, часть пациентов с ФК 2 не отмечали положительного эффекта ЭС, а у 11%

пациентов отмечались жалобы на чувство жжения, тяжесть, неприятные ощущения в области сердца, которые исчезали при отмене лечения на 1-2 дня [3]. Многочисленные известные положительные эффекты ЭС обусловили его включение в стандарт санаторно-курортной помощи больным с ИБС [4]. Вместе с тем, повышение эффективности ЭС могло бы способствовать более успешной медицинской реабилитации (МР) пациентов с ИБС. Учитывая влияние ЭС на повышение уровня эндорфинов, было бы целесообразно потенцировать его эффекты за счет дополнительного введения Даларгина в составе комплексного физио-фармакотерапевтического воздействия.

Даларгин явился первым в мире синтетическим аналогом лей-энкефалина (тирозил-Д-аланил-глицил-фенилаланил-лейциларгенина диацетата), который был введен в фармакологическую практику профессором М. И. Титовым [5] в лаборатории синтеза пептидов ВКНЦ АМН СССР еще в 1984 году. Базовая последовательность аминокислот в Даларгине соответствует структуре большинства известных физиологических опиоидов, которые взаимодействуют с периферическими опиоидными рецепторами обеих μ - и δ -типов. В результате проведенных клинических исследований были выявлены эффекты Даларгина, включающие нормализацию эндокринной функции гипофиза, повышение эффективности кислород-зависимого энергообмена кардио-респираторной системы и красной крови, улучшение микроциркуляции, потенцирование эффектов седатации и анальгезии, антистрессорный эффект в отношении психофизиологических компонентов, повышение толерантности к физическим нагрузкам и стимуляцию иммунитета [6-8]. Однако, вопросы оценки эффективности ЭС в сравнении с физио-фарма-

котерапевтическим воздействием, сочетающим ЭС с эндоназальным введением Даларгина, ранее не изучались.

Целью работы явилось исследование сравнительной эффективности применения у пациентов с ИБС электросна в сочетании с Даларгином и без сочетания с Даларгином.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Одноцентровое проспективное контролируемое клиническое исследование проведено в группе пациентов с ИБС, проходивших курс комплексной санаторно-курортной медицинской реабилитации в клинике «АНИИ им. И.М. Сеченова». Критерии включения больных в исследование: пациенты с ИБС в соответствии с показаниями для санаторно-курортного лечения на курорте ЮБК; критерии исключения – противопоказания к санаторно-курортному лечению [9]. В составе группы было 119 человек с ИБС (I 20-25 и I 25.1), включая 19 пациентов с ФК1 и СН 0-1, 98 пациентов с ФК2 и СН 1-2 и 2 пациента с ФК3 и СН 2; из них 79 пациентов мужского пола, средний возраст составил $66,7 \pm 0,6$ лет, длительность основного заболевания $11,2 \pm 0,9$ лет.

Применялись комплексно физиотерапевтические и другие лечебные факторы в соответствии с действующими стандартами санаторно-курортной помощи [4]. Лечебные воздействия проводились согласно действующим руководствам и рекомендациям [10]. В том числе у 26 пациентов применялся ЭС по глазо-сосцевидной методике с индивидуальным подбором частоты и силы тока, длительностью 30-60 минут, ежедневно, на курс в среднем $8,9 \pm 0,4$ процедур, из них у 11 пациентов непосредственно перед процедурой ЭС дополнительно интраназально вводили фармацевтический препарат «Даларгин» производства НПО «МИКРОГЕН», по 0,5 мг, растворенных в 0,5 мл изотонического раствора в каждую ноздрю, на курс в среднем $8,5 \pm 0,6$ мг.

Обследование пациентов проводились в соответствии со стандартами санаторно-курортной помощи у больных ИБС [4] и Порядком МР [11]. Общий перечень методов исследования включал: клиническое обследование больных; антропометрию; лабораторные клинические и биохимические исследования; функциональные исследования. Клинические лабораторные исследования включали общие анализы крови, мочи и мокроты. Биохимические лабораторные исследования включали: холестерин (общий, высокой и низкой плотности), триглицериды, АСТ, АЛТ, общий билирубин, мочевую кислоту, креатинин, фибриноген, протромбиновый индекс, глюкозу крови, С-реактивный белок.

Функциональные исследования включали измерение артериального давления крови, электрокардиографию, спирометрию и толерантность к физической нагрузке с использованием 6-ти минутного шагового теста (6МШТ). Все исследования проводились по стандартным методикам.

В дополнение к предусмотренным стандартам диагностическим комплексам применялись: психологические исследования по стандартным тестам Ридер и Спилбергера-Ханина [12]; оценка качества жизни (КЖ) по стандартному опроснику SF-36 [13]; оценка функций по медицинским доменам «Международной классификации функционирования, нарушений жизнедеятельности и здоровья» (МКФ) в соответствии с методикой, разработанной в «АНИИ им. И.М. Сеченова» [14; 15].

Значения всех исследованных параметров измерялись дважды – перед началом курса лечения и после окончания курса. Оценивалась также динамика параметров, т.е. результат вычитания значения параметра после курса лечения из значения параметра в начале курса лечения. Методы математического анализа полученных результатов включали вариационную статистику (средние значения и оценка достоверности различия средних значений), корреляционный анализ (коэффициенты корреляции и оценка их достоверности), многофакторный регрессионный анализ (уравнения регрессии и оценка их достоверности) с использованием стандартных компьютерных программ.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведенной МР функциональное состояние пациентов с ИБС достоверно улучшилось, уменьшились жалобы и улучшились объективные параметры и показатели тестов. Полученные данные (табл.1, табл.2) подтверждают известные из литературы положительные эффекты ЭС и даларгина в отношении контролируемых параметров [2; 3; 6-8,10].

Кроме того, получены ряд новых данных в отношении эффективности МР, оцененной по критериям МКФ. Общая эффективность МР, оцененная пациентом по визуальной аналоговой шкале (ВАШ) в % от полной нормализации функционального состояния, у всех пациентов составила $47,9 \pm 1,4\%$, у получавших процедуры ЭС – $53,6 \pm 4,7\%$, у получавших процедуры ЭС с Даларгином (ЭСД) – $46,3 \pm 5,9\%$ (различия приведенных значений статистически не значимы). В таблице 1 представлены данные о статистически значимой динамике параметров функционального состояния пациентов, получавших процедуры ЭС и ЭСД, в т.ч. домены МКФ. Корреляционный анализ выявил статистически значимые (при р

<0,05) коэффициенты парной корреляции (r) динамики параметров функционального состояния пациентов с числом курсовых доз ЭС и ЭСД, в т.ч. с доменами МКФ (Табл. 2).

Таблица 1

Достоверная (при $p < 0,05$) динамика параметров состояния пациентов с ИБС под влиянием электро- (ЭС) и электросна в сочетании с эндоназальными каплями Даларгина (ЭСД). Представлены только статистически значимые t – критерии Стьюдента.

Статистические параметры: M – среднее значение; $\pm m$ – ошибка среднего; t – критерий Стьюдента	Параметры функционального состояния					
	Самочувствие (баллы)			Жалобы на одышку (баллы)		
	поступление (п)	выписка (в)	динамика	поступление (п)	выписка (в)	динамика
1	2	3	4	5	6	7
M1 (ЭСД)	2,000	2,909	-0,909	2,182	0,818	1,364
$\pm m1$	0,000	0,091	0,091	0,226	0,182	0,203
tM1п-M1в			-10,000!			4,697 !
M2 (ЭС)	2,000	2,867	-0,867	2,333	1,067	1,267
$\pm m2$	0,000	0,091	0,091	0,211	0,248	0,153
tM2п-M2в			-9,539!			3,890 !
	Жалобы на утомляемость (баллы)			Жалобы на сердцебиение (баллы)		
M1 (ЭСД)	2,818	1,182	1,636	1,545	0,364	1,182
$\pm m1$	0,182	0,122	0,203	0,39	0,203	0,296
tM1п-M1в			7,474 !			2,687 !
M2 (ЭС)	2,133	0,8	1,333	1,067	0,067	1,000
$\pm m2$	0,133	0,145	0,126	0,267	0,067	0,258
tM2п-M2в			6,775 !			3,638 !
	Жалобы на затрудненное дыхание (баллы)			Жалобы на тревожность (баллы)		
M1 (ЭСД)	0,818	0,091	0,727	2,455	1,182	1,273
$\pm m1$	0,263	0,091	0,237	0,312	0,226	0,237
tM1п-M1в			2,609 !			3,300 !
M2 (ЭС)	0,733	0,267	0,467	0,867	0,6	0,267
$\pm m2$	0,267	0,206	0,192	0,307	0,273	0,118
	Жалобы на головокружение (баллы)			Двойное произведение (усл.ед)		
M1 (ЭСД)	1,091	0,455	0,636	106,273	89,873	16,400
$\pm m1$	0,315	0,157	0,203	16,236	7,645	8,919
M2 (ЭС)	0,800	0,200	0,600	93,620	70,853	22,767
$\pm m2$	0,223	0,145	0,131	6,061	8,049	6,44
tM2п-M2в			2,260 !			2,260 !
	Палочкоядерные нейтрофилы (%)			Общий холестерин (ммоль/л)		
M1 (ЭСД)	3,273	5,182	-1,909	5,618	4,745	0,873
$\pm m1$	0,619	0,615	0,825	0,341	0,388	0,459
tM1п-M1в			-2,187 ?			
M2 (ЭС)	2,867	4,2	-1,333	5,913	4,653	1,26
$\pm m2$	0,456	0,562	0,803	0,314	0,396	0,508
tM2п-M2в						2,496 !

Продолжение таблицы 1

Статистические параметры: М – среднее значение; $\pm m$ – ошибка среднего; t – критерий Стьюдента	Параметры функционального состояния					
	Самочувствие (баллы)			Жалобы на одышку (баллы)		
	поступление (п)	выписка (в)	динамика	поступление (п)	выписка (в)	динамика
1	2	3	4	5	6	7
	Оценка пациентом эффекта реабилитации по ВАШ (%)			b2401 Головокружение (баллы)		
M1 (ЭСД)	53,636			1,091	0,455	0,636
$\pm m1$	4,724			0,315	0,157	0,203
M2 (ЭС)	46,333			0,800	0,200	0,600
$\pm m2$	5,946			0,223	0,145	0,131
tM2п-M2в						2,260 !
	b280 Ощущение боли (баллы)			b455 Функции толерантности к физической нагрузке (баллы)		
M1 (ЭСД)	0,985	0,621	0,364	2,636	1,508	1,129
$\pm m1$	0,163	0,171	0,138	0,192	0,169	0,291
tM1п-M1в						4,406 !
M2 (ЭС)	0,500	0,167	0,333	2,133	0,800	1,333
$\pm m2$	0,138	0,08	0,105	0,133	0,145	0,126
tM2п-M2в			2,092 !			6,775 !
	b4552 Утомляемость (баллы)			b4601 Ощущения, связанные с ССС и ДС (баллы)		
M1 (ЭСД)	2,273	1,061	1,212	1,318	0,341	0,977
$\pm m1$	0,254	0,041	0,267	0,165	0,097	0,133
tM1п-M1в			4,721 !			5,096 !
M2 (ЭС)	2,133	0,8	1,333	1,15	0,383	0,767
$\pm m2$	0,133	0,145	0,126	0,169	0,117	0,173
tM2п-M2в			6,775 !			3,738 !
	Все контролируемые домены (баллы)					
	поступление (п)		выписка (в)		динамика	
M1 (ЭСД)	1,251		0,894		0,356	
$\pm m1$	0,118		0,117		0,077	
tM1п-M1в					2,144 !	
M2 (ЭС)	0,815		0,516		0,299	
$\pm m2$	0,072		0,048		0,06	
tM2п-M2в			3,440 !			

Примечание: ЭС – электросон; ЭСД – электросон в сочетании с эндоnazальными каплями Даларгина; ССС – сердечно-сосудистая система; ДС – дыхательная система; ВАШ – визуальная аналоговая шкала; ! – эффект ЭСД превышает эффект ЭС; ? – эффект ЭСД меньше эффекта ЭС.

Регрессионный анализ позволил сформировать прогноз динамики функционального состояния пациентов с ИБС в результате применения ЭС и ЭСД. Были установлены статистически значимые (при $p < 0,05$) уравнения регрессии общего вида: $Y = E + a \cdot A + b \cdot B$; где: Y – динамика

параметра; E – постоянный член уравнения; a – коэффициент при A; A – значение параметра в начале курса; b – коэффициент при B; B – число процедур на курс.

Для курсового воздействия ЭС были сформированы 2 позитивных прогноза эффективности

Таблица 2

Достоверные (при $p < 0,05$) корреляционные влияния электросна (ЭС) и электросна в сочетании с эндовазальными каплями Даларгина (ЭСД) на динамику параметров состояния пациентов с ИБС

Динамика параметров	коэффициенты парной корреляции (r) динамики параметров с числом курсовых доз	
	ЭС	ЭСД
1	2	3
Жалобы на тревожность (баллы)	+0,371 !	
Жалобы на плохую память (баллы)	+0,365 !	
Глюкоза крови (ммоль/л)	+0,382 !	+0,817 !
SF-36 субшкала социальной активности СА (баллы)		-0,667 !
SF-36 субшкала общего здоровья ОЗ (баллы)		+0,624 ?
Зрительно-конструктивные навыки (баллы)		-0,850 !
Внимание - обратный счет (баллы)		+0,885 ?
Абстрактное мышление (баллы)		+0,885 ?
Физическая астения (баллы)		+0,858 !
Сумма баллов астении (баллы)		+0,659 !
b2401 «Головокружение» (баллы)		+0,548 !
b280 «Ощущение боли» (баллы)	+0,355 !	+0,500 !
в т.ч.: - жалобы на головную боль (баллы)	+0,338 !	
- SF-36 субшкала боли СБ (баллы)		-0,875 !
b410 «Функции сердца» (баллы)	+0,379!	-0,613 ?
в т.ч. - жалобы на перебои в работе сердца (баллы)		-0,561?
b420 «Функции артериального давления» (баллы)	-0,167?	
b4358 «Иммунный ответ, другой уточненный» (баллы)	-0,365?	
b4601 «Ощущения, связанные с сердечно-сосудистой и дыхательной системами»	+0,266!	
в т.ч. - жалобы на одышку (баллы)		+0,644 !
Оценка пациентом эффекта реабилитации по ВАШ (%)		+0,609 !

Примечание: ЭС – электросон; ЭСД - электросон в сочетании с эндовазальными каплями Даларгина; ! – положительный эффект процедуры на функциональное состояние; ? – негативный эффект.

MP (в форме уравнений регрессии) для динамики домена b410 «Функции сердца» (R -квадрат = 0,632; $p < 0,001$) и для динамики домена b4601 «Ощущения, связанные с сердечно-сосудистой и дыхательной системами» (R -квадрат = 0,935; $p < 0,001$):

$$Y = 0,292 \times b410п + 0,052 \times NЭС \quad (1),$$

где: Y – динамика домена b410 «Функции сердца», в баллах; b410п - значение домена b410 «Функции сердца» при поступлении на лечение, в баллах; $NЭС$ – число процедур ЭС на курс MP.

$$Y = 0,625 \times b4601п + 0,025 \times NЭС; \quad (2),$$

где: Y – динамика домена b4601 «Ощущения, связанные с сердечно-сосудистой и дыхательной системами», в баллах; b4601п - значение домена b4601 «Ощущения, связанные с сердечно-сосудистой и дыхательной системами» при посту-

плении на лечение, в баллах; $NЭС$ – число процедур ЭС на курс MP.

Для курсового воздействия ЭСД были сформированы 3 позитивных прогноза и 1 негативный прогноз эффективности MP (в форме уравнений регрессии) для динамики домена b410 «Функции сердца» (R -квадрат = 0,376; $p < 0,045$), для динамики домена b2401 «Головокружение» (R -квадрат = 0,834; $p < 0,001$), для динамика субшкалы боли (СБ) опросника SF-36 (R -квадрат = 0,921; $p < 0,022$) и для эффективности MP по шкале ВАШ (R -квадрат = 0,371; $p < 0,047$):

$$Y = 1,157 - 0,101 \times NЭСД \quad (3),$$

где: Y – динамика домена b410 «Функции сердца», в баллах; $NЭСД$ – число процедур ЭСД на курс MP.

$$Y = -0,357 + 0,048 * b240п + 0,357 * NЭСД; \quad (4),$$

где: Y – динамика домена $b2401$ «Головокружение», в баллах; $b240п$ – значение домена $b2401$ «Головокружение» при поступлении, в баллах; $NЭСД$ – число процедур ЭСД на курс МР.

$$Y = 2,764 + 0,579 * СБп - 4,130 * NЭСД \quad (5),$$

где: Y – динамика СБ, в баллах; СБп – значение субшкалы боли при поступлении, в баллах; $NЭСД$ – число процедур ЭСД на курс МР.

$$Y = 15,488 + 4,512 * NЭСД; \quad (6),$$

где: Y – динамика ВАШ, в %; $NЭСД$ – число процедур ЭСД на курс МР.

Представленные данные позволяют провести сравнение эффективности курсов ЭС и ЭСД.

Как процедуры ЭС, так и ЭСД, оказывают широкий круг положительных влияний на функциональное состояние пациентов с ИБС. Но эффекты ЭС и ЭСД не совпадают, что позволяет использовать тот вариант электросна, который более соответствует задачам МР конкретного пациента. Так, эффекты ЭС и ЭСД в отношении домена $b410$ «Функции сердца» прямо противоположные: ЭС способствует уменьшению нарушений в этом домене, тогда как ЭСД препятствует восстановлению функции. Еще один пример – при решении задачи уменьшения негативного влияния болей (в сердце, головных и других болей, которые суммарно формируют субшкалу боли в опроснике SF-36) на функциональное состояние пациента, целесообразно применять ЭСД, тогда как ЭС не обеспечивает достоверный положительный результат. Итак, имея перечень клинических задач МР по уменьшению нарушений конкретных параметров, врач может выбрать ЭС или ЭСД в зависимости от их эффективности в отношении этих параметров.

Курс ЭС обеспечивает положительный прогноз результата МР по 2 критериям - $b410$ «Функции сердца» и $b4601$ «Ощущения, связанные с сердечно-сосудистой и дыхательной системами» (см. статистически достоверные уравнения регрессии №№ 1 и 2).

Курс ЭСД обеспечивает положительный прогноз результата МР по 3 критериям ($b2401$ «Головокружение», субшкала боли опросника SF-36 и общая эффективность МР по шкале ВАШ), но и негативный прогноз по 1 критерию ($b410$ «Функции сердца»), отраженные в уравнениях №№ 4-6 и 3 соответственно.

ВЫВОДЫ

Принимая во внимание все выявленные эффекты процедур, можно сформулировать следующие выводы:

1. Электросон, как в варианте классической методики, так и с дополнительными эндоназальными каплями Даларгина, обеспечивает эффективную медицинскую реабилитацию пациентов с ИБС по ряду функциональных параметров.
2. Курс ЭС обеспечивает положительный прогноз результата МР по 2 критериям - $b410$ «Функции сердца» и $b4601$ «Ощущения, связанные с сердечно-сосудистой и дыхательной системами».
3. Курс ЭСД обеспечивает положительный прогноз результата МР по 3 критериям ($b2401$ «Головокружение», субшкала боли опросника SF-36 и общая эффективность МР по шкале ВАШ), но и негативный прогноз по 1 критерию ($b410$ «Функции сердца»).
4. Исходя из перечня клинических задач МР по уменьшению нарушений конкретных параметров пациентов с ИБС, врач может выбрать ЭС или ЭСД в зависимости от их эффективности в отношении этих параметров.
5. Перспективным направлением дальнейших исследований является применение ЭС в комплексе с физиотерапевтическими воздействиями, обладающими потенциалом в отношении психосоматических синдромов, характерных для пациентов с ИБС.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors have no conflict of interests to declare.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гиляровский В. А., Ливенцев Н. М., Сегаль Ю. Е., Кириллова З. А. Электросон (клинико-физиологическое исследование). М.: Медгиз; 1953.
2. Герцев А. В., Ищук В. Н. Особенности влияния импульсной электротерапии (электросонотерапии) на нейропептидноцитокинный профиль при артериальной гипертензии, протекающей на фоне астено-неврологических нарушений, у мужчин молодого возраста из группы напряженных профессий. Медицинская иммунология, 2018;20(1): 123-128. doi: 10.15789/1563-0625-2018-1-123-128.
3. Давыдов Е. Л. Применение электросна и психотерапии в реабилитации больных ишемической болезнью сердца со стабильной стенокардией с нарушением ритма и социально-психологической дезадаптацией: автореф. дисс. канд. мед. наук. Томск; 2002.
4. Приказ Министерства здравоохранения и социального развития РФ от 22 ноября 2004 г. № 221 «Об утверждении стандарта санаторно-курортной помощи

больным с ишемической болезнью сердца: стенокардией, хронической ИБС».

5. Титов М. И., Виноградов В. А., Беспалова Ж. Д. Даларгин – пептидный препарат с цитопротективным действием. Бюллетень Всесоюзного кардиологического научного центра АМН СССР. 1985; 2:72–76.

6. Мизин В. И. Некоторые эффекты использования синтетического опиоидного пептида даларгина в физикодиагностике и физиотерапии. Вестник физиотерапии и курортологии. 1995; 2:19-21.

7. Мизин В. И. Изменения энергообмена кардиореспираторной системы больных хроническим бронхитом под воздействием гальванизации и электрофореза даларгина на область грудной клетки. Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физической культуры. 1995; 4:7-12.

8. Электрофорез и ингаляции даларгина в лечении и профилактике заболеваний кардио-респираторной, нейро-сосудистой и пищеварительной систем. Учебно-методическое пособие. Под ред. Богданова Н.Н., Солдатченко С.С. Ялта-Симферополь; 1997.

9. Приказ Министерства здравоохранения РФ от 28 сентября 2020 №1029н «Об утверждении перечней медицинских показаний и противопоказаний для санаторно-курортного лечения».

10. Пономаренко Г. Н., Ковлен Д. В. Физическая и реабилитационная медицина. Клинические рекомендации, основанные на доказательствах: 3-е изд-е, перераб., доп. Под ред. акад. А. Н. Разумова. М.: Наука; 2020.

11. Приказ Министерства здравоохранения РФ от 31.07.2020 г. №788н «Об утверждении порядка организации медицинской реабилитации взрослых».

12. Психологические тесты. Под ред. А. А. Карелина: В 2т. М.: ВЛАДОС; 2005.

13. Белова А. Н., Буйлова Т. В. Шкалы, тесты и опросники в медицинской реабилитации: Руководство для врачей. Под ред. О. Н. Щепетовой. М.: Антидор; 2002.

14. Мизин В. И., Северин Н. А., Дудченко Л. Ш., Ежов В. В., Иващенко А. С., Беляева С. Н., Масликова Г. Г., Северина К. С. Методология оценки реабилитационного потенциала и эффективности медицинской реабилитации у пациентов с патологией кардио-респираторной системы в соответствии с «Международной классификацией функционирования, ограничений жизнедеятельности и здоровья». Актуальные вопросы физиотерапии, курортологии и медицинской реабилитации. Труды ГБУЗ РК «АНИИ им. И.М. Сеченова». Ялта. 2016;27:1-22.

15. Мизин В. И., Ежов В.В., Царев А.Ю. и др. Использование опросника SF-36 в оценке эффективности медицинской реабилитации на основе критериев «Международной классификации функционирования, нарушения жизнедеятельности и здоровья». Вестник физиотерапии и курортологии. 2020; 26(4):85-89. doi:10.37279/2413-0478-2020-26-4-85-89

REFERENCES

1. Gilyarovskiy V. A., Liventsev N. M., Segal Yu. E., Kirillova Z. A. Electrosleep (clinical and physiological study). Moscow: Medgiz; 1953.

2. Gertsev A. V., Ishchuk V. N. Features of the influence of pulsed electrotherapy (electrosleep therapy) on the neuropeptide-cytokine profile in arterial hypertension occurring against the background of astheno-neurotic disorders in young men from the group of stressful professions. Medical Immunology, 2018;20(1): 123-128. doi:10.15789/1563-0625-2018-1-123-128.

3. Davydov E. L. The use of electrosleep and psychotherapy in the rehabilitation of patients with coronary heart disease with stable stenocardia with rhythm disturbance and socio-psychological maladjustment: authoref. diss. cand. med. sciences. Tomsk; 2002.

4. Order of the Ministry of Health and Social Development of the Russian Federation dated November 22, 2004 No. 221 "On approval of the standard of health resort care for patients with coronary heart disease: angina pectoris, chronic coronary artery disease".

5. Titov M. I., Vinogradov V. A., Bepalova Zh. D. Dalargin is a peptide drug with a cytoprotective effect. Bulletin of the All-Union Cardiology Research Center of the USSR Academy of Medical Sciences. 1985;2:72–76.

6. Mizin V. I. Some effects of using the synthetic opioid peptide dalargin in physical diagnostics and physiotherapy. Bulletin of physiotherapy and balneology. 1995;2:19-21

7. Mizin V. I. Changes in the energy exchange of the cardio-respiratory system of patients with chronic bronchitis under the influence of galvanization and electrophoresis of dalargin on the chest area. Problems of balneology, physiotherapy and exercise therapy. 1995;4:7-12.

8. Electrophoresis and inhalation of dalargin in the treatment and prevention of diseases of the cardio-respiratory, neuro-vascular and digestive systems. Teaching aid. Eds. Bogdanov N. N., Soldatchenko S.S. Yalta-Simferopol; 1997.

9. Order of the Ministry of Health of the Russian Federation dated September 28, 2020 No. 1029n "On approval of the lists of medical indications and contraindications for health resort treatment".

10. Ponomarenko G. N., Kovlen D. V. Physical and rehabilitation medicine. Evidence-based clinical guidelines: 3rd ed., Revised, Add. Ed. acad. A. N. Razumov. Moscow: Nauka, 2020.

11. Order of the Ministry of Health of the Russian Federation dated July 31, 2020 No. 788n "On Approval of the Procedure for Organization of Medical Rehabilitation of Adults".

12. Psychological tests/ Eds. A. A. Karelin: In 2 volumes. M.: VLADOS; 2005.

13. Belova A. N., Buylova T. V. Scales, tests and questionnaires in medical rehabilitation: A guide for doctors. Eds. Shchepetova O. N. Moscow: Antidor; 2002.

14. Mizin V. I., Severin N. A., Dudchenko L. Sh., Yezhov V. V., Ivashchenko A. S., Belyaeva S. N., Maslakova G. G., Severina K. S. Methodology for assessing the rehabilitation potential and effectiveness of medical rehabilitation in patients with pathology of the cardio-respiratory system in accordance with the International Classification of Functioning, Disabilities and Health «Topical issues of physiotherapy, balneology and medical rehabilitation.

Proceedings of GBUZ RK «ANII im. I.M. Sechenov». Yalta. 2016; 27:1-22.

15. Mizin V. I., Ezhov V. V., Tsarev A. Yu. The use of the SF-36 questionnaire in assessing the effectiveness of medical rehabilitation based on the criteria of the International Classification of Functioning, Disabilities and Health. Bulletin of physiotherapy and balneology. 2020;26(4):85-89. doi:10.37279/2413-0478-2020-26-4-85-89

ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЕ ПРЕКОНДИЦИОНИРОВАНИЕ ИШЕМИЧЕСКИ-РЕПЕРФУЗИОННОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ ПЕЧЕНИ КРЫС СРЕДСТВАМИ ЭНЕРГОТРОПНОЙ НАПРАВЛЕННОСТИ ДЕЙСТВИЯ

Попов К. А., Столярова А. Н., Ермакова Г. А., Есауленко Е. Е., Быков И. М., Тутаришева С. М., Устинова Е. С., Владимиров А. С.

ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России, 350063, ул. Седина 4, Краснодар, Россия

Для корреспонденции: Попов Константин Андреевич, кандидат медицинских наук, доцент кафедры фундаментальной и клинической биохимии ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России, e-mail: naftalin444@mail.ru

For correspondence: Konstantin A. Popov, PhD, Associate professor of the department of fundamental and clinical biochemistry Kuban state medical university, e-mail: naftalin444@mail.ru

Information about authors:

Popov K. A., <http://orcid.org/0000-0002-3649-1361>

Stolyarova A. N., <http://orcid.org/0000-0002-5817-130X>

Ermakova G. A., <https://orcid.org/0000-0001-6473-3594>

Esauleenko E. E., <https://orcid.org/0000-0002-9386-8049>

Bykov I. M., <http://orcid.org/0000-0002-1787-0040>

Tutarisheva S. M., <https://orcid.org/0000-0003-0366-2301>

Ustinova E. S., <http://orcid.org/0000-0003-1916-2897>

Vladimirov A. S., <https://orcid.org/0000-0003-4965-8340>

РЕЗЮМЕ

В патогенезе ишемически-реперфузионного синдрома ключевую роль играют нарушения энергетического обмена, поэтому целью работы было определение возможностей метаболической профилактики повреждений печени крыс путем введения субстратов, коферментов и других регуляторов энергообмена. В работе были использованы 6 групп белых нелинейных крыс-самцов по 10 особей. Для моделирования ишемически-реперфузионного повреждения печени крысам 2-й групп осуществляли пережатие сосудистых пучков, питающих левую боковую и центральную доли печени на 40 минут, а спустя 3 часа после восстановления кровотока забирали кровь из каудальной полой вены. Крысам 2-й группы за 30 минут до и после ишемии внутрибрюшинно вводили по 1 мл физиологического раствора. Животным 3-й группы по аналогичной схеме вводили по 1 мл ремаксол. Крысам 4-й группы вводили по 1 мл ремаксол с дихлорацетатом натрия. Животным 5-й группы вводили раствора ремаксол с дихлорацетатом натрия и аскорбиновой кислотой. Животным 6-й группы вводили физиологический раствор с пируватом натрия, липоевой кислотой, тиаминдифосфатом и дихлорацетатом натрия. Анализ влияния метаболических препаратов на цитолитический синдром после ишемически-реперфузионного повреждения печени крыс показал наличие небольшого гепатопротективного действия комбинированного лекарственного препарата ремаксол. Это было подтверждено сниженными на 28-29% значениями активности ферментов-маркеров цитолиза. Возможности усиления эффекта ремаксол не были достигнуты, несмотря на дополнение его состава веществами, имеющими разные молекулярные механизмы действия. С учетом того, что самостоятельное использование средств антиоксидантной направленности действия оказывает протективное влияние на развитие ишемически-реперфузионных повреждений, можно предположить наличие нескольких конкурентных защитных механизмов прекондиционирования, не позволяющих реализовать синергетическое взаимодействие разных веществ, исследуемых в работе. Действие дихлорацетата натрия может быть связано с модуляцией свободнорадикальных сигнальных путей, аналогичных путям, реализуемым при ишемическом прекондиционировании. Дополнительное введение аскорбиновой или липоевой кислоты нивелировало прооксидантное действие, выявленное в крови крыс 4-й группы, что также сопровождалось устранением цитопротективного действия. Полученные данные свидетельствуют о потенциальной возможности метаболической профилактики ишемически-реперфузионных повреждений печени, однако предстоит еще большая работа по поиску эффективных средств и комбинаций лекарственных веществ и биологически активных добавок.

Ключевые слова: ишемически-реперфузионный синдром, энергетический обмен, печень, метаболические цитопротекторы, гепатопротекторы, антиоксидантная система.

PHARMACOLOGICAL PRECONDITIONING OF ISCHEMIC-REPERFUSION DAMAGE TO THE LIVER OF RATS BY PHARMACEUTICAL MEANS OF ENERGETROPIC ACTION

Popov K. A., Stolyarova A. N., Ermakova G. A., Esauleenko E. E., Bykov I. M., Tutarisheva S. M., Ustinova E. S., Vladimirov A. S.

Kuban state medical university, Krasnodar, Russia

SUMMARY

In the pathogenesis of ischemia-reperfusion syndrome, energy metabolism disorders play a key role, so the purpose of the study was to determine the possibilities of metabolic prevention of liver damage in rats by introducing

substrates, coenzymes, and other energy metabolism regulators. In the presented paper, 6 groups of white non-linear male rats, including 10 individuals each, were used. To simulate ischemia-reperfusion liver damage, rats of Groups 2-6 were clamped on the vascular bundles supplying the left lateral and central lobes of the liver for 40 minutes, and 3 hours after the restoration of blood flow, blood was taken from the caudal vena cava. Rats of the 2nd group 30 minutes before and after ischemia were intraperitoneally injected with 1 ml of saline. Animals of the 3rd group were injected with 1 ml of remaxol according to a similar scheme. Rats of the 4th group were injected with 1 ml of remaxol with sodium dichloroacetate. Animals of the 5th group were injected with a solution of remaxol with sodium dichloroacetate and ascorbic acid. Animals of the 6th group were injected with saline with sodium pyruvate, lipoic acid, thiamine diphosphate and sodium dichloroacetate. Analysis of the effect of metabolic drugs on the cytolytic syndrome after ischemic-reperfusion injury of the liver of rats demonstrated the presence of a slight hepatoprotective effect of the combined remaxol drug. This was confirmed by a 28-29% decrease in the activity of enzyme-markers of cytolysis. The possibilities of enhancing the effect of remaxol have not been achieved, despite the addition of its composition with substances having different molecular mechanisms of action. Taking into account the fact that the independent use of antioxidant agents has a protective effect on the development of ischemia-reperfusion injuries, it can be assumed that there are several competitive protective mechanisms of preconditioning that do not allow the implementation of a synergistic interaction of different substances studied in the work. The action of sodium dichloroacetate may be associated with the modulation of free radical signaling pathways, similar to the pathways realized during ischemic preconditioning. Additional administration of ascorbic or lipoic acid neutralized the prooxidant effect found in the blood of rats of the 4th group, which was also accompanied by the elimination of the cytoprotective effect. The obtained data indicate the potential for metabolic prevention of ischemic-reperfusion liver damage, but there is still a lot of work to be done to find effective agents and combinations of drugs and dietary supplements.

Key words: ischemia-reperfusion syndrome, energy metabolism, liver, metabolic cytoprotectors, hepatoprotectors, antioxidant system.

В патогенезе ишемически-реперфузионного синдрома ключевую роль играют нарушения энергетического обмена. Ишемический период характеризуется недостатком кислорода в ткани, реже наблюдается недостаток субстратов для окисления, так как собственных резервов хватает как правило на срок, превышающий длительность возможной жизнеспособности ткани в условиях сосудистой изоляции. Реперфузионный период характеризуется дальнейшим прогрессированием нарушений энергообмена, несмотря на кажущееся спасительным восстановление кровотока. В этот период основным патобиохимическим механизмом повреждения клеток является окислительный стресс [1; 2]. При этом начинает прогрессировать образование свободных радикалов еще в ишемическом периоде, что обеспечивает повреждение некоторых ключевых структур митохондрий, таких как пируватдегидрогеназный комплекс (ПДК) [3]. Выключение окислительного декарбоксилирования пирувата при реоксигенации ткани затрудняет использование глюкозы и переход к нормальным аэробным энергетическим процессам [4]. Позже реализуется активация провоспалительных факторов, которые также усиливают окислительное повреждение ткани. Последнее особенно актуально для паренхимы печени, клеткам Купфера в которой отдают ключевую роль в интенсификации свободнорадикальных процессов [5; 6]. Перспективные направления метаболической профилактики ишемически-реперфузионного синдрома связаны с попытками нормализации энергообмена. Для этого могут быть использованы субстраты, так показана высокая антигипоксическая активность сукцината натрия [7]. Ингибирование ПДК и отсутствие субстратов

(НАДН) для I комплекса дыхательной цепи митохондрий основные пути образования энергии связаны с работой сукцинатдегидрогеназы (комплекс II) [8]. Среди кофакторов энергетического обмена можно выделить НАД, ФАД, тиаминдифосфат, липоевую кислоту и другие, которые также могут быть использованы для метаболической коррекции повреждений при ишемически-реперфузионном синдроме. Еще одним направлением может служить использование антиоксидантов [2], которые давно зарекомендовали себя как потенциальные цитопротекторы, тем не менее их эффективность, как и эффективность вышеперечисленных средств остается недостаточной, способной только в ограниченном масштабе снизить проявления ишемически-реперфузионных повреждений. Поэтому в нашей работе мы оценили эффективность ремаксолола – комбинированного энерготропного препарата [9], заявленного как гепатопротектор, в коррекции сосудистой эксклюзии печени крыс, а также попытались увеличить его защитные свойства путем дополнительного введения дихлорацетата натрия (активатор пируватдегидрогеназы), субстрата и коферментов ПДК (пируват, липоевая кислота, тиаминдифосфат) и антиоксиданта (аскорбиновая кислота).

Цель работы – определить возможности метаболической профилактики ишемически-реперфузионных повреждений печени крыс путем введения субстратов, коферментов и других регуляторов энергетического обмена.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Для проведения работ были использованы белые нелинейные половозрелые крысы-самцы массой 200-250 грамм. Лабораторные живот-

ные были разделены на 6 групп по 10 особей в каждой. Для моделирования ишемически-реперфузионного повреждения печени крысам 2-6-й групп осуществляли срединную лапаротомию и пережатие сосудистых пучков, питающих левую боковую и центральную доли печени на 40 минут. Через 3 часа после восстановления кровотока забирали кровь из каудальной полой вены для лабораторных исследований [10]. Животные 1-й группы (контрольная группа) были представлены интактными крысами, содержащимися в аналогичных условиях с крысами опытных групп. Крысам 2-й группы за 30 минут перед выключением печени из кровотока и сразу после снятия зажимов внутрибрюшинно вводили по 1 мл физиологического раствора (группа сравнения). Животным 3-й группы по аналогичной схеме вводили по 1 мл ремаксолола. Крысам 4-й группы вводили также по 1 мл ремаксолола с предварительно растворенным дихлорацетатом натрия 35 мг/мл. Животным 5-й группы вводили внутрибрюшинно по 1 мл до и после ишемии раствора ремаксолола с растворенным дихлорацетатом натрия 35 мг/мл и аскорбиновой кислотой 10 мг/мл. Животным 6-й группы вводили по аналогичной схеме физиологический раствор с растворенным пируватом натрия 10 мг/мл, липоевой кислотой 10 мг/мл, тиаминдифосфатом 10 мг/мл и дихлорацетатом натрия 35 мг/мл. Таким образом, были сформированы группы лабораторных животных, которым вводили: 1) чистый ремаксолол; 2) ремаксолол, дополненный активатором ПДК; 3) ремаксолол с активатором ПДК и антиоксидантом; 4) активатор, субстрат и коферменты ПДК в физиологическом растворе.

В плазме крови лабораторных животных определяли активность ферментов-маркеров цитолитического синдрома (АЛТ, АСТ и ЛДГ) и концентрацию лактата с помощью наборов реагентов Randox (Великобритания) на автоматическом биохимическом анализаторе. Также в плазме крови определяли уровень железо-восстанавливающей способности (FRAP), который можно рассматривать как один из способов оценки общей антиоксидантной активности (АОА). Для оценки состояния окислительного гомеостаза также определяли способность радикальной сорбции АВТС плазмой крови, суммарное содержание тиоловых групп в плазме крови [11]. В эритроцитарной взвеси определяли содержание глутатиона и продуктов окислительных повреждений биомолекул – ТБК-реактивных продуктов [12].

Статистический анализ данных был выполнен с помощью программы Stat Plus for Windows (AnalystSoft Inc.) и был основан на использовании непараметрических критериев. Обоснова-

нием для использования таких критериев был сравнительно небольшой размер выборок и отличие в большинстве случаев характера распределения от нормального закона. Так как проводили сравнение нескольких групп – контрольная, группа сравнения и опытная, использовали критерий Краскела-Уоллиса, а при наличии статистически значимых отличий проводили попарное сравнение с использованием критерия Манна-Уитни. Различия между показателями групп считали статистически значимыми при уровне $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В результате проведенных исследований были получены данные, свидетельствующие о небольшом протективном влиянии ремаксолола, что отражалось на проявлении цитолитического синдрома при ишемически-реперфузионном повреждении печени (таблица 1). Активность АЛТ в плазме крови крыс 3-й группы, получавших ремаксолол на фоне моделирования патологического процесса, была на 28% ниже значения аналогичного показателя животных группы сравнения. Активность АСТ также была снижена относительно показателя 2-й группы на 29%. Активность ЛДГ в плазме крови крыс 3-й группы была снижена в меньшей степени – на 16%. Таким образом, ремаксолол смог подтвердить свою гепатопротекторную активность, тем не менее она оказалась достаточно низкой, в том числе по сравнению с данными других экспериментальных исследований, представленных в литературе [13]. Попытка усилить действие ремаксолола дополнительным введением дихлорацетата натрия не привела к успеху, тем не менее уровень ферментов маркеров цитолиза гепатоцитов в плазме крови соответствовал значениям показателей 3-й группы. Комбинация ремаксолола с дихлорацетатом натрия и аскорбиновой кислотой привела к нивелированию вышеописанных протективных эффектов. Более того уровень активности АЛТ, АСТ и ЛДГ в плазме крови животных 5-й группы даже превышал значения соответствующих параметров группы сравнения на 16-20%. Введение лабораторным животным 6-й группы перед васкулярной эксклюзией печени и после снятия зажима раствора пирувата натрия и коферментов ПДК не сопровождалось какими-либо статистически значимыми изменениями маркеров цитолитического синдрома относительно показателей группы сравнения.

Определение концентрации лактата после ишемически-реперфузионного повреждения печени показало увеличенное его содержание в плазме крови лабораторных животных 2-3-й

Таблица 1

Изменение уровня маркеров цитолитического синдрома у крыс после ишемически-реперфузионного повреждения печени и проведения коррекции (Ме(p0,25/p0,75))

Исследуемые группы	Исследуемые показатели		
	АЛТ, ед/л	АСТ, ед/л	ЛДГ, ед/л
1 (контроль)	28 (24/32)	31 (26/34)	117 (102/128)
2 (сравнения)	895 (825/960)*	956 (893/1022)*	1875 (1728/1970)*
3	648 (586/702)*^	680 (624/732)*^	1575 (1492/1655)*^
4	668 (605/708)*^	692 (624/740)*^	1554 (1490/1635)*^
5	1035 (916/1085)*	1150 (1005/1241)*	2234 (2056/2360)*^
6	934 (865/981)*	1041 (925/1088)*	1915 (1765/1988)*

Примечание: * - статистически значимые отличия ($p < 0,05$) от соответствующего показателя контрольной группы; ^ - статистически значимые отличия ($p < 0,05$) от показателя группы сравнения.

групп до уровня 4,3-4,7 ммоль/л. На фоне дополнительного введения дихлорацетата натрия животным 4-5-й групп уровень молочной кислоты в крови был ожидаемо снижен до уровня

2,3-2,4 ммоль/л. Также относительно группы сравнения низкий уровень концентрации лактата (2,0 (1,8;2,1) ммоль/л) был характерен для крови лабораторных крыс 6-й группы.

Таблица 2

Изменение показателей антиоксидантной системы плазмы крови после ишемически-реперфузионного повреждения печени и проведения коррекции (Ме(p0,25/p0,75))

Исследуемые группы	Исследуемые показатели		
	АОА (FRAP), мМ аскорб. к-ты	АОА (ABTS), мМ аскорб. к-ты	Общие SH-группы, е.о.п.*100/конц. белка
1 (контроль)	0,52 (0,48/0,55)	0,59 (0,55/0,63)	0,34 (0,32/0,36)
2 (сравнения)	0,34 (0,31/0,36)*	0,38 (0,35/0,41)*	0,23 (0,21/0,24) *
3	0,35 (0,32/0,37)*	0,39 (0,37/0,42)*	0,24 (0,22/0,25)*
4	0,27 (0,25/0,30)*^	0,29 (0,27/0,33)*^	0,28 (0,26/0,30)*^
5	0,36 (0,33/0,38)*	0,35 (0,32/0,37)*	0,37 (0,34/0,38)^
6	0,35 (0,32/0,38)*	0,32 (0,30/0,35)*^	0,29 (0,27/0,31)*^

Примечание: * - статистически значимые отличия ($p < 0,05$) от соответствующего показателя контрольной группы; ^ - статистически значимые отличия ($p < 0,05$) от показателя группы сравнения.

Оценка изменений параметров антиоксидантной системы плазмы крови лабораторных животных 2-й группы показала ожидаемо сниженный на 32-36% уровень железо-восстанавливающей способности, радикальной сорбции и тиоловых групп после ишемии-реперфузии печени (таблица 2). Введение крысам 3-й группы ремаксола не способствовало статистически значимым изменениям анализируемых лабораторных показателей. Аналогичный результат получен и при исследовании 5-6-й групп лабораторных животных, за исключением содержания тиоловых групп, которое в случае дополнительного введения антиоксидантов – аскорбиновой или липоевой кислоты было существенно выше

параметра группы сравнения. Наиболее интересным образом изменялись показатели системы антиоксидантной защиты в плазме крови животных 4-й группы. В этом случае были снижены показатели общей антиоксидантной активности, определенные одним из 2-х способов, даже в сравнении с соответствующими показателями 2-й группы сравнения. Уровень железо-восстанавливающей способности плазмы крови крыс 4-й группы был на 20% ниже показателя 2-й группы.

ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ влияния метаболических препаратов на цитолитический синдром после ишемически-

реперфузионного повреждения печени крыс показал наличие небольшого гепатопротективного действия комбинированного лекарственного препарата ремаксол. В ситуации острого повреждения паренхимы печени метаболическая поддержка оказывается не такой эффективной, как при хронических гепатитах различного этиопатогенеза. Возможности усиления эффекта ремаксолола не были достигнуты, несмотря на дополнение его состава веществами, имеющими разные молекулярные мишени. Более того введение дихлорацетата и аскорбиновой кислоты нивелировало защитные эффекты ремаксолола. Известно, что сам дихлорацетат натрия способен оказывать защитное действие в условиях моделирования аналогичного патологического процесса, при этом механизм может быть связан со снижением уровня лактатацидоза, активацией использования пирувата и глюкозы после восстановления кровотока, а также интенсификацией образования активных форм кислорода в перевосстановленной дыхательной цепи в ишемический период, действующих как медиаторы ишемического прекодиционирования [14; 15]. С учетом последнего эффекта дополнительное введение антиоксиданта – аскорбиновой кислоты может нивелировать протективное действие дихлорацетата натрия. В этих условиях могли реализоваться токсические эффекты активатора пируватдегидрогеназы, особенно на фоне перегрузки печени целым рядом лекарственных средств и биоактивных добавок. Интересно, что введение субстрата, коферментов и активатора ПДК не оказало протективного действия на модели ишемии-реперфузии печени. Вероятно, самой активации окислительного декарбоксилирования пирувата недостаточно и в данном случае имеет место быть также нивелирование протективного действия дихлорацетата натрия антиоксидантным эффектом липоевой кислоты. Недостаточным также представляется снижение уровня лактатацидоза, так как в крови крыс 4-6-й групп уровень лактата был до 2-х раз ниже, чем в группе сравнения, однако это никак не соотносилось с выраженностью цитолитического синдрома.

Анализ изменений показателей системы антиоксидантной защиты показал практически отсутствие влияния используемых средств метаболической направленности действия. Ремаксол, который показал наиболее заметный протективный эффект в условиях ишемически-реперфузионного повреждения печени, не оказывал никакого влияния на уровень общей антиоксидантной активности и содержание SH-групп в плазме крови. Следует отметить, что данный препарат заявляется как антиоксидант и антигипоксант, но проявляет эти эффекты только косвенным образом, через

нормализацию энергетического обмена, так как не содержит в своем составе ни одного компонента, обладающего восстановительной способностью и способного нейтрализовать радикалы [9; 16]. В условиях острого эксперимента такое действие ремаксолола просто не успело бы развиваться, а его цитопротективное действие вероятнее связано с противоишемическим действием янтарной кислоты [7]. Снижение антиоксидантной активности, определенной любым из 2-х используемых способов, у крыс 4-й группы можно связать с предполагаемым прооксидантным действием дихлорацетата натрия. При этом проявление такого эффекта на системном уровне может свидетельствовать о значительной его выраженности. Выявленные изменения можно рассматривать как косвенное доказательство того, что защитное действие дихлорацетата натрия связано как раз с модуляцией свободнорадикальных сигнальных путей, аналогичных путям, реализуемым при ишемическом прекодиционировании. Дополнительное введение аскорбиновой кислоты нивелировало прооксидантное действие, выявленное в крови крыс 4-й группы, что также сопровождалось устранением цитопротективного действия как дихлорацетата натрия, так и ремаксолола. Интересно, что введение животным 6-й группы сильного SH-содержащего антиоксиданта – липоевой кислоты не было способно поддержать функциональное состояние системы антиоксидантной защиты и даже не позволило увеличить уровень тиоловых групп в плазме крови. Вероятно, что и в данной ситуации активация пируватдегидрогеназного комплекса оказалась несовместимой с прямым антиоксидантным действием. Таким образом, в работе представлена оценка цитопротекторной эффективности ремаксолола в условиях ишемически-реперфузионного повреждения печени, проанализированы ранее полученные данные по использованию дихлорацетата натрия в аналогичных условиях, а также обсуждена связь полученных результатов с изменениями антиоксидантного статуса крови животных. С учетом того, что самостоятельное использование средств антиоксидантной направленности действия, в том числе аскорбиновой или липоевой кислот, оказывает протективное влияние на развитие ишемически-реперфузионных повреждений [2; 17; 18], можно предположить наличие нескольких конкурентных защитных механизмов прекодиционирования, не позволяющих реализовать синергетическое взаимодействие разных веществ, исследуемых в работе.

ВЫВОДЫ

Полученные данные свидетельствуют о возможности метаболической профилактики

ишемически-реперфузионных повреждений печени, однако предстоит еще большая работа по поиску эффективных средств и комбинаций лекарственных веществ и биологически активных добавок. Перспективными направлениями усиления способов метаболической коррекции ишемически-реперфузионных повреждений является использование средств антиоксидантной или прооксидантной направленности действия, способных ингибировать развитие и прогрессирование окислительного стресса в ходе ишемии и реперфузии или имитировать молекулярные защитные механизмы ишемического preconditionирования.

Финансирование. Исследование выполнено при финансовой поддержке Кубанского научного фонда в рамках научного проекта № Н-21.1/31/21.

Funding. The research was carried out with the financial support of the Kuban Science Foundation as part of a scientific project No. Н-21.1/31/21.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors have no conflict of interests to declare.

ЛИТЕРАТУРА

- Goikoetxea-Usandizaga N., Serrano-Maciá M., Delgado T. C., Simón J. Mitochondrial bioenergetics boost macrophage activation, promoting liver regeneration in metabolically compromised animals. *Hepatology*. 2022;75(3):550-566. doi:10.1002/hep.32149.
- Mohamadian M., Parsamanesh N., Chiti H., Sathyapalan T., Sahebkar A. Protective effects of curcumin on ischemia/reperfusion injury. *Phytother Res*. 2022. doi:10.1002/ptr.7620.
- Geng X., Elmadhoun O., Peng C., Ji X., Hafeez A., Liu Z., Du H., Rafols J.A., Ding Y. Ethanol and normobaric oxygen: Novel approach in modulating pyruvate dehydrogenase complex after severe transient and permanent ischemic stroke. *Stroke*. 2015;46(2):492-499. doi:10.1161/STROKEAHA.114.006994.
- Piao L., Fang Y. H., Kubler M. M., Donnino M. W., Sharp W. W. Enhanced pyruvate dehydrogenase activity improves cardiac outcomes in a murine model of cardiac arrest. *PLoS One*. 2017;12(9):e0185046. doi:10.1371/journal.pone.0185046.
- Brenner C., Galluzzi L., Kepp O., Kroemer G. Decoding cell death signals in liver inflammation. *J Hepatol*. 2013;59(3):583-94. doi:10.1016/j.jhep.2013.03.033.
- Barbier L., Robin A., Sindayigaya R., Ducousso H., Dujardin F., Thierry A., Hauet T., Girard J. P., Pellerin L., Gombert J. M., Herbelin A., Salamé E. Endogenous interleukin-33 acts as an alarmin in liver ischemia-reperfusion and is associated with injury after human liver transplantation. *Front Immunol*. 2021;12:744927. doi:10.3389/fimmu.2021.744927.
- Неймарк М. И. Синдром ишемии-реперфузии. *Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова*. 2021;(9):71-76. doi:10.17116/hirurgia202109171.
- Kula-Alwar D., Prag H. A., Krieg T. Targeting succinate metabolism in ischemia/reperfusion injury. *Circulation*. 2019;140(24):1968-1970. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.119.042791.
- Филиппова Н. В., Барыльник Ю. Б., Шульдяков А. А. Применение ремаксола в качестве гепатопротектора при длительной психофармакотерапии. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2019;119(4):43-46. doi:10.17116/jnevro201911901143.
- Попов К. А., Цымбалюк И. Ю., Сепиашвили Р. И., Быков И. М., Устинова Е. С., Быков М. И. Выбор оптимального маркера острого повреждения печени крыс в эксперименте. *Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина*. 2020;24(4):293-303. doi:10.22363/2313-0245-2020-24-4-293-303.
- Вяткин А. В., Пастушкова Е. В., Феофилактова О. В. Обзор методов определения общей антиоксидантной активности. *Современная наука и инновации*. 2018;21(1):58-66.
- Карпищенко А. И. *Медицинские лабораторные технологии*. Справочник. СПб: Интермедика, 2002. 600 с.
- Theodoraki K., Tumpa A., Karmanioliou I., Tsaroucha A., Arkadopoulou N., Smyrniotis V. Ischemia/reperfusion injury in liver resection: a review of preconditioning methods. *Surg Today*. 2011;41(5):620-9. doi:10.1007/s00595-010-4444-4.
- Цымбалюк И. Ю., Мануйлов А. М., Попов К. А., Басов А. А. Метаболическая коррекция дихлорацетатом натрия ишемически-реперфузионного повреждения при сосудистой изоляции печени в эксперименте. *Новости хирургии*. 2017;25(5):447-453. doi:10.18484/2305-0047.2017.5.447.
- Попов К. А., Быков И. М., Цымбалюк И. Ю., Азимов Э. А., Быков М. И., Денисова Я. Е., Столярова А. Н., Есауленко Е. Е. Прооксидантное preconditionирование ишемически-реперфузионного поражения печени в эксперименте. *Медицинский вестник Северного Кавказа*. 2022;17(1):56-59. doi:10.14300/mnnc.2022.17015.
- Сас Е. И., Гриневич В. Б. Многокомпонентные инфузионные гепатопротекторы при лекарственном поражении печени. *Медицинский совет*. 2019;3:84-88. doi:10.21518/2079-701X-2019-3-84-88.
- Spoelstra-de Man A. M. E., Elbers P. W. G., Oudemans-van Straaten H. M. Making sense of early high-dose intravenous vitamin C in ischemia/reperfusion injury. *Crit Care*. 2018;22(1):70. doi:10.1186/s13054-018-1996-y.
- Ding Y., Zhang Y., Zhang W., Shang J., Xie Z., Chen C. Effects of lipoic acid on ischemia-reperfusion injury. *Oxid Med Cell Longev*. 2021;2021:5093216. doi:10.1155/2021/5093216.

REFERENCES

- Goikoetxea-Usandizaga N., Serrano-Maciá M., Delgado T. C., Simón J., et al. Mitochondrial bioenergetics

- boost macrophage activation, promoting liver regeneration in metabolically compromised animals. *Hepatology*. 2022;75(3):550-566. doi:10.1002/hep.32149.
2. Mohamadian M., Parsamanesh N., Chiti H., Sathyapalan T., Sahebkar A. Protective effects of curcumin on ischemia/reperfusion injury. *Phytother Res*. 2022. doi:10.1002/ptr.7620.
 3. Geng X., Elmadhoun O., Peng C., Ji X., Hafeez A., Liu Z., Du H., Rafols J.A., Ding Y. Ethanol and normobaric oxygen: Novel approach in modulating pyruvate dehydrogenase complex after severe transient and permanent ischemic stroke. *Stroke*. 2015;46(2):492-499. doi:10.1161/STROKEAHA.114.006994.
 4. Piao L., Fang Y. H., Kubler M. M., Donnino M. W., Sharp W. W. Enhanced pyruvate dehydrogenase activity improves cardiac outcomes in a murine model of cardiac arrest. *PLoS One*. 2017;12(9):e0185046. doi:10.1371/journal.pone.0185046.
 5. Brenner C., Galluzzi L., Kepp O., Kroemer G. Decoding cell death signals in liver inflammation. *J Hepatol*. 2013;59(3):583-94. doi:10.1016/j.jhep.2013.03.033.
 6. Barbier L., Robin A., Sindayigaya R., Ducousso H., Dujardin F., Thierry A., Hauet T., Girard J. P., Pellerin L., Gombert J. M., Herbelin A., Salamé E. Endogenous interleukin-33 acts as an alarmin in liver ischemia-reperfusion and is associated with injury after human liver transplantation. *Front Immunol*. 2021;12:744927. doi:10.3389/fimmu.2021.744927.
 7. Neymark M. I. Ischemia-reperfusion syndrome. *Pirogov Russian Journal of Surgery = Khirurgiya. Zurnal im. N.I. Pirogova*. 2021;(9):71-76. (In Russ.). doi:10.17116/hirurgia202109171.
 8. Kula-Alwar D., Prag H. A., Krieg T. Targeting succinate metabolism in ischemia/reperfusion injury. *Circulation*. 2019;140(24):1968-1970. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.119.042791.
 9. Filippova N. V., Barylnik Y. B., Shuldyakov A. A. The efficacy of remaxol as a hepatoprotective agent in long-term psychopharmacotherapy. *Zh Nevrol Psikhiatr Im S S Korsakova*. 2019;119(4):43-46. (In Russ.). doi:10.17116/jnevro201911901143.
 10. Popov K. A., Tsymbalyuk I. Y., Sepiashvili R. I., Bykov I. M., Ustinova E. S., Bykov M. I. Optimum marker selection of acute liver damage in rats in the experiment. *RUDN Journal of MEDICINE*. 2020;24(4):293-303. (In Russ.). doi:10.22363/2313-0245-2020-24-4-293-303.
 11. Vyatkin A. V., Pastushkova E. V., Feofilaktova O. V. The review of methods for antioxidant activity determination. *Modern Science and Innovation*. 2018;21(1):58-66. (In Russ.).
 12. Karpishchenko A.I. Handbook. Medical Laboratory Technology. Sankt-Petersburg: Intermedika, 2002. (In Russ.).
 13. Theodoraki K., Tympa A., Karmanioliou I., Tsaroucha A., Arkadopoulou N., Smyrniotis V. Ischemia/reperfusion injury in liver resection: a review of preconditioning methods. *Surg Today*. 2011;41(5):620-9. doi:10.1007/s00595-010-4444-4.
 14. Tsymbalyuk I. Y., Manuilov A. M., Popov K. A., Basov A. A. Metabolic correction of the ischemia-reperfusion injury with sodium dichloroacetate in vascular isolation of the liver in experiment. *Novosti Khirurgii*. 2017;25(5):447-453. (In Russ.). doi:10.18484/2305-0047.2017.5.447.
 15. Popov K. A., Bykov I. M., Tsymbalyuk I. YU., Azimov E.A., Bykov M. I., Denisova YA. E., Stolyarova A. N., Esaulenko E. E. Prooxidant preconditioning of ischemic-reperfusion liver damage in experiment. *Medical news of North Caucasus*. 2022;17(1):56-59. (In Russ.). doi:10.14300/mnnc.2022.17015.
 16. Sas E. I., Grinevich V. B. Multi-component infusion hepatoprotectors for liver damage. *Medical council*. 2019;3:84-88. (In Russ.). doi:10.21518/2079-701X-2019-3-84-88.
 17. Spoelstra-de Man A. M. E, Elbers P. W. G, Oudemans-van Straaten H. M. Making sense of early high-dose intravenous vitamin C in ischemia/reperfusion injury. *Crit Care*. 2018;22(1):70. doi:10.1186/s13054-018-1996-y.
 18. Ding Y., Zhang Y., Zhang W., Shang J., Xie Z., Chen C. Effects of lipoic acid on ischemia-reperfusion injury. *Oxid Med Cell Longev*. 2021;2021:5093216. doi:10.1155/2021/5093216.

УДК: 616.61-002-092.4:615:546.46

DOI: 10.29039/2224-6444-2022-12-3-57-62

ОСОБЕННОСТИ МАГНИЕВОГО БАЛАНСА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ДЕСТРУКТИВНО-ВОСПАЛИТЕЛЬНОМ ПРОЦЕССЕ В СИСТЕМЕ МОЧЕОБРАЗОВАНИЯ И МОЧЕВЫВЕДЕНИЯ И НА ФОНЕ ПРИМЕНЕНИЯ МАГНИЙСОДЕРЖАЩЕЙ КОМПОЗИЦИИ

Рогова Л. Н., Филоненко О. С., Шестернина Н. В., Поветкина В. Н., Липов Д. С.

Кафедра патофизиологии, клинической патофизиологии, ФГБОУ ВО Волгоградский государственный медицинский университет Минздрава России, 400066пл. Павших Борцов,1, Волгоград, Россия

Для корреспонденции: Рогова Людмила Николаевна, доктор медицинских наук, профессор кафедры патофизиологии, клинической патофизиологии Волгоградского государственного медицинского университета, e-mail: rogovaln@mail.ru

For correspondence: Ludmila N. Rogova, MD, Department of Pathophysiology, Clinical Pathophysiology, Volgograd Medical State University, e-mail: rogovaln@mail.ru

Information about authors:

Rogova L. N., <https://orcid.org/0000-0003-1046-0329>

Filonenko O. S., <https://orcid.org/0000-0003-3710-7277>

Shesternina N. V., <https://orcid.org/0000-0002-3261-3851>

Povetkina V. N., <https://orcid.org/0000-0002-0910-5584>

Lipov D. S., <https://orcid.org/0000-0003-2086-0369>

РЕЗЮМЕ

В настоящее время в биологии и медицине признана значимая роль макро- и микроэлементов в поддержании параметров гомеостазиса. Согласно современным представлениям, каждой патологии свойственны определённые качественные и количественные отклонения в элементном составе, приводящие к развитию различных осложнений и побочных действий. В представленной статье рассмотрены особенности магниевого баланса при экспериментальном воспалительно-деструктивном процессе в системе мочеобразования и мочеиспускания и после применения магнийсодержащей композиции. Установлено, что на фоне деструктивно-воспалительного процесса в системе мочеобразования и мочеиспускания определяется значительное увеличение концентрации магния в плазме крови из разных регионов при незначимом приросте его уровня в эритроцитарной массе и резком возрастании потерь с мочой. Применение магнийсодержащей композиции сопровождается уменьшением его концентрации в плазме крови, незначимым снижением в эритроцитарной массе и значительным уменьшением потерь с мочой.

Ключевые слова: деструктивно-воспалительный процесс, система мочеобразования и мочеиспускания, магний, плазма крови, эритроцитарная масса, суточный объем мочи

THE PECULIARITIES OF MAGNESIUM BALANCE IN EXPERIMENTAL DESTRUCTIVE-AND- INFLAMMATORY PROCESS IN URINE PRODUCTION AND EXCRETION SYSTEM AGAINST THE BACKGROUND OF MAGNESIUM-CONTAINING COMPOSITION APPLICATION

Rogova L. N., Filonenko O. S., Shesternina N. V., Povetkina V. N., Lipov D. S.

Volgograd State Medical University of the Ministry of Health of Russia, Volgograd, Russia

SUMMARY

At present, in biology and medicine, the significant role of macro- and microelements in maintaining the parameters of homeostasis is recognized. According to modern concepts, is characterized by certain qualitative and quantitative deviations in the elemental composition, leading to the development of various complications and side effects. This article discusses the features of the magnesium balance in the experimental inflammatory-destructive process in the system of uropoiesis and urination and after the use of a magnesium-containing composition. It has been established that against the background of a destructive-inflammatory process in the system of uropoiesis and urination, a significant increase in the concentration of magnesium in the blood plasma from different regions is determined with an insignificant increase in its level in the erythrocyte mass and a sharp increase in urinary losses. The use of a magnesium-containing composition is accompanied by a decrease in its concentration in the blood plasma, an insignificant decrease in the erythrocyte mass and a significant decrease in urinary losses.

Key words: destructive-inflammatory process, uropoiesis and urination system, magnesium, blood plasma, erythrocyte mass, daily urine volume

Магний – один из ряда эссенциальных элементов, определяющих важные параметры гомеостазиса. Роль магния в физиологических

процессах, а также в формировании и развитии патологии трудно переоценить [1; 2]. Магний выступает как активатор и кофактор более чем

300 ключевых ферментов энергообразования и энергопотребления [3; 4; 5]. Магний также играет роль в минеральном метаболизме костей, метаболизме аденозинтрифосфата, высвобождении нейромедиаторов и в регуляции сосудистого тонуса, сердечного ритма и тромбоцит-активированного тромбоза [6]. Важным свойством магния является участие в процессах, обеспечивающих проницаемость через мембраны других ионов, регулирующих жизненно необходимые реакции [7]. Магний участвует в регуляции углеводного и белкового обмена, синтезе белков, расщеплении глюкозы, усвоении витаминов В₁, В₆, инаktivации фосфолипазы С, регулировании сосудистого тонуса [8; 9; 10; 11]. Известна роль магния как функционального антагониста кальция. Кроме того, перед активацией пролиферации, в клетках формируются временные ионные каналы, по которым магний входит в клетку, как обязательный компонент пролиферации [12]. В этой связи магниевый баланс является важным параметром гомеостатического и в его регулировании и поддержании важная роль отводится ЖКТ и почкам [13; 14].

Целью исследования явилось определение особенностей магниевых балансов при экспериментальном деструктивно-воспалительном процессе в системе мочеобразования и мочеиспускания у крыс в период хронизации процесса и на фоне применения суппозиторной магниесодержащей композиции.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Эксперименты выполнены на 40 крысах Вистар под рометаром и лидокаином (согласно инструкции). Содержание животных согласно нормативам ГОСТа 33215-2014 от 01.07.2016 «Правила оборудования помещений и организации процедур при работе с лабораторными животными» и требований СанПиН 2.2.1.3218-14 от 29 августа 2014 № 51 «Санитарно-эпидемиологические требования к устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник и вивариев». Этическая экспертиза научной работы, в рамках которой осуществлено настоящее исследование, проведена локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО Волгоградский государственный медицинский университет Минздрава России, рег. номер IRB 00005839 IORG 0004900 (OHRP), справка № 2021/001 от 12.01.2021 г.

В первой подопытной серии деструктивно-воспалительный процесс в системе мочеобразования и мочеиспускания моделировали по методу Л.Н. Роговой с соавт. [4] на 40 крысах. Двадцати из них (вторая серия) применяли один раз в сутки суппозиторную магниесодер-

жащую композицию в объеме 0,1-0,15 мл из расчета 10 мг/кг массы магния на протяжении семи суток. У всех животных первой и второй серий перед началом моделирования собирали суточный объем мочи, затем непосредственно перед началом моделирования получали кровь из подключичной вены. За сутки до выведения крыс из эксперимента повторно собирали суточный объем мочи. Животных выводили из эксперимента через 31 сутки с момента моделирования, т.е. в период начала хронизации воспаления, кровь получали из подключичной, портальной и нижней полой вен. Магний определяли в эритроцитарной массе по реакции с титановым желтым [15], в плазме крови и суточном объеме мочи - набором реактивов фирмы «Витал». Оценку эффективности моделирования деструктивно-воспалительного процесса в органах системы мочеобразования и мочеиспускания проводили морфологическим методом.

Статистический анализ проводился с использованием программы StatTech v.2.6.6 (разработчик ООО Статтех, Россия). Количественные показатели оценивались на предмет соответствия нормальному распределению с помощью критерия Шапиро-Уилка ($n < 50$). Распределение в анализируемых выборках отличалось от нормального. Поэтому количественные данные описывались с помощью медианы (Me) и нижнего и верхнего квартилей (Q25-Q75). Сравнение двух групп по количественному показателю выполнялось с помощью U-критерия Манна-Уитни. Сравнение трех и более групп по количественному показателю выполнялось с помощью критерия Краскела - Уоллиса или F-критерия Фишера (при условии равенства дисперсий). Для всех видов статистического анализа различия считались статистически значимыми при достижении уровня $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В патоморфологическом образце, полученном спустя 31 сутки от начала моделирования, в ткани почек отмечаются очаговые скопления клеток воспалительного инфильтрата, в интерстициальном пространстве почки - единичные некротические клетки (рис.1, рис. 2, показано стрелкой). Канальцы заметно утолщены, просвет их сужен и заполнен эозинофильными гомогенными массами, а в цитоплазме эпителиоцитов обнаруживается вакуолизация и сглаженность мелкой исчерченности (рис.2). В образце наблюдается умеренная гипертрофия 10% клубочков, ассоциированная с воспалением (рис.3). Умеренная гипертрофия клубочка с присутствием воспалительных элементов (показано стрелкой).

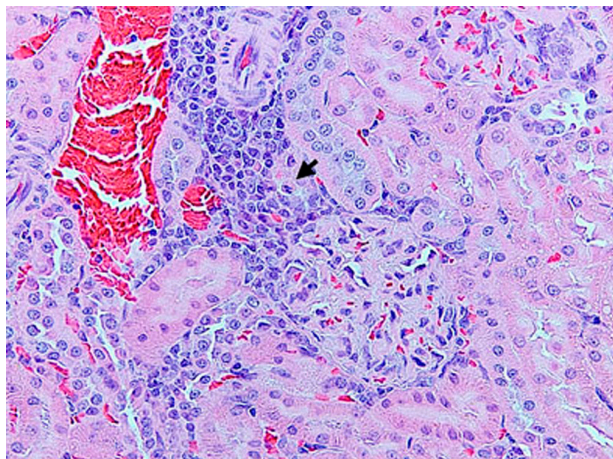


Рис. 1. Морфологическое строение почки крысы через 31 сутки после моделирования воспалительно-деструктивного процесса в системе мочеобразования и мочевыведения. Окраска гематоксилином и эозин-флоксином. Общее увеличение 400.

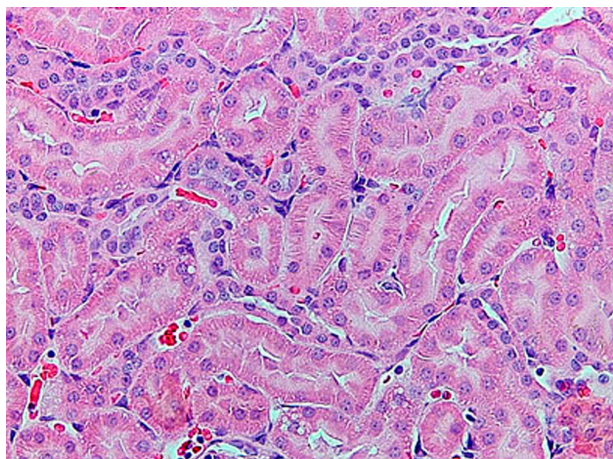


Рис. 2. Морфологическое строение почки крысы через 31 сутки после моделирования. Окраска гематоксилином и эозин-флоксином. Общее увеличение 400.

Таким образом, спустя 31 сутки с момента моделирования, определялась морфологическая картина хронического тубулоинтерстициального нефрита, представляющего собой хроническое заболевание почек, при котором повреждение канальцев или окружающей ткани является более выраженным, чем повреждение почечных клубочков или кровеносных сосудов.

Трудно представить, что при введении в мочевой пузырь взвеси аутокаловых масс в процессе моделирования патологии развивается только интерстициальный нефрит без вовлечения в воспалительный процесс тканей мочевого пузыря. Очевидно, что нарушения возникают в ряде органов, составляющих систему мочеобразования и мочевыведения. Система играет ключевую

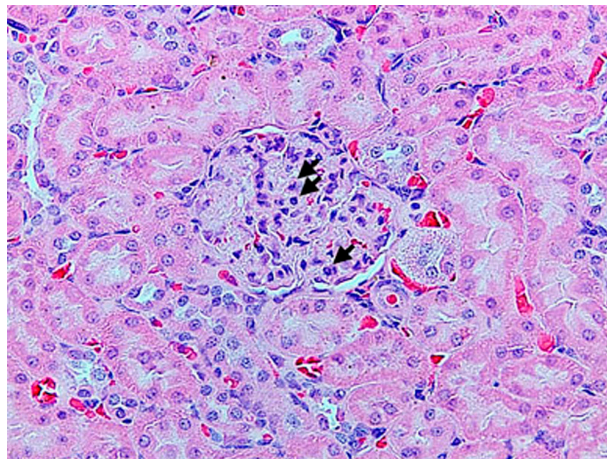


Рис. 3. Гистологическое строение почки крысы через 31 сутки после моделирования. Окраска гематоксилином и эозин-флоксином. Общее увеличение 400.

роль в поддержании ионного баланса как в норме, так и патологии [3; 7; 9].

Проведенное исследование показало, что в плазме крови из подключичной вены в исходном состоянии уровень магния составлял 1,04 (Q_1 0,79- Q_3 1,22) ммоль/л, через 31 сутки с момента моделирования деструктивно-воспалительного процесса уровень магния по отношению к исходному состоянию увеличился до 1,91 (Q_1 1,71- Q_3 2,11), $p \leq 0,001$. Прирост составил 90,4 %.

В плазме крови из нижней полой вены в исходном состоянии содержание магния 1,09 (Q_1 0,89- Q_3 1,52) ммоль/л. Через 31 сутки с момента моделирования содержание магния увеличилось до 1,92 (Q_1 1,71- Q_3 2,34) ммоль/л, $p \leq 0,001$ (используемый статистический метод – критерий Краскера-Уоллиса). Содержание возросло на 76,1%.

Как видно из результатов таблицы 1, содержание магния в плазме крови из воротной вены также увеличивалось.

Высокие цифры уровня магния в плазме сопряжены с его потерей в мочу. Определено, что через 31 сутки с момента моделирования патологии в системе мочеобразования и мочевыведения содержание магния в моче по отношению к исходному состоянию увеличилось с 2,50 (Q_1 1,59- Q_3 3,83) ммоль/л, до 3,15 (Q_1 3,08- Q_3 3,17) ммоль/л, $p \leq 0,001$.

Одновременно в эритроцитарной массе крови из подключичной вены его уровень несколько увеличивался по отношению к исходному состоянию (табл. 2), но это изменение незначимо $p \geq 0,1$. В эритроцитарной массе крови из нижней полой вены и воротной вены выявлялось также некоторое незначимое увеличение концентрации магния, $p \geq 0,1$, соответственно.

Таблица 1

Уровень магния в плазме крови из воротной вены в зависимости от категорий

Показатели	Категории	Содержание магния в плазме			p (критерий Фишера)
		M±SD	95% ДИ	N	
Категория	Исходное Состояние	1,20±0,35	1,03 – 1,36	20	p ¹ -исход – ДВП ≤0,001 p ² -ДВП-МСК=0,001
	ДВП	1,96± 0,36	1,79-2,19	20	
	Применение МСК	1,20±0,33	1,05 – 1,36	20	

Примечание: * - различия показателей статистически значимы (p < 0,05). (F-критерий Фишера) Концентрация магния возросла на 63,3%.

На фоне применения магнийсодержащей композиции в плазме крови из подключичной вены по отношению к животным с деструктивно-воспалительным процессом в системе мочеобразования и мочевыведения уровень магния уменьшился на 45,5 % , до 1,08 (Q₁0,64-Q₃1,25) ммоль/л, P≤0,001, из нижней полой вены на 30,7%, – до 1,33 (Q₁1,04-Q₃1,65) ммоль/л, p≤0,001, из воротной вены на 38,7%, –до 1,20 (Q₁1,05-Q₃1,36) ммоль/л, p≤0,001.

Применение магнийсодержащей композиции приводило к уменьшению концентрации магния в суточном объеме мочи до 1,03 (Q₁0,80-Q₃1,45) ммоль/л, p≤0,001.

При этом в эритроцитарной массе крови из подключичной, нижней полой и воротной вен концентрация магния несколько уменьшалась: на 12,1%, 16,3%, 24, 04%, соответственно, но статистически значимых различий не выявлено (табл. 2, табл. 3, табл. 4).

Таблица 2

Содержание магния в эритроцитарной массе крови из подключичной вены (F-критерий Фишера)

Показатели	Категории	Магний в эритроцитарной массе			p
		M±SD	95% ДИ	N	
Категория	Исходное Состояние	2,51±1,30	1,90 – 3,11	20	p ¹ ≥0,1 p ² ≥0,1
	ДВП	3,05± 1,11	2,53 - 3,57	20	
	Применение МСК	2,68±1,09	2,17 – 3,19	20	

Примечание: p¹-достоверность различий между исходным состоянием и ДВП; p² – между ДВП и применением МСК;

Таблица 3

Содержание магния в эритроцитарной массе крови из нижней полой вены в зависимости от категорий (F-критерий Фишера)

Показатели	Категории	Магний в эритроцитарной массе			p
		M±SD	95% ДИ	N	
Категория	Исходное Состояние	3,20±1,10	2,69 – 3,72	20	p ¹ ≥0,1 p ² ≥0,1
	ДВП	3,44±1,20	2,88 – 4,00	20	
	Применение МСК	2,88±1,20	2,32 – 3,44	20	

Примечание: p¹-достоверность различий между исходным состоянием и ДВП; p² – между ДВП и применением МСК;

Таблица 4

Анализ содержания магния в эритроцитарной массе крови из воротной вены в зависимости от категорий (F-критерий Фишера)

Показатели	Категории	Магний в эритроцитарной массе			p
		M±SD	95% ДИ	N	
Категория	Исходное Состояние	2,46±0,90	2,03 – 2,88	20	p ¹ ≥0,1
	ДВП	2,87±1,15	2,33 – 3,41	20	
	Применение магний содержащей композиции	2,18±0,90	1,76 – 2,60	20	

Примечание: p¹-достоверность различий между исходным состоянием и ДВП; p² – между ДВП и применением МСК;

ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенное исследование показало, что на фоне сформировавшейся патологии деструктивно-воспалительной природы системы мочеобразования и мочевыделения происходит увеличение всасывания магния из химуса ЖКТ, о чем свидетельствует нарастание его содержания в плазме крови из воротной вены. Но нельзя исключить и перераспределительный механизм увеличения уровня магния и его мобилизацию из депо.

В пользу такого предположения свидетельствует еще больший прирост его содержания в плазме крови из подключичной вены, собирающей кровь из скелетной мускулатуры, являющейся тканью-депо подвижного пула магния. Значительное нарастание его концентрации в плазме из нижней полой вены свидетельствует о частично сохранной функции почек в этой ситуации, о хорошей реабсорбции магния из первичной мочи в кровь. Избыточная мобилизация ионов магния из депо сопряжена с потерей его в мочу и, очевидно, с некоторым депонированием в эритроцитарной массе.

На фоне применения магнийсодержащей композиции его содержание в плазме крови из подключичной и воротной вены уменьшилось до уровня исходных показателей, а из нижней полой вены также уменьшалось, но оставаясь выше исходных значений изучаемого показателя. Более высокий уровень магния в крови из нижней полой вены является закономерным процессом, отражающим его всасывание из суппозиторной магнийсодержащей композиции. Применение магнийсодержащей композиции сопровождалось резким уменьшением потерь магния с мочой и из депо подвижного пула – эритроцитарной массы.

Анализ показывает, что на фоне сформировавшейся патологии деструктивно-воспалительной природы системы мочеобразования и мочевыделения происходит значительное перераспределение и транспорт магния с плазмой крови, очевидно, для выполнения многоплановых функций

магния в процессе репарации поврежденных тканей [8]. На фоне значительной, избыточной мобилизации из депо имеет место потеря его с мочой.

Несколько иная картина магниевого баланса выявляется на фоне применения магнийсодержащей композиции. Исчезают признаки избыточной мобилизации из депо подвижного пула, а также уменьшаются его потери с мочой.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На фоне деструктивно - воспалительного процесса в системе мочеобразования и мочеыведения определяется значительное увеличение концентрации магния в плазме крови из разных регионов при незначимом приросте его уровня в эритроцитарной массе и резком возрастании потерь с мочой. Применение магнийсодержащей композиции сопровождается уменьшением его концентрации в плазме крови, незначимым снижением в эритроцитарной массе и значительным уменьшением потерь с мочой. С целью клинического применения в нефрологии, гастроэнтерологии и для коррекции широко распространенной в популяции гипомагниемии, необходимо провести сравнительное исследование биологической активности, доступности магния из магнийсодержащей суппозиторной и таблетированной композиции и сроках оптимального применения магния для адекватной патогенетически обоснованной коррекции макроэлементного гомеостаза в патологии.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors have no conflict of interests to declare.

ЛИТЕРАТУРА

1. Rodelo-Haad C., Pendón-Ruiz de Mier M. V., Díaz-Tocados J. M. The Role of Disturbed Mg Homeostasis in Chronic Kidney Disease Comorbidities. *Front Cell Dev Biol.* 2020;8:543099. doi:10.3389/fcell.2020.543099

2. Остроумова О. Д., Кочетков А.И., Клепикова М.В. Лекарственно-индуцированный дефицит электролитов. Часть 2. Лекарственно-индуцированная гипомagneмия. РМЖ. 2020;(12):36-48.
3. Биохимия: учебник для вузов под ред. Е.С. Северина, 5-е изд.; 2009.
4. Старавойтов В. А., Рогова Л. Н., Смирнов А. В. Патогенетическое обоснование применения магнийсодержащей лекарственной композиции при экспериментальной язве желудка. Вестник новых медицинских технологий. 2009;16(2): 202-204.
5. Reddy S. T., Soman S. S., Yee J. Magnesium Balance and Measurement. *Adv Chronic Kidney Dis.* 2018;25(3):224-229. doi:10.1053/j.ackd.2018.03.002.
6. Van de Wal-Visscher E. R., Kooman J. P., van der Sande F. M. Magnesium in Chronic Kidney Disease: Should We Care?. *Blood Purif.* 2018;45(1-3):173-178. doi:10.1159/000485212.
7. Трисветова Е. Л. Гомеостаз магния и старение. *Медицинские новости.* 2018;281(2):45-50.
8. Rubin H. The logic of the Membrane, Magnesium, Mitosis (MMM) model for the regulation animal cells proliferation. *Science.* 2003;261:1280-1281.
9. Curry J. N., Yu A. S. L. Magnesium Handling in the Kidney. *Adv Chronic Kidney Dis.* 2018;25(3):236-243. doi:10.1053/j.ackd.2018.01.003.
10. Barbagallo M., Veronese N., Dominguez L. J. Magnesium in Aging, Health and Diseases. *Nutrients.* 2021;13(2):463. doi:10.3390/nu13020463.
11. Sakaguchi Y. The emerging role of magnesium in CKD. *Clin Exp Nephrol.* 2022;26(5):379-384. doi:10.1007/s10157-022-02182-4.
12. Hartwig A. Role of magnesium in genomic stability. *Mutat Res.* 2001;475(1-2): 113-121.
13. Стрижаков А. Н. Биологическая роль магния в акушерстве и гинекологии: научные данные и клинические исследования. *Вопросы гинекологии акушерства и перинатологии.* 2009;(3):5-18.
14. Барышникова Г. А., Чорбинская С. А., Степанова И. И., Блохина О. Е. Дефицит калия и магния, их роль в развитии сердечно-сосудистых заболеваний и возможность коррекции. *Consilium Medicum,* 2019;21(1):67-73.
15. Камышников В. С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике. М.: МЕДпресс-информ; 2004.
16. Rodelo-Haad C, Pendón-Ruiz de Mier M.V., Díaz-Tocados J.M., et al. The Role of Disturbed Mg Homeostasis in Chronic Kidney Disease Comorbidities. *Front Cell Dev Biol.* 2020;8:543099. doi:10.3389/fcell.2020.543099.
17. Ostroumova O. D., Kochetkov A. I., Klepikova M. V. Drug-induced electrolyte deficiency. Part 2 Drug-induced hypomagnesaemia. *Russian medical journal.* 2020;12:36-48. (In Russ.).
18. Biochemistry: a textbook for universities ed. E.S. Severin, 5th ed.; 2009. (In Russ.).
19. Staravoytov V. A., Rogova L. N., Smirnov A. V. Pathogenetic rationale for the use of a magnesium-containing medicinal composition in experimental gastric ulcer. *Bulletin of new medical technologies.* 2009;16(2):202-204. (In Russ.).
20. Reddy S.T., Soman S.S., Yee J. Magnesium Balance and Measurement. *Adv Chronic Kidney Dis.* 2018;25(3):224-229. doi:10.1053/j.ackd.2018.03.002.
21. Van de Wal-Visscher E. R., Kooman J. P., van der Sande F. M. Magnesium in Chronic Kidney Disease: Should We Care?. *Blood Purif.* 2018;45(1-3):173-178. doi:10.1159/000485212.
22. Trisvetova E. L. Magnesium homeostasis and aging. *Medical News.* 2018;281(2):45-50. (In Russ.).
23. Rubin H. The logic of the Membrane, Magnesium, Mitosis (MMM) model for the regulation animal cells proliferation. *Science.* 2003;261:1280-1281.
24. Curry J. N., Yu A. S. L. Magnesium Handling in the Kidney. *Adv Chronic Kidney Dis.* 2018;25(3):236-243. doi:10.1053/j.ackd.2018.01.003.
25. Barbagallo M., Veronese N., Dominguez L. J. Magnesium in Aging, Health and Diseases. *Nutrients.* 2021;13(2):463. doi:10.3390/nu13020463.
26. Sakaguchi Y. The emerging role of magnesium in CKD. *Clin Exp Nephrol.* 2022;26(5):379-384. doi:10.1007/s10157-022-02182-4.
27. Hartwig A. Role of magnesium in genomic stability. *Mutat Res.* 2001;475(1-2): 113-121.
28. Strizhakov A. N. The biological role of magnesium in obstetrics and gynecology: scientific data and clinical studies. *Issues of gynecology, obstetrics and perinatology.* 2009;(3):5-18. (In Russ.).
29. Baryshnikova G. A., Chorbinskaya S. A., Stepanova I. I., Blokhina O. E. Potassium and magnesium deficiency, their role in the development of cardiovascular diseases and the possibility of correction. *Consilium Medicum,* 2019;21(1):67-73. (In Russ.).
30. Kamyshnikov V. S. Handbook of clinical and biochemical laboratory diagnostics. М.: MEDpress-inform; 2004. (In Russ.).

REFERENCES

1. Rodelo-Haad C, Pendón-Ruiz de Mier M.V., Díaz-Tocados J.M., et al. The Role of Disturbed Mg Homeostasis

УДК 616.-002.1: 616-008.3/.5

DOI: 10.29039/2224-6444-2022-12-3-63-71

КЛИНИЧЕСКАЯ И ЛАБОРАТОРНО-РЕНТГЕНОЛОГИЧЕСКАЯ МАНИФЕСТАЦИЯ COVID-19 СРЕДИ ПАЦИЕНТОВ РЕСПУБЛИКИ ХАКАСИЯ В 2020 ГОДУ

Штыгашева О. В.¹, Агеева Е. С.², Пузакова З. Ю.¹, Пронькина К. В.¹

¹Кафедра внутренних болезней, Медико-психолого-социальный институт, ФГБОУ ВО «Хакасский государственный университет им. Н.Ф. Катанова», 655000, проспект Ленина, 92, Абакан, Республика Хакасия, Россия

²Кафедра биологии медицинской, Институт «Медицинская академия имени С.И. Георгиевского», ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского», 295051, бульвар Ленина, 5/7, Симферополь, Россия

Для корреспонденции: Агеева Елизавета Сергеевна, д.м.н., заведующий кафедрой биологии медицинской, Институт «Медицинская академия имени С.И. Георгиевского», ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского», e-mail: ageevaeliz@rambler.ru

For correspondence: Ageeva E. S., MD, the Head of the Department of Medical Biology Institute «Medical Academy named after S. I. Georgievsky» of Vernadsky CFU, e-mail: ageevaeliz@rambler.ru

Information about authors:

Shtygasheva O. V., <http://orcid.org/0000-0002-5522-1148>

Ageeva E. S., <http://orcid.org/0000-0003-3770-2965>

Puzakova Z. Yu., <http://orcid.org/0000-0001-8292-2460>

Pronykina Ks. V., <http://orcid.org/0000-0002-9715-3964>

РЕЗЮМЕ

Цель исследования – установить признаки манифестации COVID-19 у пациентов госпитального контингента Республики Хакасия. Ретроспективно исследовано 199 карт стационарного наблюдения пациентов с COVID-19, отобранных случайным методом (104 мужчины и 95 женщин, возраст 26 - 91 лет. Рейтинг симптомов дебюта COVID-19 возглавили: слабость (97%), лихорадка (96%), кашель (84%), одышка (65%), заложенность в грудной клетке (44%). Женщин чаще беспокоили кашель (в 1,13 раз) и тошнота/рвота (на 7,8 %), а мужчин - потеря обоняния, вкуса (на 7,8 %) и озноб (на 9,6 %). Повышение СРБ зафиксировано у 95 % пациентов, преимущественно высокого уровня (59,8 %). Признаки интерстициальной пневмонии чаще соответствовали стадиям КТ2 (32,6%) и КТ3 (29,0%), у 10,0 % пациентов было тотальное поражение легких. У мужчин чаще, чем у женщин выявлялись тяжелые стадии: КТ3 в 1,3 раза, КТ4 в 3,9 раза. Каждый четвертый пациент страдал сахарным диабетом (26,3 % женщин и 20,2 % мужчин), у 48 % пациентов фиксировалась высокая гипергликемия. Изменения вирулентности SARS-CoV-2 и проявлений заболевания требуют дальнейшего изучения аспектов, касающихся связи симптомов с прогностическими факторами COVID-19.

Ключевые слова: манифестация COVID-19, пол пациента, сопутствующая патология.

CLINICAL AND LABORATORY-X-RAY MANIFESTATION OF COVID-19 AMONG PATIENTS OF THE HOSPITAL CONTINGENT OF THE REPUBLIC OF KHAKASIA IN 2020

Shtygasheva O. V.¹, Ageeva E. S.², Puzakova Z. Yu.¹, Pronykina Ks. V.¹

¹Katanov Khakass State University, Abakan, Russia

²Institute «Medical Academy named after S. I. Georgievsky» of Vernadsky CFU, Simferopol, Russia

SUMMARY

The aim of the study is to establish signs of manifestation of COVID-19 in hospital patients. Retrospective analysis of 199 randomly selected hospital records of patients with COVID-19 (104 men and 95 women, age 26 - 91). The rating of symptoms of the onset of COVID-19 was topped by: weakness (97%), fever (96%), cough (84%), shortness of breath (65%), chest congestion (44%). Women were more likely to be bothered by coughing (1.13 times) and nausea / vomiting (by 7.8%), and men - by loss of smell, taste (by 7.8%) and chills (by 9.6%). An increase in CRP was recorded in 95% of patients, mainly at a high level (59.8%). The signs of interstitial pneumonia more often corresponded to the stages of CT2 (32.6%) and CT3 (29.0%), 10.0% of patients had total lung involvement. In men more often than in women, severe stages were detected: CT3 1.3 times, CT4 3.9 times. Every fourth patient suffered from diabetes mellitus (26.3% of women and 20.2% of men), 48% of patients had high hyperglycemia. Changes in SARS-CoV-2 virulence and course of the disease require further study of aspects related to the relationship of symptoms with prognostic factors of COVID-19.

Key words: manifestation of COVID-19, patient gender, comorbidity.

Специфические осложнения острой респираторной инфекции SARS-CoV-2 включают вирусную пневмонию, острый респираторный

дистресс-синдром (ОРДС), дыхательную недостаточность (ДН) с риском смерти. Уровень летальности соответствует 2,57% [1]. Заболевание

представляет наибольшую опасность для пожилых людей (старше 60 лет) и/или людей, имеющих сопутствующую патологию с хроническим течением: сахарный диабет (СД), сердечно-сосудистые заболевания, болезни легких, почек, печени, артериальная гипертензия (АГ), онкологические заболевания, а также заболевания, требующие приема цитостатических препаратов [2].

По данным за 2020 г. в мире было зарегистрировано более 58,7 млн. человек, заболевших COVID-19 и 1,39 млн. человек умерло. По росту заболеваемости COVID-19 Россия занимала 5-е место, с фиксацией болезни у 2,11 млн. человек (умерло 36504). В 2021 г. количество заболевших в мире составило почти 91 млн. человек и более 1,9 млн. пациентов умерло. За этот промежуток времени Россия поднялась на 4-е место в рейтинге заболеваемости: число заболевших 3,4 млн. человек, умерших – 62 273 [1]. Эпидемиологическая ситуация диктует необходимость в решении приоритетных задач для клиницистов: особенности ранней диагностики, прогнозирование течения болезни на основании клинической картины, динамики клинико-лабораторных у определенных групп пациентов с учётом возраста, пола и сопутствующей патологии.

Цель исследования – установить особенности манифестации и течения заболевания у пациентов госпитального контингента Республики Хакасия.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Объект исследования пациенты с COVID-19: 104 мужчины и 95 женщин в возрасте от 26 до 91 лет (средний возраст составил 59 (52,1-65,5) лет). Ретроспективно исследовано 199 карт стационарного наблюдения пациентов (Ф-003-у) со статистическими талонами для регистрации заключительных (уточненных) диагнозов (Ф-025-2/у) госпитального контингента ГБУЗ Республики Хакасия «Республиканская клиническая больница им. Г.Я. Ремишевской» с COVID-19 за 2020 г., отобранных случайным методом. Диагноз устанавливался согласно МКБ-10 (J07.1 и J12.8) и «Временным методическим рекомендациям. Профилактика, диагностика и лечения новой коронавирусной инфекции (COVID-19). Версия 10» [3]. РНК вируса SARS-CoV-2 из материала назофарингеального мазка подтверждалось методом RT-PCR.

Экспрессию воспаления стратифицировали по уровню СРБ, мг/л (норма $\leq 1,5$; повышенный 1,6-19; высокий 20-99; очень высокий ≥ 100). Оценивали лейкоцитов крови, 10^9 /л (пониженный $<4,0$; норма 4,0-8,8; умеренное повышение 9,0–15,0; высокий уровень 16,0–50,0); уровни

нейтрофилов, 10^9 /л (нейтропения $<1,55$; норма 1,56-6,13; умеренное повышение $>6,14$) и лимфоцитов, 10^9 /л (лимфопения $<1,0$; норма 1,0–5,0; умеренное повышение $>5,0$) [4]. Уровень глюкозы сыворотки крови согласован с диагностическими критериями СД, ммоль/л ($< 7,8$ – норма; 7,8–11,1 – повышенный; $>11,1$ – высокий) [5].

Сатурация измерялась неинвазивным методом пульсоксиметрии, а показатели насыщения крови кислородом (SpO_2) классифицировались, как норма (100-95%), пониженные (95-90%), критически сниженные ($<90\%$) [6]. Состояние легочной ткани по данным компьютерной томографии (КТ) соответствовал КТ-1: легкая форма пневмонии с участками «матового стекла», выраженность патологических изменений менее 25%; КТ-2: умеренная пневмония, поражено 25-50% легких; КТ-3: средне - тяжелая пневмония, поражено 50-75% легких; КТ-4: тяжелая форма пневмонии, поражено $>75\%$ легких [7].

Для статистической обработки результатов использовали пакет прикладных программ Statistica 8.1. Так как распределение сравниваемых показателей отличалось от нормального, то применяли непараметрическую статистику. Количественные значения представлены в виде медианы (Me) и интерквартильного интервала (Q1 и Q3). Качественные переменные представлены абсолютными переменными (%). Для оценки связи признаков для независимых групп применяли сравнение по критерию Манна-Уитни для двух групп и сравнение по критерию χ^2 Пирсона. Коэффициент считался статистически значимым при $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Все пациенты госпитального контингента имели признаки заболевания: субъективные, объективные, лабораторные, выявленные методами визуализации (рис. 1).

Чаще всего заболевание манифестировало общей слабостью, утомляемостью (97%), лихорадкой (96%), кашлем (84%), одышкой (65%), заложенностью в грудной клетке (44%). Несколько раз реже встречались: головная боль (17,5%), гипосмия, дивгезия (15%) или очень редко: тошнота, рвота (6%), головокружение (6%), озноб (5%), миалгии (4%), боли в горле (4%), насморк (2%), спутанность сознания (1,5%), гастроэнтерит (1%). Выявлены особенности частоты симптомов с учетом пола пациентов. Женщин достоверно чаще, чем мужчин беспокоили кашель (в 1,13 раз) и тошнота/рвота (на 7,8 %, $p < 0,05$), остальные различия носили характер тенденции (5,5-3,0 %): заложенность в грудной клетке лихорадка, головокружение, одышка. У мужчин статистически значимо по

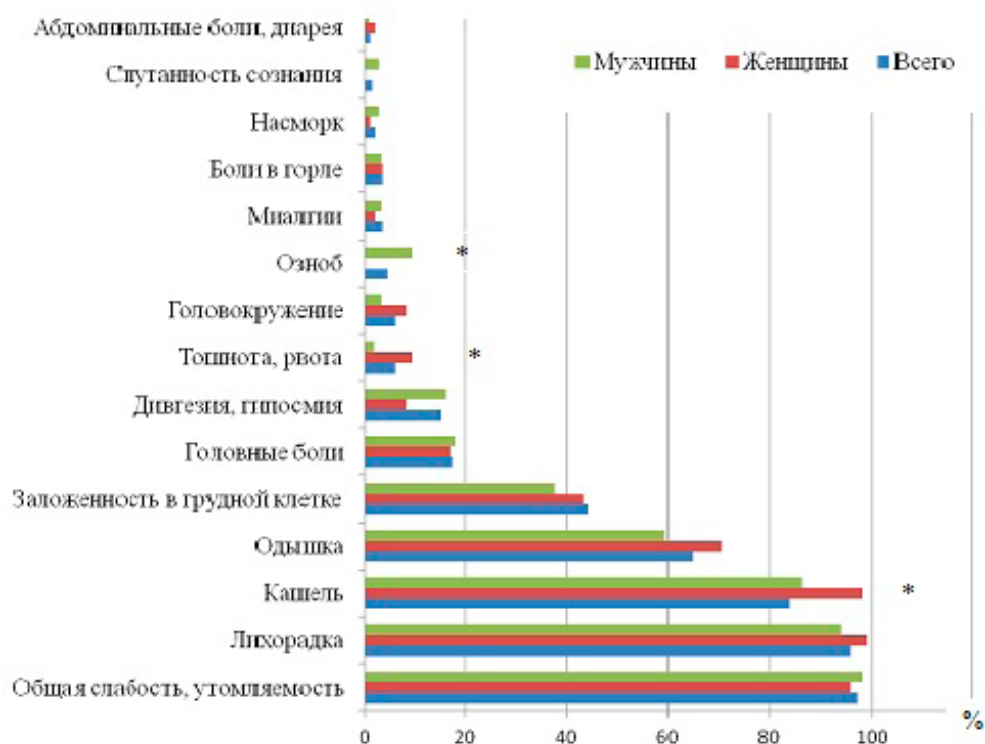


Рис. 1. Симптомы клинической манифестации у пациентов госпитального контингента с COVID-19 (%) в Республике Хакасия (2020 г.). Примечание. * - статистически значимые различия при сравнении показателей мужчин и женщин, статистическая значимость при $p \leq 0,05$.

сравнению с женщинами фиксировалась потеря обоняния, вкуса (на 7,8 %) и чувство озноба (на 9,6 %, $p < 0,05$, рис. 1).

Мы оценили признаки системной воспалительной реакции, используя рутинные показатели острой фазы (табл. 1). У 95,0 % пациентов фиксируется повышение СРБ. Уровень СРБ stratифицируется как высокий (59,8 % пациентов), очень высокий (12,0 %) и умеренный (23,1 %). У мужчин статистически значимо чаще, чем у женщин определялся очень высокий уровень СРБ ($p < 0,05$). Одновременно у большинства пациентов нормальные показатели лейкоцитов (59 %), нейтрофилов (49 %), лимфоцитов (89 %). Среди мужчин достоверно чаще выявляется умеренный лейкоцитоз ($15 \cdot 10^9/\text{л}$, $p < 0,05$), а среди женщин – лейкопения (менее $4 \cdot 10^9/\text{л}$, $p < 0,05$).

СД страдал каждый четвертый пациент генеральной совокупности (табл. 1), женщины чаще, чем мужчины. Среди пациентов с СД уровень гликемии был высоким у 48,0 % больных, повышенным – у 32,6 %, гликемия достигала целевых показателей на фоне терапии у 19,5 % больных. Значимых различий по уровню гликемии среди мужчин и женщин не было (табл. 1).

Интерстициальная пневмония, выявленная методом КТ, чаще соответствовала стадии КТ-2 (32,6 %) или КТ-3 (29,0 %). Тотальное пораже-

ние легочной ткани (КТ-4) установлено у 10,0 % пациентов. Симптом матового стекла верифицирован в 100% случаев, а фиброз – в 11,0 %. Среди мужчин чаще, чем среди женщин выявлялись тяжелые стадии пневмонии: в 1,3 раза КТ-3 (32,6 и 25,2 %, соответственно), в 3,9 раза КТ-4 (16,3 и 4,2 %, соответственно, $p < 0,05$). У женщин самой частой стадией была КТ-2 (43,0 %, $p < 0,05$) (рис. 2).

Для сравнительной оценки сатурации мы выбрали период дебюта (от 1 до 4 дня) и 7-й день заболевания. Насыщение крови кислородом постепенно снижалось на протяжении первой недели болезни, достигая максимального дефицита SpO_2 к 7-му дню. При благоприятном течении болезни, начиная с 8-9 дня, сатурация увеличивалась (рис.3).

Критическое снижение SpO_2 (признак тяжелой дыхательной недостаточности) на 7-й день болезни статистически значимо чаще фиксируется мужчин, чем у женщин. В респираторной поддержке методом ИВЛ нуждались 5 % пациентов, чаще мужчины (табл. 2).

В структуре сопутствующих заболеваний пациентов госпитального контингента с COVID-19 преобладали АГ, СД, хронические заболевания легких, ожирение, различные формы ИБС. АГ была документирована у 61,3%, с превалирова-

Таблица 1

Лабораторные индикаторы воспаления и уровень гликемии у пациентов госпитального контингента с COVID-19 в Республике Хакасия (2020)

Стратификация показателей		Всего, % (n=199)	Женщины, % (n=95)	Мужчины, % (n=104)
СРБ, мг/л	норма	5 (10)	4,2 (4)	5,7 (6)
	повышенный уровень	23,1 (46)	26 (25)	20 (21)
	высокий уровень	59,8 (119)	62 (59)	57,6 (60)
	очень высокий уровень	12 (24)	7,3 (7)	16 (17) *
Лейкоциты, 10 ⁹ /л	норма	59 (118)	63 (60)	52 (54)
	умеренное повышение	23,6 (47)	15,7 (15)	32,6 (34) *
	высокий уровень	3 (6)	2 (2)	3,8 (4)
	лейкопения	16,5 (28)	19 (18)	9,6 (10) *
Нейтрофилы, 10 ⁹ /л	норма	49 (98)	68,4 (65)	60,5 (63)
	повышенный уровень	45 (90)	24 (23)	35,5 (37)
	нейтропения	5,5 (11)	7,3 (7)	3,8 (4)
Лимфоциты, 10 ⁹ /л	Норма	89 (177)	93,6 (89)	84,6 (88)
	Повышенный уровень	3 (6)	1 (1)	4,8 (5)
	Лимфопения	8 (16)	5,2 (5)	10,5 (11)
Глюкоза венозной плазмы, ммоль/л	Пациенты с СД	23,1 (46)	26,3 (25)	20,2 (21)
	Норма	19,5 (9)	24 (6)	14 (3)
	Повышенный уровень	32,6 (15)	24 (6)	43 (9)
	Высокий уровень	48 (22)	52 (13)	43 (9)

Примечание. * - статистически значимые различия при сравнении показателей мужчин и женщин ($p \leq 0,05$).

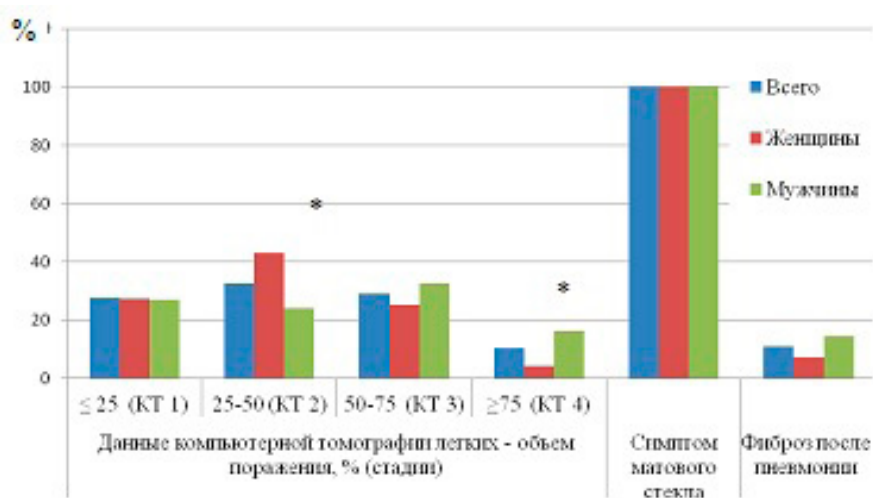


Рис. 2. Состояние легочной ткани по данным компьютерной томографии среди пациентов госпитального контингента с COVID-19. Примечание. * - статистически значимые различия при сравнении показателей мужчин и женщин ($p \leq 0,05$).

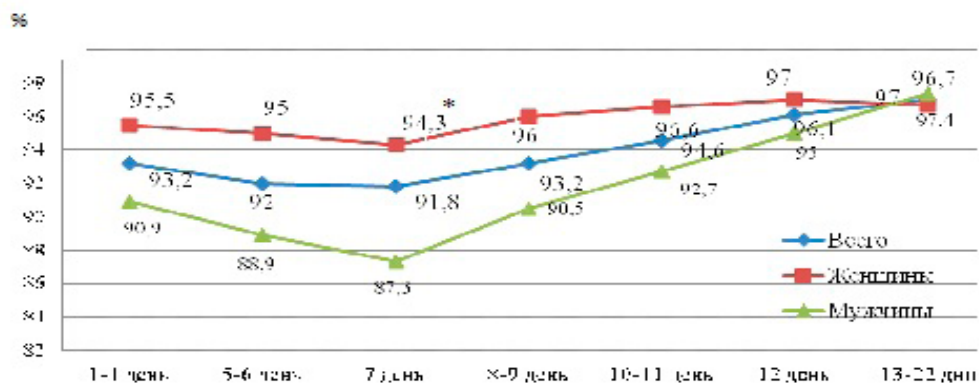


Рис. 3. Средние показатели уровня кислорода крови (SpO₂, %) по данным пульсоксиметрии. 1 группа – женщины, 2 группа – мужчины. * - статистически значимые различий при сравнении показателей мужчин и женщин (p≤0,05).

Таблица 2

Показатели насыщения крови кислородом (SpO₂) и частота ИВЛ-терапии у пациентов госпитального контингента с COVID-19

Показатели SpO ₂ , %	Всего, % (n=199)	Женщины, % (n=95)	Мужчины, % (n=104)
1-4-й дни болезни			
Нормальный уровень	38,7 (77)	35,8 (34)	41,3 (43)
Пониженный уровень,	34,2 (68)	40,0 (38)	28,8 (30)
Критически сниженный уровень	27,1 (54)	24,2 (23)	29,9 (31)
7-й день болезни			
Нормальный уровень,	21,1 (42)	25,2 (24)	17,3 (18)
Пониженный уровень,	29,2 (58)	32,6 (31)	25,9 (27)
Критически сниженный уровень	49,7 (106)	42,2 (40)	56,8 (59) *
ИВЛ-терапия	4,0 (8)	3,1 (3)	4,8 (5)

Примечание. * - статистически значимые различий при сравнении показателей мужчин и женщин (p≤0,05).

нием среди женщин (p<0,05). ИБС с ХСН встречались с одинаковой частотой независимо от пола у 30 % пациентов. Ожирение, являющееся фоновой патологией СД 2 типа, зафиксировано у 16,0 % пациентов (у женщин в 1,6 раза чаще, чем у мужчин). ОНМК в анамнезе имели 6,0 % пациентов (8,4 % женщин, 3,8 % мужчин). Хронической болезнью почек, в том числе требующей заместительную почечную терапию (гемодиализ), страдали 4 % пациентов госпитального контингента, в равной степени женщины и мужчины. Хронические заболевания органов дыхания (ХОБЛ, бронхиальная астма, хронический бронхит, саркоидоз) были у 19,0 % пациентов. Среди мужчин бронхолегочная патология встречалась статистически значимо чаще, чем среди женщин (в 1,6 раза, p<0,05). Доля пациентов с онкологическими заболеваниями составила 2,0 % (n=4) (табл. 3).

По данным витального анамнеза свыше 80,0 % пациентов имели симультанную патологию: ≥ 3 сердечно - сосудистых заболеваний значимых для прогноза – 18,6 % случаев; два заболевания – 36,1 % случаев, одно заболевание – 26,6 % случаев. Сочетанная сопутствующая патология у женщин встречается чаще, чем у мужчин. Только у 18,5 % (18 женщин и 19 мужчин) пациентов не было выявлено иных заболеваний до манифестации COVID-19.

ОБСУЖДЕНИЕ

Для заболеваний, вызванных коронавирусом, характерны: широкий диапазон тяжести; высокая доля летальности (MERS-CoV – 35,6%; SARS-CoV–9.6%) [2], системность поражения, включающая респираторный, желудочно-кишечный тракт, печень, ЦНС и другие. В 50 % случаев заболевание имеет латентное течение,

Таблица 3

Частота и структура сопутствующей патологии среди пациентов госпитального контингента с COVID 19 в Республике Хакасия

Сопутствующая патология	Всего, % (n=199)	Женщины, % (n=95)	Мужчины, % (n=104)
Сахарный диабет	23,1 (46)	26,3 (25)	20 (21)
Ожирение	16,6 (32)	20,0 (19)	12,5 (13)
Артериальная гипертензия	61,3 (122)	66,3 (63)	56,7 (59)
ИБС, ХСН 0-2 ФК (NYHA)	14,5 (29)	13,6 (13)	15,3 (16)
ИБС, ХСН 3-4 ФК (NYHA)	15,5 (31)	16,8 (16)	14,4 (15)
ОНМК в анамнезе	6,0 (12)	8,4 (8)	3,8 (4)
Хронические заболевания легких	19,1 (38)	14,7 (14)	23,1 (24)
Онкологическая патология	2,0 (4)	2,1 (2)	1,9 (2)
Хроническая болезнь почек	4,0 (8)	4,2 (4)	3,8 (4)
Симультанная сердечно - сосудистая патология			
1 заболевание	26,6 (53)	22,1 (21)	30,7 (32)
2 заболевания	36 (72)	38,9 (37)	33,6 (35)
≥ 3 заболеваний	18,5 (37)	21,3 (20)	16,3 (17)

а у 80% пациентов с клиническими симптомами протекает в легкой форме [8].

Мы установили рейтинг частоты симптомов манифестации COVID-19 среди пациентов, которым потребовалась госпитализация, наши результаты совпадают с данными других исследователей [8; 9; 10]. В тоже время, у пациентов госпитального контингента Хакасии более часто проявлялись жалобы на заложенность в грудной клетке и одышку, а миалгии и симптомы гастроэнтерита (тошнота, рвота, диарея, абдоминальные боли фиксировались редко).

Изучение лабораторных показателей (общий анализ крови, СРБ) согласуется с данными большинства авторов [8; 11]. Показано, что большая часть пациентов имеет тенденцию к формированию лимфопении (83,2 %), у 1/3 пациентов лейкопения. Уровень СРБ коррелирует с тяжестью течения, распространенностью воспалительной инфильтрации и прогнозом.

Компьютерная томография позволяет выявлять типичные изменения в легких, включая пациентов с бессимптомной и легкой формой COVID-19, до появления положительных лабораторных тестов [3]. В когорте пациентов Хакасии отмечаются аналогичные данные, их значимость высока в условиях отрицательных результатов RT-PCR исследования.

Уровень кислорода в крови один из ключевых показателей, требующих мониторинга у пациентов с COVID-19 на протяжении всей госпитализации. Гипоксемия ($SpO_2 < 88\%$) развивается более чем у 30 % пациентов [8]. В результате нашего исследования показано, что 7-ой день является критическим, когда отмечается максимальное снижение SpO_2 , а после него формируется тенденция к восстановлению показателя насыщения крови кислородом. В нашей когорте 53,2% пациентов имели гипоксемию, $SpO_2 < 88\%$ чаще встречался у мужчин, чем у женщин.

COVID-19 может приводить к острой сердечной недостаточности вследствие прямого повреждения кардиомиоцитов и эндотелия крупных сосудов на фоне ДН и системного воспаления [10]. Однако, влиятельным фактором прогноза у пациентов, инфицированных SARS-CoV-2, считается бремя сопутствующей патологии. С неблагоприятным прогнозом ассоциированы сердечно-сосудистые заболевания (АГ, ИБС, ХСН, нарушения сердечного ритма); ОНМК в анамнезе; метаболические нарушения (СД 2 типа, ожирение); хронические заболевания легких; онкологические заболевания; хроническая болезнь почек; патология желудочно-кишечного тракта [12]. Например, наличие АГ повышает риск летального исхода у пациентов с

COVID-19 более чем в 2 раза [12]. Среди пациентов с сопутствующей патологией летальность выше при сердечно-сосудистых заболеваниях на 11%; при СД - на 7%; при хронических респираторных заболеваниях, как и при онкологических – на 6% [10]. Из перечисленных заболеваний пациенты Хакасии чаще других имели АГ, ИБС, СД, у 80,0% больных патология была симультанной. Частота неблагоприятного фона сопоставима с данными, опубликованными другими авторами [9; 13]. АГ самое распространенное заболевание (61%), у женщин встречается чаще, чем у мужчин.

Вирус SARS-CoV 2 повреждает β -клетки поджелудочной железы, в результате при COVID-19 повышается сахар крови до уровня тяжелой стресс-гипергликемии у пациентов с СД и без него, что описано многими исследователями [10; 14; 15]. С любой формой СД ассоциирована тяжесть трех известных патогенных коронавирусных инфекций человека, включая COVID-19. Согласно данным IDF, от 20 до 50 % пациентов с COVID-19 имели СД 2 типа [16].

ХОБЛ увеличивает риск тяжелого течения COVID-19 более чем в 5 раз [12; 17], характерным является повреждение сосудистой системы легких с альвеолярно-геморрагическими проявлениями [8, 14]. В нашем исследовании частота ХОБЛ среди больных с COVID-19 сопоставима с таковой в других популяциях. Значительное преобладание мужчин, вероятно, связано с предшествующим длительным курением.

Пациенты со злокачественными новообразованиями из-за супрессии иммунитета более восприимчивы к вирусным инфекциям. По данным публикаций, среди больных с тяжелыми формами пневмонии недавние онкологические заболевания имели 20% пациентов, а уровень летальности среди них – 12% [12; 18]. Пациенты с онкологическими заболеваниями чаще имели тяжелое течение, нуждались в интенсивной терапии и ИВЛ, а также имели 5-кратное увеличение риска летального исхода по сравнению с больными без новообразований [2, 8].

Резюмируя, можно сказать, что результаты исследования демонстрируют выраженную взаимосвязь особенностей течения COVID-19 и пола пациента. Подобная тенденция отмечена и другими авторами. Известно, что мужчины болеют на 1-3% чаще женщин; показатели тяжести вирусной пневмонии и летальности у мужчин значительно выше (на 50% или в 1,5 раз). Смертность среди мужчин составляла 2,8% по сравнению с 1,7% среди женщин. Различия могут быть связаны с большей эффективностью иммунного ответа у женщин, гормональным половым ди-

морфизмом, большей распространенностью курения, как фактора риска, среди мужчин [18; 19].

ВЫВОДЫ

Оценка динамики заболеваемости новой коронавирусной инфекцией, выявление особенностей клинической картины, лабораторных и инструментальных проявлений с учётом сопутствующих заболеваний, возраста и пола пациентов крайне важна и актуальна для понимания особенностей диагностики в ранние периоды. Предполагаемые мутации и рост контагиозности вируса SARS-CoV-2 обуславливают актуальность сравнения клиничко-лабораторной картины госпитального контингента разных временных промежутков («волны» инфекции) и требуют дальнейшего изучения аспектов, касающихся связи симптомов с прогностическими факторами COVID-19.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors have no conflict of interests to declare.

ЛИТЕРАТУРА

1. Онлайн карта коронавируса. Доступно по: <https://coronavirus-monitor.info>. Ссылка активна на 24.11.2020.
2. Song Z., Xu Y., Bao L., Zhang L., Yu P., Qu Y., Zhu H., Zhao W., Han Y., Qin C. From SARS to MERS, thrusting coronaviruses into the spotlight. *Viruses*. 2019;11(1):43-59. doi: 10.3390/v11010059
3. Воробьева О. В., Ласточкин А. В. Патоморфологические изменения в органах при covid-19. *Инфекция и иммунитет*. 2020;10(3):587–590. doi:10.15789/2220-7619-PCI-1483.
4. Singer M., Deuschman C. S., Seymour C. W., Shankar-Hari M., Annane D., Bauer M., Bellomo R., Bernard G. R., Chiche J.-D., Coopersmith C. S., Hotkiss R. S., Levy M. M., Marshall J. C., Martin G. S., Opal S. M., Rubenfeld G. D., van der Poll T., Vincent J.-L., Angus D. C. The Third International Consensus definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA*. 2016;315(8):801-810. doi: 0.1001/jama.2016.0287.
5. Алгоритмы специализированной медицинской помощи больным сахарным диабетом Под редакцией И. И. Дедова, М. В. Шестаковой, А. Ю. Майорова. 9-й выпуск (дополненный). М.; 2019. doi: 10.14341/DM221S1
6. Руководство ВОЗ по пульсоксиметрии: утв. Всемирной организацией здравоохранения; 2009.
7. Никифоров В. В., Суранова Т. Г., Чернобровкина Т. Я., Янковская Я. Д., Бузова С. В. Новая коронавирусная инфекция (Covid-19): клиничко-эпидемиологические аспекты. *Архив внутренней медицины*. 2020;10(2):87-93. doi:10.20514/2226-6704-2020-10-2-87-93.

8. Временные методические рекомендации профилактики, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19): утв. замест. М-ва здравоохранения Рос. Федерации 26.10.2020. Версия 9. Доступно по: <https://static-0.minzdrav.gov.ru>.

9. Старшинова А. А., Кушнарева Е. А., Малкова А. М., Довгалюк И. Ф., Кудлай Д. А. Новая коронавирусная инфекция: особенности клинического течения, возможности диагностики, лечения и профилактики инфекции у взрослых и детей. Вопросы современной педиатрии 2020;19(2):123-131. doi:10.15690/vsp.v19i2.2105.

10. Щелканов М. Ю., Колобухина Л. В., Бурасова О. А., Кружкова И. С., Малеев В. В. Covid-19: этиология, клиника, лечение. Инфекция и иммунитет. 2020;10(3):421-445. doi: 10.15789/2220-7619-СЕС-1473.

11. Адылханов Т. А., Кайдарова Д. Р., Белихина Т. И., Рахманкулова А. М., Андреева О. Б. Клинические особенности коронавирусной инфекции среди пациентов с онкологическими заболеваниями в республике Казахстан. Наука и Здравоохранение. 2020;22(5):5-17. doi: 10.34689/SH.2020.22.5.001.

12. Белоцерковская Ю. Г., Романовских А. Г., Смирнов И. П. Covid-19: респираторная инфекция, вызванная новым коронавирусом: новые данные об эпидемиологии, клиническом течении, ведении пациентов. Consilium medicum. 2020;22(3):12-20. doi: 10.26442/20751753.2020.3.200092.

13. Пашковская Н. В., Панькив В. И., Пашковская О. В. COVID-19 и сахарный диабет: менеджмент пациентов во время пандемии. Международный эндокринологический журнал. 2020;16(3):180-184. doi:10.22141/2224-0721.16.3.2020.205264

14. Бабенко А. Ю., Лаевская М. Ю. Сахарный диабет и COVID 19. Как они связаны? Современные стратегии борьбы. Артериальная Гипертензия. 2020;26(3):304-311. doi: 10.18705/1607-419X-2020-26-3-304-311.

15. Stockman L. J., Bellamy R., Garner P. SARS: systematic review of treatment effects. PLoS Med. 2006;3(9):343-347. doi:10.1371/journal.pmed.0030343.

16. Баклашев В. П., Кулемзин С. В., Горчаков А. А., Лесняк В. Н., Юсубалиева Г. М., Сотникова А. Г. Covid-19. Этиология, патогенез, диагностика и лечение. Клиническая практика. 2020;11(1):7-20. doi:10.17816/clinpract26339.

17. Ткачева О. Н., Котовская Ю. В., Алексанян Л. А., Мильто А. С., Наумов А. В., Стражеско И. Д., Воробьева Н. М., Дудинская Е. Н., Малая И. П., Крылов К. Ю., Тюхменев Е. А., Розанов А. В., Остапенко В. С., Маневич Т. М., Щедрина А. Ю., Семенов Ф. А., Мхитарян Э. А., Ховасова Н. О., Ерусланова К. А., Котовская Н. В., Шарашкина Н. В. Новая коронавирусная инфекция SARS-CoV-2 у пациентов пожилого и старческого возраста: особенности профилактики, диагностики и лечения. Согласованная позиция экспертов Российской

ассоциации геронтологов и гериатров. Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2020;19(3):127-150. doi:10.15829/1728-8800-2020-2601

18. Zhang J. J., Dong X., Cao Y.-y., Yung Y.-d., Yang Y.-b., Yan Y.-q., Akdis C. A., Gao Y.-d. Clinical characteristics of 140 patients infected with SARS-CoV-2 in Wuhan, China. Allergy. 2020;10(1):138-142. doi: 10.1111/all.14238.

19. Liu J., Zheng X., Tong Q., Li W., Wang B., Sutter K., Trilling M., Lu M., Dittmer U., Yang D. Overlapping and discrete aspects of the pathology and pathogenesis of the emerging human pathogenic coronaviruses SARS-CoV, MERS-CoV, and 2019-nCoV. J. Med. Virol. 2020;92(5):491-494. doi: 10.1002/jmv.25709.

REFERENCES

1. Online map of coronavirus. Available at: <https://coronavirus-monitor.info>. Accessed 24.11.2020.

2. Song Z., Xu Y., Bao L., Zhang L., Yu P., Qu Y., Zhu H., Zhao W., Han Y., Qin C. From SARS to MERS, thrusting coronaviruses into the spotlight. Viruses. 2019; 11(1): 43-59. doi: 10.3390/v11010059.

3. Vorobieva O. V., Lastochkin A. V. Pathomorphological changes in organs with covid-19. Infekcija i immunitet. Infection and immunity. (In Russ.). 2020; 10(3): 587-590. doi:10.15789/2220-7619-PCI-1483.

4. Singer M., Deuschman C. S., Seymour C. W., Shankar-Hari M., Annane D., Bauer M., Bellomo R., Bernard G. R., Chiche J.-D., Coopersmith C. S., Hotkiss R. S., Levy M. M., Marshall J. C., Martin G. S., Opal S. M., Rubinfeld G. D., van der Poll T., Vincent J.-L., Angus D. C. The Third International Consensus definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). JAMA. 2016; 315(8): 801-810. doi: 10.1001/jama.2016.0287.

5. Algorithms of specialized medical care for patients with diabetes mellitus / Edited by I. I. Dedova, M. V. Shestakova, A. Yu. Mayorov. 9th issue (revised). (In Russ.). M.; 2019. . doi:10.14341/DM221S1.

6. WHO guidelines for pulse oximetry: approved. World Health Organization, 2009.

7. Nikiforov V. V., Suranova T. G., Chernobrovkina T. Ya., Jankovskaja Ja. D., Burova S. V. New coronavirus infection (Covid-19): clinical and epidemiological aspects. Arhiv vnutrennej mediciny. Archives of Internal Medicine. (In Russ.). 2020;10(2):87-93. doi:10.20514/2226-6704-2020-10-2-87-93.

8. Interim guidelines for the prevention, diagnosis and treatment of new coronavirus infection (COVID-19): approved. deputy M-VA Health Ros. Federation 26.10.2020. Version 9. Available at: <https://static-0.minzdrav.gov.ru>.

9. Starshinova A. A., Kushnareva E. A., Malkova A. M., Dovgaljuk I. F., Kudlaj D. A. New coronavirus infection: features of the clinical course, the possibility of diagnosis, treatment and prevention of infection in adults and children. Voprosy sovremennoj pediatrii. Questions of modern pediatrics. (In Russ.). 2020;19(2):123-131. doi: 10.15690/vsp.v19i2.2105.

10. Shchelkanov M. Yu., Kolobukhina L. V., Burgasova O. A., Kruzhkova I. S., Maleev V. V. Covid-19: etiology, clinical picture, treatment. *Infekcija i immunitet. Infection and immunity*. (In Russ.). 2020;1(3):421–445. doi:10.15789/2220-7619-CEC-1473.
11. Adylkhanov T. A., Kaidarova D. R., Belikhina T. I., Rahmankulova A. M., Andreeva O. B. Clinical features of coronavirus infection among patients with cancer in the Republic of Kazakhstan. *Nauka i Zdravoohranenie. Science and Health*. (In Russ.). 2020;22(5):5-17. doi:10.34689/SH.2020.22.5.001.
12. Belotserkovskaya Yu. G., Romanovskikh A. G., Smirnov I. P. Covid-19: respiratory infection caused by a new coronavirus: new data on epidemiology, clinical course, case management. *Consilium medicum*. (In Russ.). 2020;22(3):12-20. doi: 10.26442/20751753.2020.3.200092.
13. Pashkovskaya N. V., Pankiv V. I., Pashkovskaya O. V. COVID-19 and diabetes mellitus: patient management during a pandemic. *International Journal of Endocrinology*. (In Russ.). 2020;16(3):180-184. doi:10.22141/2224-0721.16.3.2020.205264.
14. Babenko A. Yu., Laevskaya M. Yu. Diabetes mellitus and COVID 19. How are they related? Modern control strategies. *Arterial'naja Gipertenzija. Arterial Hypertension*. (In Russ.). 2020; 26(3): 304-311. doi:10.18705/1607-419X-2020-26-3-304-311.
15. Stockman L. J., Bellamy R., Garner P. SARS: systematic review of treatment effects. *PLoS Med*. 2006;3(9):343-347. doi:10.1371/journal.pmed.0030343.
16. Baklaushev V. P., Kulemzin S. V., Gorchakov A. A., Lesnjak V. N., Jusubalieva G. M., Sotnikova A. G.. Covid-19. Etiology, pathogenesis, diagnosis and treatment. *Klinicheskaja praktika. Clinical practice*. (In Russ.). 2020;11(1):7-20. doi:10.17816/clinpract26339.
17. Tkacheva O. N., Kotovskaya Yu. V., Aleksanyan L. A. Mil'to A. S., Naumov A. V., Strazhesko I. D., Vorob'eva N. M., Dudinskaja E. N., Malaja I. P., Krylov K. Ju., Tjuhmenev E. A., Rozanov A. V., Ostapenko V. S., Manevich T. M., Shhedrina A. Ju., Semenov F. A., Mhitarjan Je. A., Hovasova N. O., Eruslanova K. A., Kotovskaja N. V., Sharashkina N. V. New coronavirus infection SARS-CoV-2 in elderly and senile patients: features of prevention, diagnosis and treatment. The coordinated position of the experts of the Russian Association of Gerontologists and Geriatricians. *Kardiovaskuljarnaja terapija i profilaktika. Cardiovascular Therapy and Prevention*. (In Russ.). 2020;19(3):127-150. doi:10.15829/1728-8800-2020-2601.
18. Zhang J. J., Dong X., Cao Y.-y., Yung Y.-d., Yang Y.-b., Yan Y.-q., Akdis C. A., Gao Y.-d. Clinical characteristics of 140 patients infected with SARS-CoV-2 in Wuhan, China. *Allergy*. 2020;10(1):138-142. doi:10.1111/all.14238.
19. Liu J., Zheng X., Tong Q., Li W., Wang B., Sutter K., Trilling M., Lu M., Dittmer U., Yang D. Overlapping and discrete aspects of the pathology and pathogenesis of the emerging human pathogenic coronaviruses SARS-CoV, MERS-CoV, and 2019-nCoV. *J. Med. Virol*. 2020;92(5):491-494. doi: 10.1002/jmv.25709.

УДК: 616-006.6. 616-006.699

DOI: 10.29039/2224-6444-2022-12-3-72-77

НАРУШЕНИЕ ПРОЛИФЕРАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ КЛЕТОК МЕЛАНОМЫ IN VITRO И IN VIVO ПОСЛЕ ТАРГЕТНОЙ ТЕРАПИИ ТИОФOSFATНЫМ АНТИСМЫСЛОВЫМ ОЛИГОНУКЛЕОТИДОМ HUSH-11

Юрченко К. А.¹, Оберемок В. В.¹, Новиков И. А.¹, Фомочкина И. И.², Кубышкин А. В.², Реган О. В.³

¹Лаборатория молекулярной генетики и биотехнологий, Институт биохимических технологий, экологии и фармации ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В. И. Вернадского», 295007, пр-т Вернадского 4, Симферополь, Россия

²Институт «Медицинская академия имени С.И. Георгиевского», ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», 295051, бульвар Ленина, 5/7, Симферополь, Россия

³Центральная научно-исследовательская лаборатория (ЦНИЛ), Институт «Медицинская академия имени С.И. Георгиевского» ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», 295051, бульвар Ленина 5/7, Симферополь, Россия

Для корреспонденции: Юрченко Ксения Андреевна, младший научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики и биотехнологий, Институт биохимических технологий, экологии и фармации, ФГАОУ ВО «КФУ им. В. И. Вернадского», e-mail: yurchenkokseniya28@gmail.com

For correspondence: Yurchenko K. A., Junior Researcher Laboratory of Molecular Genetics and Biotechnology, Institute of Biochemical Technologies, Ecology and Pharmacy, V. I. Vernadsky Crimean Federal University, e-mail: yurchenkokseniya28@gmail.com.

Information about authors:

Yurchenko K. A., <https://orcid.org/0000-0002-0284-7059>

Oberemok V. V., <https://orcid.org/0000-0001-7472-2389>

Novikov I. A., <https://orcid.org/0000-0001-7832-234X>

Fomochkina I. I., <https://orcid.org/0000-0003-3065-5748>

Kubyshkin A. V., <https://orcid.org/0000-0002-1309-4005>

Regan O. V., <https://orcid.org/0000-0001-9839-0761>

РЕЗЮМЕ

Известно, что меланома является одним из самых агрессивных видов рака кожи. В связи с этим является поиск необходимых терапевтических средств для борьбы с меланомой кожи. На наш взгляд, антисмысловые олигонуклеотиды, направленные на целенаправленное подавление в раковых клетках генов, ответственных за выживание, дают реальную надежду на лечение, позволяющее элиминировать раковые клетки вблизи очага опухоли как до, так и после операции. В этой статье мы описываем, как тиофосфатный олигонуклеотид Hush-11 значительно снижал пролиферативную активность клеток меланомы мышей. Инъекции Hush-11 также ингибировали рост опухоли у мышей с первичной меланомой. Рост заболеваемости меланомой кожи отмечен многими российскими и зарубежными исследователями, такая тенденция наблюдается повсеместно в мире и является глобальной проблемой. Исходя из современных клинических протоколов, приоритетным направлением лечения при локализованных стадиях меланомы является хирургический метод, при распространенных - лекарственная терапия. Безрецидивная эффективность хирургического лечения меланомы, особенно у больных с повышенным риском метастазирования, весьма ограничена. При планировании адекватной лечебной тактики необходимо учитывать, что скрытая диссеминация может иметь место на любой стадии развития меланомы, поэтому поиск новых препаратов и подходов к лечению меланомы является задачей первостепенной важности. Кроме того, изучение молекулярно-биологических маркеров и мишеней в меланоцитарных образованиях кожи и молекулярных процессов, связанных с устойчивостью и приобретением инвазивного фенотипа, может способствовать раскрытию новых звеньев патогенеза меланомы и поиску дополнительных эффективных методов терапевтических воздействий.

Ключевые слова: меланома, антисмысловые олигонуклеотиды, таргетное действие,

Hush-11

DISTURBANCE IN THE PROLIFERATIVE ACTIVITY OF MELANOMA CELLS IN VITRO AND IN VIVO AFTER TARGETING THERAPY WITH THE HUSH-11 PHOSPHOROTIOATE ANTISENSE OLIGONUCLEOTIDE

Yurchenko K. A., Oberemok V. V., Novikov I. A., Fomochkina I. I., Kubyshkin A. V., Regan O. V.

V. I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Russia

SUMMARY

It is known that melanoma is one of the most aggressive types of skin cancer. In this regard, there is a search for the necessary therapeutic agents to combat melanoma of the skin. In our opinion, antisense oligonucleotides aimed at targeted suppression of genes responsible for survival in cancer cells offer real hope for a treatment that will eliminate cancer cells near the tumor site both before and after surgery. In this article, we describe how the Hush-11 thiophosphate oligonucleotide significantly reduced the proliferative activity of mouse melanoma cells. Hush-11 injections also inhibited tumor growth in melanoma-grafted mice. The increase in the incidence of skin melanoma has been noted by

many Russian and foreign researchers, this trend is observed throughout the world and is a global problem. Based on modern clinical protocols, the priority direction of treatment for localized stages of melanoma is the surgical method, for common stages - drug therapy. The relapse-free efficacy of surgical treatment of melanoma, especially in patients with an increased risk of metastasis, is very limited. When planning adequate treatment tactics, it should be taken into account that latent dissemination can occur at any stage of melanoma development, so the search for new drugs and approaches to the treatment of melanoma is a task of paramount importance. In addition, the study of molecular biological markers and targets in melanocytic skin formations and molecular processes associated with resistance and the acquisition of an invasive phenotype can contribute to the discovery of new links in the pathogenesis of melanoma and the search for additional effective methods of therapeutic interventions.

Key words: melanoma, antisense oligonucleotides, targeted action, Hush-11

Злокачественная меланома кожи — одно из наиболее агрессивных злокачественных новообразований, характеризующееся склонностью к метастазированию и самой низкой выживаемостью [1]. По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), на каждые три пациента с диагнозом «рак» приходится один человек с раком кожи [2]. Хотя меланома составляет около 5% всех видов рака кожи, на ее долю приходится более 75% случаев смерти от рака кожи [3]. Меланома кожи (МК) относится к числу высоко-агрессивных злокачественных опухолей. В структуре общей онкологической заболеваемости в России МК составляет 2%. Несмотря на то, что данная патология составляет лишь 12% среди злокачественных новообразований кожи, 65% всех случаев смерти, вызванных онкологическими заболеваниями кожи, приходится на ее долю.

Молекулярно-генетическое исследование меланоцитарных поражений кожи проводится для дифференциальной диагностики меланомы с невусами и другими опухолями не меланоцитарной природы, а также для определения активирующих мутаций в гене BRAF. Флуоресцентная *in situ* гибридизация (FISH) с определением состояния генов RREB1(6p25), MYB(6q23), CCND1(11q13), CEP6 устанавливает генетические нарушения, позволяет улучшить диагностику меланоцитарных поражений кожи, установить предмеланомные процессы (невусы с пограничными диспластическими изменениями), а также проводить дифференциальный диагноз между меланомой и не меланоцитарными новообразованиями.

Несмотря на революционные открытия последних лет в области медикаментозной терапии метастатической меланомы, основным лечением ПМК до сих пор остается хирургическое. Это обусловлено тем, что стоимость современного курса таргетной терапии исчисляется порой сотнями тысяч долларов. В последние годы также обнаружено, что к некоторым моноклональным препаратам клетки меланомы приобрели резистентность за счет мутаций в генах в генах BRAF и NRAS, KIT. Эффективность стандартной химиотерапии при метастатических формах увеальной меланомы невысокая. В небольших

пилотных исследованиях изучали комбинации химиопрепаратов: дакарбазина, фотемустина и паклитаксела треоосульфана и гемцитабина, блеомицина, винкристина, ломустина и дакарбазина. В данных исследованиях не было получено ни одного полного ответа. Медиана продолжительности жизни в среднем составляла от 6 до 10 месяцев. Поэтому на протяжении долгого времени считалось, что радикальной для лечения ПМК является операция, при которой кожа вокруг опухоли иссекается не меньше чем на 3 см, но проведенные за последние 20-30 лет исследования изменили эту точку зрения. К сожалению, успех в лечении первичной меланомы не всегда влияет на выживаемость пациентов, их основной причиной смерти является развитие метастатической болезни. Одной из главных проблем хирургического лечения ПМК остается высокая частота метастазирования в регионарные лимфатические узлы. На момент диагностирования первичной опухоли у 4% пациентов уже имеются отдаленные метастазы.

О сложности данного заболевания говорит и тот факт, что революционная разработка в области «иммунных чек-пойнтов» - моноклональное антитело к CTLA-4, способно продлить жизнь пациентам с метастатической формой меланомы кожи, составляет всего шесть-десять месяцев [5]. Кроме этого, разработку новых противораковых лекарств иногда преследуют непредсказуемые перипетии. Это связано с тем, что успех лекарства определяется в сравнении химиотерапией. Применяемые препараты зачастую убивают раковые клетки напрямую, и, если лечение удалось, опухоль у пациента может сократиться в течение нескольких недель. В исследованиях антитела, блокирующего CTLA-4, иногда происходит увеличение опухоли, а это формально указывает на безуспешность лечения. Это происходит потому, что иммунные клетки проникают в опухоль, и она разбухает [6], что на самом деле является изменением в лучшую сторону.

Одним из центральных ферментов пентозофосфатного пути (ПФП) является глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа (Г6ФД) [7]. Недавно исследования с полидактином (природная молекула, обнаруженная в *Polygonum cuspidatum* и других растениях) показали, что полидактин напрямую

ингибирует G6PD, вызывая окислительно-восстановительный дисбаланс. Это, в свою очередь, приводит к стрессу эндоплазматического ретикула, остановке клеточного цикла и апоптозу и вызывает значительное снижение выживаемости раковых клеток наряду со снижением уровня НАДФН [8]. Данные *in vitro* показали, что подавление G6PD нарушает миграцию клеток, инвазию и эпителиально-мезенхимальный переход. Кроме того, нокдаун G6PD активировал путь JNK, который затем блокировал ось АКТ/GSK-3 β /Snail, индуцируя экспрессию E-кадгерина и транскрипционно регулируя экспрессию MGAT3, тем самым способствуя разделяющему пополам GlcNAc-разветвленному N-гликозилированию E-кадгерина [9]. Кроме того, было показано, что экспрессия и активность G6PD положительно коррелирует с экспрессией мРНК и белков циклинов D1 и E, p53 и S100A4. Эти данные свидетельствуют о том, что G6PD может регулировать клеточный цикл посредством влияния на эти факторы, тем самым косвенно регулируя рост меланомы. Для борьбы с меланомой, необходимо максимально ослабить сами раковые клетки путем комплексных и таргетных воздействий и активировать клетки иммунной системы [10].

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследования проведены с использованием оборудования Лаборатории молекулярной генетики и биотехнологий ФГАОУ ВО «КФУ им. В. И. Вернадского», института биохимических технологий, экологии и фармации и ЦКП «Молекулярная биология» Центральной научно-исследовательской лаборатории института «Медицинская академия им. С. И. Георгиевского» ФГАОУ ВО «КФУ им. В. И. Вернадского» с 2021 по 2022 год.

В исследовании использовали раковые клетки линии меланомы мышей Clone-M3. Клетки культивировали в питательной среде DMEM F-12 с добавлением 1% антибиотиков пенициллин/стрептомицин, 1% пировиноградной кислоты и 10% эмбриональной телячьей сыворотки. Трансплантацию клеток проводили с использованием фосфатно-солевого буфера Дульбекко (DPBS) и трипсинизации с последующей нейтрализацией трипсина приготовленной питательной средой.

Определение клеточного индекса проводили в 10-кратной повторности из экспериментов, проводимых в режиме реального времени в течение 24 часов на анализаторе xCELLigence RTCA DP Analyzer (ACEA Biosciences, США). Для эксперимента в каждую лунку RTCA DP Analyzer добавляли по 6000 клеток.

Слепое, проспективное исследование проводили на мышах BALB/c, весом 16-18 грамм.

Животные были разделены на 3 группы, каждая из которых состояла из 10 особей. Каждой группе трансплантировали клетки меланомы. Первую группу (контрольную) обрабатывали 0,9% NaCl; вторую группу (OligoA11) обрабатывали контрольным олигонуклеотидом в концентрации 20000 нг/мкл; а третью группу (Hush-11) лечили экспериментальным антисмысловым олигонуклеотидом (5'-AGC-TAT-CTC-CG-3') в концентрации 20000 нг/мкл. Все инъекции тифосфатных олигонуклеотидов проводили на расстоянии 1-1,5 см от участка от края опухоли. Объем инъекции составлял 100 мкл.

Подготовку клеток к трансплантации мышам проводили следующим образом: клетки извлекали и подсчитывали, а затем центрифугировали. Полученный осадок (2×10^5 клеток) ресуспендировали в 200 мкл раствора Хенкса. Аликвоты приготовленной суспензии клеток меланомы вводили подкожно в межлопаточную область при горизонтальном положении иглы шприца.

На 14-16 сутки после введения суспензии раковых клеток начинался рост опухолевой ткани. Опухоли были круглыми, мясистыми, темно-синего цвета.

Все данные, полученные в результате исследования, были подвергнуты статистической обработке с использованием программы STATISTICA 10.0. Нормальность распределения признаков оценивали по методу Колмогорова–Смирнова. Используя методы описательной статистики, среднее значение признака и стандартное отклонение. Различия считались достоверными, если вероятность ошибки была $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В наших экспериментах была продемонстрирована эффективность АСО Hush-11, который приводил к значительному снижению клеточного индекса раковых клеток в культуре клеток линии мышинной меланомы. Наиболее выраженный эффект наблюдался через 8 ч после начала эксперимента, когда клеточный индекс культуры, обработанной Hush-11, составил $0,45 \pm 0,02$; в течение 6 часов это значение резко уменьшилось до $0,21 \pm 0,02$. В контрольной группе клеточный индекс через 8 часов составил $0,55 \pm 0,03$; через 16 часов он достиг плато роста со значением $0,55 \pm 0,03$. Среднее снижение клеточного индекса через 12 часов в группе, получавшей Hush-11, было в 2,87 раза ниже, чем в контрольной группе. Случайный олигонуклеотид OligoA11 не оказал существенного влияния на рост меланомы по сравнению с контрольной группой (рис. 1)

Средний размер опухоли в группах в начале эксперимента составил $0,28 \pm 0,03$ см²; на 7-й

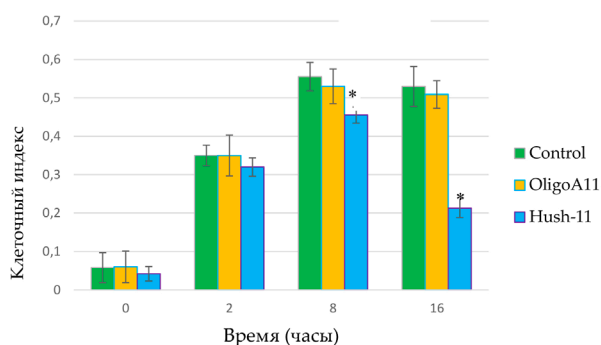


Рис. 1. Динамика клеточного индекса в разных экспериментальных группах; *достоверная разница по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$); значения показаны со средними значениями и SE.

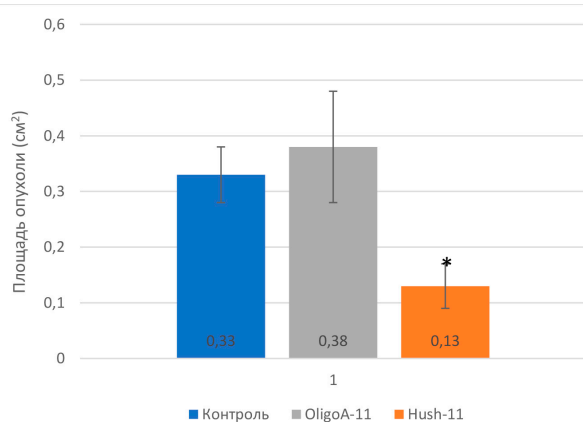


Рис.2. Средняя площадь опухолей

день эксперимента наблюдались достоверные различия между средней площадью опухоли контрольной группы ($0,33 \pm 0,05$ см²) и группы, получавшей Hush-11 ($0,13 \pm 0,04$ см²) ($p < 0,05$) (рис. 2). Интересной особенностью, которую мы также отметили, было отсутствие роста опухоли в месте инъекции Hush-11 (опухоль продолжала расти в противоположном направлении от места инъекции). Случайный олигонуклеотид OligoA11 не оказывал существенного влияния на рост меланомы по сравнению с контролем ($0,38 \pm 0,10$ см²).

Апоптотические процессы в клеточной культуре Clone M-3 оценивались с помощью реагентов Muse™ Annexin V и Dead Cell на проточном цитофлуориметре Guava Muse (Luminex, США). Эксперимент проводился в 6 повторностях. Оценивался ранний и поздний апоптоз в клетках, после 4 часов воздействия на них антисмысловых олигонуклеотидов Hush-11 и OligoA11 в концентрации 20000 нг/мкл, на контрольную группу клеток воздействовали водой. В пробирку эппендорф добавляем 100 мкл раствора Annexin V и Dead Cell и к нему добавляем 100 мкл суспензии клеток (содержащего 5×10^5 клеток). После раствор перемешивается и инкубируется при комнатной температуре в течении 20 минут. По истечению этого времени, полученный раствор отправляется в анализатор для получения результатов. В среднем на общее количество 5×10^5 клеток обработанных Hush-11, 61,34% находились в раннем апоптозе, 28,41% в позднем апоптозе, 10% живых клеток и 0,25% мертвых. На то же количество клеток, обработанных OligoA-11, в раннем апоптозе было 35% клеток, позднем 43%, 20% живых и 2% мертвых. В контрольной группе: ранний – 22,4 % поздний апоптоз - 48,6%, живые – 19% и 1% мертвых (табл. 1., рис.3).

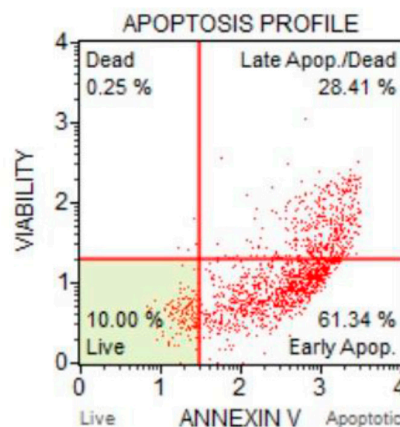


Рис. 3. Апоптотический профиль клеток на цитофлуориметре Guava Muse, окрашенных Annexin V и Dead Cell

Таблица 1

Оценка апоптотических процессов в культуре клеток при воздействии антисмысловыми олигонуклеотидами

Состояние клеток	Hush-11	OligoA-11	Контроль
Ранний апоптоз	67,7±5,7*	35±1,08*	48,6±1,8
Поздний апоптоз	28,4±1,18*	43±1,43*	22,4±1,77
Живые клетки	3±0,03*	20±1,05	19±1,36
Мертвые клетки	0,9±0,009*	2±0,02*	1±0,01

Примечание: *достоверная разница по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$); значения показаны со средними значениями и SE.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате исследований было показано, что *in vitro* АСО Hush-11 достоверно снижал клеточный индекс в клетках меланомы по сравнению с таковым в контрольной группе. *In vivo* использование АСО Hush-11 уменьшало размер опухоли в течение 7 дней.

Так же был при воздействии Hush-11 возник ранний апоптоз возникал у 67,7 % исследуемых клеток.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors have no conflict of interests to declare.

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке в рамках государственного задания № FZEG-2020-0060 Минобрнауки России в сфере научной деятельности темы «Алгоритмы молекулярно-генетической диагностики злокачественных новообразований и подходы к их таргетной терапии с применением клеточных и генетических технологий».

Funding. This work was financially supported by state task No FZEG-2020-0060 of the Russian Ministry of Science in the field of scientific research on the topic «Algorithms for molecular-genetic diagnosis of malignant neoplasms and approaches to their targeted therapy using cellular and genetic technologies».

ЛИТЕРАТУРА

1. Sun Q., Lee W., Mohri, Y., Takeo M., Lim C.H., Xu X., Myung P., Atit R.P., Taketo M.M., Moubarak R.S., Schober M., Osman I., Gay D.L., Saur D., Nishimura E.K., Ito M. A novel mouse model demonstrates that oncogenic melanocyte stem cells engender melanoma resembling human disease. *Nat Commun.* 2019;10;5023. doi:10.29296/2618723X-2020-03-01.
2. Naidoo C., Kruger C. A., Abrahamse H. Simultaneous Photodiagnosis and Photodynamic Treatment of Metastatic Melanoma. *Molecules.* 2019; 3153-24. doi:10.3390/molecules24173153.
3. Rebecca V. W., Somasundaram R., Herlyn M. Pre-clinical modeling of cutaneous melanoma. *Nat Commun.* 2020;11;2858. doi:10.3390/molecules24173153.
4. Водолажский Д. И., Гудков Г. В., Филиппов Е. Ф., Мурашко Р. А., Крутенко Д. В. DDP-PCR-скрининг мутационного статуса генов BRAF и KRAS у пациентов Юга России. *Современные проблемы науки и образования.* 2019; № 1.; URL: <http://www.science-education.ru/article/view?id=28576>
5. Hodi F. S. et al. Improved survival with ipilimumab in patients with metastatic melanoma. *N Engl J Med.* 2010; 19;363(8):711-23. doi:10.1056/NEJMoa1003466.

6. Hoos A. Development of immuno-oncology drugs - from CTLA4 to PD1 to the next generations.2016;15(4):235-47. doi:10.1038/nrd.2015.35.

7. Mele L., Paino F., Papaccio F., Regad T., Boocock D., Stiuso P., Lombardi A., Liccardo D., Aquino G., Barbieri A., Arra C., Coveney C., La Noce M., Papaccio G., Garaglia M., Tirino V., Desiderio V. A new inhibitor of glucose-6-phosphate dehydrogenase blocks pentose phosphate pathway and suppresses malignant proliferation and metastasis *in vivo*. *Cell Death Dis.* 2018;9;572. doi:10.1038/s41419-018-0635-5.

8. Yang H.-C., Wu Y.-H., Yen W.-C., Liu H.-Y., Hwang T.-L., Stern A., Chiu D.-Y. The Redox Role of G6PD in Cell Growth, Cell Death, and Cancer. *Cells.* 2019;8;1055. doi.org:10.3390/cells8091055.

9. Wang Y., Li Q., Niu L., Xu L., Guo Y., Wang L., Guo C. Suppression of G6PD induces the expression and bisecting GlcNAc-branched N-glycosylation of E-Cadherin to block epithelial-mesenchymal transition and lymphatic metastasis. *Br J Cancer.*2020;123;1315-1325. doi.org:10.1038/s41416-020-1007-3.

10. Hanahan D., Weinberg R. A. Hallmark of cancer: the next generation. *Cell.* 2011 Mar 4; 144(5):646-74. doi:10.1016/j.cell.2011.02.013.

REFERENCES

1. Sun Q., Lee W., Mohri, Y., Takeo M., Lim C.H., Xu X., Myung P., Atit R.P., Taketo M.M., Moubarak R.S., Schober M., Osman I., Gay D.L., Saur D., Nishimura E.K., Ito M. A novel mouse model demonstrates that oncogenic melanocyte stem cells engender melanoma resembling human disease. *Nat Commun.* 2019;10;5023. doi:10.29296/2618723X-2020-03-01.
2. Naidoo C, Kruger C.A., Abrahamse H. Simultaneous Photodiagnosis and Photodynamic Treatment of Metastatic Melanoma. *Molecules.* 2019; 3153-24. doi:10.3390/molecules24173153.
3. Rebecca V.W., Somasundaram R., Herlyn M. Pre-clinical modeling of cutaneous melanoma. *Nat Commun.* 2020;11;2858. doi:10.3390/molecules24173153.
4. Vodolazhsky D.I., Gudkov G.V., Filippov E.F., Murashko R.A., Krutenko D.V. DDP-PCR-screening of the mutational status of the BRAF and KRAS genes in patients of the south of Russia. *Modern Problems of Science and Education.* 2019; № 1.; URL: <http://www.science-education.ru/article/view?id=28576>
5. Hodi F.S. et al. Improved survival with ipilimumab in patients with metastatic melanoma. *N Engl J Med.* 2010; 19;363(8):711-23. doi:10.1056/NEJMoa1003466.
6. Hoos A. Development of immuno-oncology drugs - from CTLA4 to PD1 to the next generations.2016; 15(4):235-47. doi:10.1038/nrd.2015.35.
7. Mele L., Paino F., Papaccio F., Regad T., Boocock D., Stiuso P., Lombardi A., Liccardo D., Aquino G., Barbieri A., Arra C., Coveney C., La Noce M., Papaccio G., Garaglia M., Tirino V., Desiderio V. A new inhibitor of glucose-6-

phosphate dehydrogenase blocks pentose phosphate pathway and suppresses malignant proliferation and metastasis in vivo. *Cell Death Dis.* 2018;9;572. doi:10.1038/s41419-018-0635-5.

8. Yang H.-C., Wu Y.-H., Yen W.-C., Liu H.-Y., Hwang T.-L., Stern A., Chiu D.-Y. The Redox Role of G6PD in Cell Growth, Cell Death, and Cancer. *Cells.* 2019;8;1055. doi.org:10.3390/cells8091055.

9. Wang Y., Li Q., Niu L., Xu L., Guo Y., Wang L., Guo C. Suppression of G6PD induces the expression and bisecting GlcNAc-branched N-glycosylation of E-Cadherin to block epithelial-mesenchymal transition and lymphatic metastasis. *Br J Cancer.* 2020;123;1315-1325. doi.org:10.1038/s41416-020-1007-3.

10. Hanahan D., Weinberg R. A. Hallmark of cancer: the next generation. *Cell.* 2011 Mar 4; 144(5):646-74. doi:10.1016/j.cell.2011.02.013.

РЕЦИДИВ COVID-19 ПОСЛЕ ЗАВЕРШЕНИЯ КУРСА ТЕРАПИИ НИРМАТРЕЛВИР/РИТОНАВИРОМ

Мельникова В. М., Белякова А. Г., Иванцова Н. Л.

Кафедра базисной и клинической фармакологии, Институт «Медицинская академия им. С. И. Георгиевского», ФГАОУ ВО «Крымский Федеральный Университет им. В. И. Вернадского», бульвар Ленина 5/7, Симферополь, Республика Крым, Российская Федерация

Для корреспонденции: Мельникова Виктория Михайловна, старший преподаватель кафедры базисной и клинической фармакологии, Институт «Медицинской академии имени С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского», e-mail: vika412@mail.ru

For correspondence: Melnikova V. M., Senior Teacher, Department of Basic and Clinical Pharmacology, Institute «Medical Academy named after S.I. Georgievsky» of Vernadsky CFU, e-mail: vika412@mail.ru

Information about authors:

Melnikova V. M., <http://orcid.org/0000-0001-7698-7954>

Beliakova A. G., <http://orcid.org/0000-0003-4928-5134>

Ivantsova N. L., <http://orcid.org/0000-0003-3325-7948>

РЕЗЮМЕ

В результате анализа данных клинических исследований и пострегистрационного применения нирматрелвир/ритонавира были получены данные о риске рецидива COVID-19 через несколько дней после завершения терапии данным препаратом. Как правило, в случае рецидива течение заболевания COVID-19 носило легкий характер и не требовало терапии. Имеются данные лишь об одном случае тяжелого течения рецидива. Не установлена причина, а также факторы риска данного феномена. Также не известно требуется ли назначение дополнительной терапии в данном случае. Не установлено будет ли эффективным в предупреждении рецидива более длительный курс терапии нирматрелвир/ритонавир. В связи с этим риск рецидива требует дальнейшего изучения. Пациенты, получающие нирматрелвир/ритонавир должны знать о возможности рецидива симптомов и в случае необходимости использовать маски и соблюдать карантин с целью предупреждения распространения вируса. Нирматрелвир/ритонавир остается эффективным в лечении COVID-19 на ранней стадии легкой и средней степени тяжести среди лиц с высоким риском прогрессирования заболевания до тяжелой формы.

Ключевые слова: нирматрелвир/ритонавир, COVID-19, рецидив.

COVID-19 RECURRENCE AFTER COMPLETION OF NIRMATRELVIR/RITONAVIR THERAPY

Melnikova V. M., Beliakova A. G., Ivantsova N. L.

Institute «Medical Academy named after S.I. Georgievsky» of Vernadsky CFU, Simferopol, Russian Federation

SUMMARY

As a result of the analysis of data from clinical studies and post-marketing use of nirmatrelvir/ritonavir, data were obtained on the risk of relapse of COVID-19 several days after the end of therapy with this drug. As a rule, in the event of a relapse, the course of COVID-19 disease was mild and did not require therapy. There is only one case of severe recurrence reported. The cause, as well as risk factors for this phenomenon, have not been established. It is also not known whether additional therapy is required in this case. It has not been established whether a longer course of nirmatrelvir/ritonavir therapy would be effective in preventing relapse. In this regard, the risk of recurrence requires further study. Patients receiving nirmatrelvir/ritonavir should be aware of the possibility of recurrence of symptoms and, if necessary, use masks and quarantine to prevent the spread of the virus. Nirmatrelvir/ritonavir remains effective in the treatment of early mild to moderate COVID-19 in individuals at high risk of disease progression to severe disease.

Key words: nirmatrelvir/ritonavir, COVID-19, relapse.

Пандемия COVID-19 (Coronavirus Disease-19) – текущая пандемия, вызванная распространением коронавируса «Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus 2» (SARS-CoV-2).

Вспышка заболеваемости вирусом впервые была зафиксирована в Ухане, Китай, в декабре 2019 г. [1-2]. 30 января 2020 года Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) объявила данную вспышку чрезвычайной ситуацией в

области общественного здравоохранения, имеющей международное значение, а 11 марта – пандемией. Коронавирусная инфекция, вызванная SARS-CoV-2, включена в перечень заболеваний, представляющих опасность для окружающих (постановление Правительства Российской Федерации от 31 января 2020 г. No 66) [3].

Пандемия COVID-19 характеризуется очень высокой скоростью распространения инфекции, обусловленной воздушно-капельным путем пе-

редачи возбудителя, длительным инкубационным периодом, высокой плотностью и мобильностью населения.

В мире по состоянию на сентябрь 2022 г. зарегистрировано более 600 млн подтвержденных случаев; зафиксировано более 6,5 млн летальных исходов данного заболевания [4], что делает пандемию COVID-19 одной из самых смертоносных в истории. На территории Российской Федерации на 16 сентября 2022 г. зарегистрированы более 20 млн случаев инфицирования SARS-CoV-2 и 385 тыс. летальных исходов [5].

Данному заболеванию подвержены все группы населения, при этом у большей части заболевание протекает в легкой форме [6]. У пациентов с факторами риска высока вероятность тяжелого течения заболевания. Согласно данным исследований, опубликованных к настоящему времени, наиболее значимыми факторами риска тяжелого, прогрессирующего течения являются: возраст заболевшего (50 лет и старше); состояние иммунодефицита, курение; наличие дыхательной недостаточности; низкий уровень альбумина в крови; высокий уровень С-реактивного белка в крови, ожирение, сахарный диабет в анамнезе [7].

Достаточно частым осложнением является двусторонняя пневмония (вирусное диффузное альвеолярное повреждение с микроангиопатией). У 3-4% пациентов зарегистрировано развитие острого респираторного дистресс-синдрома. У части пациентов развивается гиперкоагуляционный синдром с тромбозами и тромбоэмболиями, поражаются также другие органы и системы (центральная нервная система, миокард, почки, печень, желудочно-кишечный тракт, эндокринная и иммунная системы), возможно развитие сепсиса и септического шока [8].

В настоящее время продолжается интенсивное изучение клинических и эпидемиологических особенностей заболевания, разработка новых средств его профилактики и лечения.

Одним из перспективных препаратов этиотропной терапии COVID-19 является комбинация нирматрелвира и ритонавира, предназначенная для лечения легкой и умеренной степени тяжести заболевания у пациентов с факторами риска тяжелого течения.

22 декабря 2021 г. США стала первой страной, разрешившей применение комбинации нирматрелвира/ ритонавира для экстренного использования в лечении COVID-19 [11]. 28 января 2022 г. данная комбинация лекарственных препаратов (ЛП) одобрена к применению в Европейском союзе [12]. В начале 2022 г. ВОЗ рекомендовал нирматрелвир/ритонавир для лечения коронавирусной инфекции в легкой и уме-

ренной форме у пациентов с высоким риском госпитализации.

В Российской Федерации зарегистрированы препараты-дженерики нирматрелвира/ритонавира: «СКАЙВИРА», «Миробивир», «Нирматрелвир ПСК» (ритонавир отпускается отдельным препаратом) [11].

По данным клинического исследования (КИ) оригинального ЛП нирматрелвира и ритонавира (Paxlovid), применение данной комбинации у пациентов с подтвержденным COVID-19, находящихся в группе риска тяжелого течения заболевания, привело к снижению риска прогрессирования до тяжелой формы на 89% по сравнению с плацебо. При этом был показан благоприятный профиль безопасности [12-13].

Всего в КИ приняло участие 2246 пациентов (1120 пациентов получали нирматрелвир плюс ритонавир (группа нирматрелвира) и 1126 пациентов получали плацебо (группа плацебо)). К факторам риска были отнесены следующие критерии: возраст 60 лет и старше, избыточная масса тела, статус курильщика, хроническая болезнь почек, сахарный диабет 1-го или 2-го типа, иммуносупрессивное заболевание, хроническая болезнь легких, онкологическое заболевание (кроме рака кожи) в активной стадии. Испытуемым назначали плацебо или Paxlovid перорально каждые 12 часов на протяжении 5 дней.

Согласно итоговому анализу пациентов, назначение Paxlovid в течение 3 дней после манифестации симптомов коронавирусной инфекции привело к снижению риска госпитализации или смерти на 89% в сравнении с плацебо ($p < 0,0001$). При этом риск госпитализации снизился на 89% (относительный риск (ОР) 0,11 (95% ДИ: 0,04-0,28), риск смерти – на 95% (ОР 0,05 (95% ДИ: 0,00-0,900)).

В группе Paxlovid были госпитализированы 0,7% пациентов ($n=5/697$; без смертей) - против 6,5% пациентов в группе плацебо ($n=44/682$; 9 смертей).

Применение Paxlovid в течение 5 дней после манифестации симптомов снизило риск госпитализации или смерти на 88% относительно плацебо ($p < 0,0001$). При этом риск госпитализации снизился на 88% (ОР 0,12 (95% ДИ: 0,06-0,25)), риск смерти – на 96% (ОР 0,04 (95% ДИ: 0,00-0,68)).

В группе Paxlovid были госпитализированы 0,8% пациентов ($n=8/1039$; без смертей) – против 6,3% пациентов в группе плацебо ($n=66/1046$; 12 смертей). В подгруппе возрастных пациентов (65 лет и старше) препарат снизил риски на 94% за период 28 дней наблюдений ($p < 0,0001$).

В группе Paxlovid были госпитализированы 1,1% пациентов (n=1/94; без смертельных исходов) – против 16,3% пациентов в группе плацебо (n=16/98; 6 смертей).

Частота нежелательных явлений, возникших в течение периода лечения, была одинаковой в двух группах: 19% и 21% испытуемых, большинство побочных реакций протекали в легкой форме. Серьезные неблагоприятные события зафиксированы у 1,7% и 6,6% участников, лечение из-за побочных реакций прекратили 2,1% и 4,1%. Дисгевзия (5,6% против 0,3%) и диарея (3,1% против 1,6%) чаще возникали при применении нирматрелвира в сочетании с ритонавиром, чем при применении плацебо.

По данным пострегистрационного применения нирматрелвира/ритонавира был выявлен риск рецидива COVID-19 после прекращения 5-ти дневного курса лечения.

Charness M. с соавторами [14] описали случаи рецидива COVID-19 и подтвержденной вирусной нагрузки SARS-CoV-2 после терапии нирматрелвира/ритонавира у 10 пациентов. Возраст пациентов составил от 31 до 71 года. Рецидив развился на 9–12-й день болезни. Симптомы рецидива включали симптомы простуды, хотя у некоторых пациентов отмечались усталость и головная боль. Дополнительная противовирусная терапия не потребовалась. Вирусная нагрузка во время рецидива была сопоставима с таковой при первичном течении заболевания. Секвенирование вируса у трех пациентов показало, что рецидив не был связан с мутацией, возникшей в результате лечения, или с инфицированием другим штаммом вируса. Два пациента во время рецидива заразили членов своей семьи.

Еще 2 случая вирусологического и клинического рецидива COVID-19 после прекращения курса терапии нирматрелвира/ритонавира описал Antonelli G. [15].

При анализе спонтанных сообщений, Coulson и соавторы выявили случаи рецидива у трех пациентов, что составило менее 1% от всех пациентов, которые прошли лечение нирматрелвира/ритонавиром [16]. Отмечено, что данные пациенты получали иммуносупрессивную терапию. Одному пациенту потребовалась дополнительная терапия сотровимабом.

Birabaharan M. описан случай мужчины с симптомами рецидива, у которого развилась гипоксия с легочной эмболией [17]. У 63-летнего мужчины с сахарным диабетом 2 типа с подтвержденным диагнозом COVID-19 после курса терапии нирматрелвира/ритонавира на 8-й день развились симптомы рецидива в виде кашля, а также одышки при физической нагрузке. Полимеразная цепная реакция (ПЦР) на SARS-CoV-2

была положительной. Сатурация составила 91% на пальцевом пульсоксиметре. D-димер был примерно в 4,5 раза выше верхней границы нормы (2,26 мкг/мл; ссылка: $\leq 0,48$). Впоследствии было проведено компьютерно-томографическое исследование, подтвердившее двустороннюю легочную эмболию без признаков вирусного поражения паренхимы легких. На момент подготовки отчета это единственный известный случай тяжелого течения рецидива COVID-19 после терапии нирматрелвира/ритонавира.

Связанные с рецидивом COVID-19 обращения в отделение неотложной помощи, произошедшие через 5–15 дней после лечения нирматрелвира/ритонавиром, были описаны с использованием данных крупной интегрированной системы здравоохранения. Данные обращения поступали нечасто и составили менее 1% пациентов, получавших нирматрелвира/ритонавир [18].

На основании данных Health Alert Network сообщается, что рецидив COVID-19 происходит между 2 и 8 днями после первоначального выздоровления и характеризуется рецидивом симптомов COVID-19 или новым положительным вирусным тестом после отрицательного результата теста. Кратковременное возвращение симптомов может быть частью естественного течения инфекции SARS-CoV-2 у некоторых людей, независимо от лечения нирматрелвира/ритонавиром и независимо от статуса вакцинации. Ограниченная информация, доступная в настоящее время из отчетов о случаях заболевания, предполагает, что у лиц, получавших нирматрелвира/ритонавир, у которых наблюдался рецидив COVID-19, заболевание было легким; нет сообщений о тяжелых заболеваниях. В настоящее время нет доказательств того, что необходимо дополнительное лечение нирматрелвира/ритонавиром или другими препаратами против SARS-CoV-2 в случаях подозрения на рецидив COVID-19 [19].

Nicole Mlynaryk предполагает, что возобновление симптомов COVID-19 после прекращения лечения нирматрелвира/ритонавиром, связано с недостаточным воздействием препарата: в инфицированных клетках достигается недостаточная концентрация препарата, чтобы остановить репликацию вируса. Это может быть обусловлено более быстрым метаболизмом препарата у некоторых людей или с тем, что курс лечения должен быть более длительным [20].

В результате анализа данных пострегистрационных КИ нирматрелвира/ритонавира была получена информация о феномене рецидива COVID-19 после прекращения 5-ти дневного курса лечения препаратом.

По данным Wang L. в ходе ретроспективного когортного исследования, проведенного в период с 1 января по 8 июня 2022 года, было выявлено 11270 случаев терапии нирматрелвир/ритонавиром. Показатели рецидива COVID-19 через 7 и 30 дней после лечения нирматрелвир/ритонавиром составили 3,53% и 5,40% для инфекции COVID-19, 2,31% и 5,87% – для симптомов COVID-19 и 0,44% и 0,77% – для госпитализаций. Не было выявлено существенных различий в рисках рецидива COVID-19 после терапии нирматрелвир/ритонавиром в сравнении с терапией молнупиравиром: вирусывыделение (ОР 0,90, 95% ДИ: 0,73–1,11), симптомы COVID-19 (ОР: 1,03, 95% ДИ: 0,83) – 1,27) или частота госпитализаций (ОР: 0,92, 95% ДИ: 0,56–1,55). Пациенты с рецидивом COVID-19 имели значительно больше сопутствующих заболеваний, чем те, у кого их не было [21].

В исследовании, проведенным Nischal Ranganath и др., установлено, что в когорте из 483 пациентов с установленным диагнозом COVID-19, имеющих высокий риск тяжелого течения, получавших нирматрелвир/ритонавир, двум пациентам (0,4%) потребовалась госпитализация к 30-му дню после начала терапии. У четырех пациентов (0,8%) в среднем через 9 дней после завершения курса терапии наблюдалось возобновление симптомов, которые в целом носили легкий характер, пациенты выздоровели без дополнительной терапии [22].

В небольшом проспективном обсервационном исследовании с участием 36 пациентов, ранее получивших мРНК-вакцину, Eric Y. Dai и др. обнаружили, что рецидив COVID-19 наблюдался значительно чаще в группе лечения нирматрелвир/ритонавиром по сравнению с группой сравнения (отсутствие лечения). В 3 случаях рецидива после лечения нирматрелвир/ритонавиром кинетика вируса в период рецидива была аналогична наблюдаемой при острой инфекции, с резким подъемом до высоких пиковых уровней (медиана $C_t = 19$) и клиренсом вируса через 6–12 дней. В случае рецидива у пациентов группы сравнения кинетика вируса была больше похожа на так называемый «всплеск»: 2 дня положительных значений с пиком $C_t=30,3$. Исходная частота рецидива в группе сравнения составляла 4%. В проведенном исследовании среди 11 пациентов, которые были пролечены нирматрелвир/ритонавиром, рецидив зарегистрирован в 3 случаях (27%). Учитывая небольшое количество участников, на основании этих данных нельзя сделать точную оценку истинной частоты рецидива вируса у вакцинированных пациентов, получавших терапию нирматрелвир/ритонавир [23]. Необходимо отметить, что в группе паци-

ентов нирматрелвир/ритонавира, у которых после не наблюдался рецидив, терапия препаратом значительно сократила продолжительность заболевания.

В небольшом исследовании Julie Voucau и др. [24], целью которого было изучение вирусологии рецидива, приняло участие 7 пациентов с возобновлением симптомов или конверсией теста на антиген SARS-CoV-2 после завершения лечения нирматрелвир/ритонавиром. Мазки из носа собирали 3 раза в неделю до первого отрицательного результата ПЦР. Мазки одновременно анализировали на уровень вирусной РНК с помощью количественной ПЦР в реальном времени (qRT-PCR), секвенирования генома вируса, полуколичественного вирусного посева и лабораторного экспресс-тестирования на антиген. Симптомы рецидивировали в среднем через 9 дней после первого положительного теста или через 4 дня после завершения курса нирматрелвир/ритонавиром. При включении в исследование у всех 7 участников была выявлена вирусная нагрузка (медиана 6,1 log 10, диапазон 4,2–7,3), которая сохранялась в среднем в течение 12 дней (диапазон 9–15) после завершения лечения нирматрелвир/ритонавиром. При секвенировании вируса мутаций обнаружено не было.

Семь пациентов с симптомами рецидива COVID-19 (шесть после терапии нирматрелвир/ритонавиром, один без лечения) приняли участие в исследовании Brian P. Epling и др. Пять пациентов, инфицированных COVID-19 (Omicron), были включены в группу контроля. На основании времени от начала симптомов до включения в исследование пациенты были разделены на 2 группы: первая группа пациентов, начавшая терапию на ранних сроках заболевания (<4 дней, n=6) и 2), и вторая группа, получившая терапию на поздних сроках (>11 дней, n=2), которые сравнивались с пациентами с рецидивом, получившими нирматрелвир/ритонавир (n=6). Все участники были вакцинированы и никто из них не получал индукторы СУР3А4 до начала терапии. Нирматрелвир/ритонавир был назначен через 1–4 дня после появления первых симптомов. Медиана времени до рецидива симптомов составила 12,5 дней после появления первых симптомов (до терапии) и 6,5 дней после завершения терапии нирматрелвир/ритонавиром. При рецидиве пять пациентов отметили более легкую, один – более тяжелую и один – аналогичную тяжесть симптомов по сравнению с первоначальным заболеванием. Ни одному из пациентов с рецидивом не потребовалось дополнительное лечение или госпитализация. Средний уровень С-реактивного белка при рецидиве был ниже, чем во время первого

течения COVID-19, в то время как количество нейтрофилов и лимфоцитов, а также пороговые значения ПЦР SARS85 CoV-2 были одинаковыми во всех группах, а уровень нуклеокапсидного антигена в сыворотке крови при рецидиве был низким. Мутаций, связанных с устойчивостью к нирматрелвиру, выявлено не было [25].

Aaron F Carlin и др. был выделен вариант BA.2 коронавируса SARS-CoV-2 от человека с рецидивом COVID-19 после лечения нирматрелвир/ритонавиром. Тестирование на чувствительность к противовирусным препаратам и нейтрализующие антитела проводились с различными штаммами SARS-CoV-2. По данным исследования сделан вывод, что ни резистентность к нирматрелвиру, ни иммуносупрессия не были вероятной причиной рецидива [26].

Необходимо отметить, что рецидив COVID-19 является характерным для пациентов, которые не получали противовирусной терапии. Rinki Deo и др. провели оценку частоты рецидива вируса и симптомов у нелеченых амбулаторных пациентов с легкой и умеренной формой COVID-19. Исследуемая группа включала 568 участников, которые получали плацебо. Рецидив симптомов произошел у 27% участников после первоначального улучшения симптомов и у 10% участников после первоначального разрешения симптомов. У 1-2% участников наблюдалось сочетание восстановления выделения вируса и возобновления симптомов [27]. При этом в исследовании Eric Y. Dai показано, что нирматрелвир-ритонавир был связан с большей частотой рецидива вируса по сравнению с отсутствием лечения [23].

Был проведен субанализ данных КИ оригинального ЛП нирматрелвир/ритонавира (EPIC-HR), целью которого было изучение восстановления вирусной нагрузки после лечения нирматрелвир/ритонавиром. Мазки из носоглотки или носа были взяты у всех участников исследования в 1, 3, 5, 10 и 14 дни и проанализированы на наличие вирусной РНК-нагрузки и проведено секвенирование вируса. Рассмотрены две категории восстановления вирусной нагрузки: постоянная и транзиторная. В КИ доля постоянной вирусной нагрузки была низкой и составляла 1,73% (17/980) против 2,32% (23/990), доля транзиторной вирусной нагрузки – 2,35% (23/980) против 4,65% (46/990) в группах плацебо и нирматрелвир/ритонавир соответственно. Вирусовыделение наблюдалось в обеих группах лечения и не было связано с госпитализацией или смертью, тяжелым течением заболевания. Мутации гена Mpro выявлены не были. Таким образом, можно сделать заключение, что восстановление вирусной нагрузки, вероятно, яв-

ляется феноменом течения болезни COVID-19, а терапия нирматрелвир-ритонавир продолжает оставаться значимым вариантом лечения для пациентов высокого риска тяжелого течения COVID-19 [16].

В настоящее время не установлены факторы риска развития рецидива COVID-19 после терапии данным ЛП. Следует предположить, что пациенты с рецидивом выделяют вирус и могут быть опасны для окружающих [28]. Пациенты, получающие нирматрелвир/ритонавир должны знать о возможности рецидива симптомов и в случае необходимости использовать маски и соблюдать карантин с целью предупреждения распространения вируса.

По имеющимся данным рецидив не связан с резистентностью к ЛП, и не обусловлен нарушением иммунного ответа [28].

Вероятной причиной наблюдаемого рецидива может являться недостаточное воздействие ЛП из-за индивидуальной фармакокинетики [20, 26] или совместного применения ЛП с индукторами CYP3A [29] или недостаточной продолжительности курса терапии.

Кроме того, клиническое значение рецидива COVID-19 после лечения остается неясным, поэтому необходимы дополнительные исследования для определения этиологии, частоты и клинических последствий [26].

В настоящее время не установлено, требуют ли случаи рецидива повторного курса лечения. Некоторые клиницисты предполагают, что более длительный начальный курс лечения может предотвратить рецидив, но это предположение требует изучения [28].

24 мая 2022 г. Центр по контролю и профилактике заболеваний США (CDC) выпустил рекомендацию по вопросам здравоохранения в связи с растущим числом сообщений о случаях рецидива COVID-19. При этом в сообщении указано, что нирматрелвир/ритонавир по-прежнему рекомендуется для лечения на ранней стадии легкой и средней степени тяжести COVID-19 среди лиц с высоким риском прогрессирования заболевания до тяжелой формы [19].

24 августа 2022 г. FDA запросило у Pfizer, ДРУ оригинального препарата Paxlovid (нирматрелвир, ритонавир), провести клиническое исследование с целью изучения риска рецидива COVID-19 в течение нескольких дней после завершения лечения данным препаратом. Агентство также предписало компании провести плацебо-контролируемое исследование для оценки повторного курса лечения ЛП Paxlovid в случае рецидива (предположительно результаты исследования должны быть представлены к 30 сентября 2023 года) [30].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Эффективность комбинированного препарата нирматрелвир/ритонавира в предотвращении тяжелых форм COVID-19 среди пациентов с факторами риска тяжелого течения заболевания была показана в ходе рандомизированного клинического исследования. В результате пострегистрационного применения нирматрелвир/ритонавира были получены данные о риске рецидива COVID-19 через несколько дней после завершения терапии данным ЛП. По имеющимся данным большая часть случаев рецидива носила легкий характер и не требовала дополнительной терапии. Известен только один случай тяжелого течения рецидива COVID-19 после терапии нирматрелвир/ритонавиром [17]. В настоящее время не установлены факторы риска развития рецидива COVID-19 после терапии данным лекарственным препаратом. По имеющимся данным рецидив не связан с резистентностью к ЛП, и не обусловлен нарушением иммунного ответа. Следует предположить, что пациенты с рецидивом выделяют вирус и могут быть опасны для окружающих [28]. Пациенты, получающие нирматрелвир/ритонавир должны знать о возможности рецидива симптомов и в случае необходимости использовать маски и соблюдать карантин с целью предупреждения распространения вируса. Клиническое значение рецидива COVID-19 после лечения остается неясным, поэтому необходимы дополнительные исследования для определения этиологии, частоты и клинических последствий.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors have no conflict of interests to declare.

Финансирование. Исследование выполнено при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, программа «Приоритет-2030» № 075-15-2021-1323

Funding. This study was financially supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation, Priority-2030 program N 075-15-2021-1323

ЛИТЕРАТУРА

1. Ранее неизвестный коронавирус - Китай. Всемирная организация здравоохранения (12 января 2020). Дата обращения: 18 июля 2020. Архивировано 15 июля 2020 года. Ссылка активна на 16.09.2022
2. Chaolin H., Yeming W., Xingwang L., Lili R., Jianping Zh. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet*. 2020;

395(10223):497-506. doi: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30183-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30183-5)

3. Постановление Правительства Российской Федерации от 31.01.2020 № 66 «О внесении изменения в перечень заболеваний, представляющих опасность для окружающих». Доступно по: <http://publication.pravo.gov.ru/Document/View/0001202002030005>. Ссылка активна на 16.09.2022

4. Информационный бюллетень о ситуации и принимаемых мерах по недопущению распространения заболеваний, вызванных новым коронавирусом. Доступно по: https://www.rosпотребнадзор.ru/about/info/news/news_details.php?ELEMENT_ID=22594. Ссылка активна на 16.09.2022

5. Карта распространения коронавируса в России и мире. Доступно по: <https://yandex.ru/web-maps/covid19?ll=41.775580%2C54.894027&z=3>. Ссылка активна на 16.09.2022.

6. Interim Clinical Guidance for Management of Patients with Confirmed Coronavirus Disease (COVID-19). U.S. Centers for Disease Control and Prevention. Available at: <https://stacks.cdc.gov/view/cdc/89980>

7. Wei L. Analysis of factors associated with disease outcomes in hospitalized patients with 2019 novel coronavirus disease. *Chinese Med J* 2020;133(9):1032–1038. doi:10.1097/CM9.0000000000000775

8. Временные методические рекомендации Министерства здравоохранения Российской Федерации версия 15 от 22.02.2022 «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19). Доступно по: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_347896. Ссылка активна на 16.09.2022.

9. Coronavirus (COVID-19) Update: FDA Authorizes First Oral Antiviral for Treatment of COVID-19. Available at: <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/coronavirus-covid-19-update-fda-authorizes-first-oral-antiviral-treatment-covid-19>. Accessed 16.09.2022.

10. COVID-19: EMA recommends conditional marketing authorisation for Paxlovid. Available at: <https://www.ema.europa.eu/en/news/covid-19-ema-recommends-conditional-marketing-authorisation-paxlovid>. Ссылка активна на 16.09.2022.

11. Нирматрелвир/ритонавир. Доступно по: <https://grls.rosminzdrav.ru/grls.aspx?s=нирматрелвир&m=mnn> Ссылка активна на 16.09.2022.

12. Mahase E. COVID-19: Pfizer's Paxlovid is 89% effective in patients at risk of serious illness, company reports. *BMJ*. 2021;375:n2713. doi: 10.1136/bmj.n2713.

13. Hammond J., Leister-Tebbe H. Gardner A. EPIC-HR Investigators. Oral nirmatrelvir for high-risk, nonhospitalized adults with Covid-19. *N Engl J Med*. 2022;386:1397–408. doi: 10.1056/NEJMoa2118542.

14. Charness M., Gupta K., Stack G., Strymish J. Rapid Relapse of Symptomatic Omicron SARS-CoV-2 Infection Following Early Suppression with Nirmatrelvir/Ritonavir. Available at: <https://www.researchsquare.com/article/rs-1588371/v3>. Accessed 16.09.2022.

15. Antonelli G., Focosi D., Turriziani O., Tuccori M., Brandi R., Fillo S., Ajassa C., Lista F., Mastroianni C. M. Virological and clinical rebounds of COVID-19 soon after nirmatrelvir/ritonavir discontinuation *Clin Microbiol Infect.* 2022;S1198-743X(22)00344-5. doi: 10.1016/j.cmi.2022.06.029.
16. Holly S. Viral Load Rebound in Placebo and Nirmatrelvir/Ritonavir Treated COVID-19 Patients is not Associated with Recurrence of Severe Disease or Mutations DOI: <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-1720472/v1>. Available at: <https://assets.researchsquare.com/files/rs-1720472/v1/d05313db-c500-4486-a678-2dd8c2423df.pdf>. Accessed 16.09.2022.
17. Birabaharan M., Martin T. Acute pulmonary emboli following rebound phenomenon after Nirmatrelvir/Ritonavir treatment for COVID-19 *Am J Emerg Med.* 2022 Aug 6:S0735-6757(22)00514-9. doi: 10.1016/j.ajem.2022.08.012.
18. Malden D.E., Hong V., Lewin B.J. Hospitalization and Emergency Department Encounters for COVID-19 After Paxlovid Treatment – California, December 2021–May 2022 *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2022;71:830-833.
19. CDC Health Advisory: COVID-19 rebound after Paxlovid treatment CDC. 2022. May 24, 2022. Available at: https://emergency.cdc.gov/han/2022/pdf/CDC_HAN_467.pdf. Accessed 16.09.2022.
20. Mlynaryk N. COVID-19 Rebound after Taking Paxlovid Likely Due to Insufficient Drug Exposure UC San Diego Health, June 21, 2022. Available at: <https://gargantuangarland.co.uk/download/releases/2022/06/220621141758.htm>. Accessed 16.09.2022.
21. Wang L., Berger N.A., Davis P.B., Kaelber D.C., Volkow N.D., Xu R. COVID-19 rebound after Paxlovid and Molnupiravir during January-June 2022. *medRxiv [Preprint]*. 2022. doi: 10.1101/2022.06.21.22276724.
22. Nischal R., O'Horo J. C, Douglas W Ch., Tulledge-Scheitel S.M., Marsha L. P., O'Brien R M. Rebound Phenomenon after Nirmatrelvir/Ritonavir Treatment of Coronavirus Disease-2019 in High-Risk Persons *Clin Infect Dis.* 2022;ciac 481. doi:10.1093/cid/ciac481.
23. Eric Y. D. Viral Kinetics of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) Omicron Infection in mRNA-Vaccinated Individuals Treated and Not Treated with Nirmatrelvir-Ritonavir Version 1. *medRxiv. Preprint.* 2022. doi: <https://doi.org/10.1101/2022.08.04.22278378>.
24. Julie B., Rockib U., Caitlin M., James R., James P. F., Manish C Ch., Chen G., Stuckwisch A. M., Josh M., May Y Liew, Arshdeep S., Zahra R., Surabhi L I., Grace C Ch., Tammy D. V., Jatin M. V., Sarah E. T., Jonathan Z. L., Jacob E. L. Characterization of Virologic Rebound Following Nirmatrelvir-Ritonavir Treatment for Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) *Clin Infect Dis.* 2022;ciac512. doi: 10.1101/2022.03.01.22271582.
25. Brian P. E., Joseph M. R., Kristin L. B., Elizabeth L., Frances G., Anela K., Sanchita D., Allison R., Elodie Gh., Allie Kr., Robin L. D., Sophie E. M. K., Heather K., Tauseef R., Jeroen H., Adam R., Gregory K., Michael R. H., Andrea L. COVID-19 redux: clinical, virologic, and immunologic evaluation of clinical rebound after nirmatrelvir/ritonavir. *medRxiv. Preprint.* 2022. doi: 10.1101/2022.06.16.22276392.
26. Aaron F. C., Alex E. Cl., Antoine Ch., Aaron F G., William Br., Magali P., AsherLev T. S., Tariq M R., Davey M. Sm. Virologic and Immunologic Characterization of Coronavirus Disease 2019 Recrudescence After Nirmatrelvir/Ritonavir Treatment *Clinical Infectious Diseases, 2022;ciac496.* doi: 0.1093/cid/ciac496.
27. Rinki D., Manish C. Ch., Carlee M., Justin R., Eric S. D., David A. W., Alexander L. Gr., Joseph J. Er., Judith S. C., Michael D. H., Davey M. S., Kara W. Ch., Jonathan Z. Li. Viral and Symptom Rebound in Untreated COVID-19 Infection *medRxiv* 2022.08.01.22278278. doi: 10.1101/2022.08.01.22278278
28. Abigail Z. COVID-19 Rebound After Oral Treatment *NEJM JW* July 12, 2022. Available at: <https://www.jwatch.org/na55113/2022/07/12/covid-19-rebound-after-oral-treatment>. Accessed 16.09.2022.
29. François G., Oriol M., Catia M., and Thierry B. Evaluating the risk of drug-drug interactions with pharmacokinetic boosters: the case of ritonavir-enhanced nirmatrelvir to prevent severe COVID-19 *Clin Microbiol Infect.* 2022 Mar 28. doi: 10.1016/j.cmi.2022.03.030
30. FDA Requests More Trial Data Related to Pfizer's Paxlovid. Available at: <https://www.fdanews.com/articles/209127-fda-requests-more-trial-data-related-to-pfizers-paxlovid>. Accessed 16.09.2022.

REFERENCES

1. Previously unknown coronavirus - China. World Health Organization (January 12, 2020). Retrieved 18 July 2020. Archived from the original on 15 July 2020. Accessed 16.09.2022. (in Russ)
2. Chaolin H., Yeming W., Xingwang L., Lili R., Jianping Zh. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet.* 2020; 395(10223):497-506. doi: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30183-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30183-5)
3. Decree of the Government of the Russian Federation No. 66 dated January 31, 2020 «On Amendments to the List of Diseases Dangerous to Others» Available at: <http://publication.pravo.gov.ru/Document/View/0001202002030005>. Accessed 16.09.2022. (in Russ)
4. Newsletter on the situation and measures taken to prevent the spread of diseases caused by the new coronavirus. Available at: https://www.rospotrebнадзор.ru/about/info/news/news_details.php?ELEMENT_ID=22594. Accessed 16.09.2022. (in Russ)
5. Map of the spread of coronavirus in Russia and the world. Available at: <https://yandex.ru/web-maps/covid19?ll=41.775580%2C54.894027&z=3>. Accessed 16.09.2022. (in Russ)

6. Interim Clinical Guidance for Management of Patients with Confirmed Coronavirus Disease (COVID-19). U.S. Centers for Disease Control and Prevention. Available at: <https://stacks.cdc.gov/view/cdc/89980>
7. Wei L. Analysis of factors associated with disease outcomes in hospitalized patients with 2019 novel coronavirus disease. *Chinese Med J.* 2020;133(9):1032–1038. doi: 10.1097/CM9.0000000000000775
8. Interim guidelines of the Ministry of Health of the Russian Federation version 15 dated February 22, 2022 “Prevention, diagnosis and treatment of a new coronavirus infection (COVID-19). Available at: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_347896. Accessed 16.09.2022. (in Russ)
9. Coronavirus (COVID-19) Update: FDA Authorizes First Oral Antiviral for Treatment of COVID-19. Available at: <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/coronavirus-covid-19-update-fda-authorizes-first-oral-antiviral-treatment-covid-19>. Accessed 16.09.2022.
10. COVID-19: EMA recommends conditional marketing authorisation for Paxlovid. Available at: <https://www.ema.europa.eu/en/news/covid-19-ema-recommends-conditional-marketing-authorisation-paxlovid>. Accessed 16.09.2022.
11. Nirmatrelvir/ritonavir. Available at: <https://grls.rosminzdrav.ru/grls.aspx?s=нирматрелвир&m=mn> Ссылка активна на 16.09.2022.
12. Mahase E. COVID-19: Pfizer’s Paxlovid is 89% effective in patients at risk of serious illness, company reports. *BMJ.* 2021;375:n2713. doi: 10.1136/bmj.n2713.
13. Hammond J., Leister-Tebbe H., Gardner A. EPIC-HR Investigators. Oral nirmatrelvir for high-risk, nonhospitalized adults with Covid-19. *N Engl J Med.* 2022; 386:1397–408. doi: 10.1056/NEJMoa2118542.
14. Charness M., Gupta K., Stack G., Strymish J. Rapid Relapse of Symptomatic Omicron SARS-CoV-2 Infection Following Early Suppression with Nirmatrelvir/Ritonavir. Available at: <https://www.researchsquare.com/article/rs-1588371/v3>. Accessed 16.09.2022.
15. Antonelli G., Focosi D., Turriziani O., Tuccori M., Brandi R., Fillo S., Ajassa C., Lista F., Mastroianni C. M. Virological and clinical rebounds of COVID-19 soon after nirmatrelvir/ritonavir discontinuation *Clin Microbiol Infect.* 2022;S1198-743X(22)00344-5. doi: 10.1016/j.cmi.2022.06.029.
16. Holly S. Viral Load Rebound in Placebo and Nirmatrelvir/Ritonavir Treated COVID-19 Patients is not Associated with Recurrence of Severe Disease or Mutations DOI: <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-1720472/v1>. Available at: <https://assets.researchsquare.com/files/rs-1720472/v1/d05313db-c500-4486-a678-2dd8c2423d3f.pdf>. Accessed 16.09.2022.
17. Birabaharan M., Martin T. Acute pulmonary emboli following rebound phenomenon after Nirmatrelvir/Ritonavir treatment for COVID-19 *Am J Emerg Med.* 2022 Aug 6:S0735-6757(22)00514-9. doi:10.1016/j.ajem.2022.08.012.
18. Malden D.E., Hong V., Lewin B.J. Hospitalization and Emergency Department Encounters for COVID-19 After Paxlovid Treatment – California, December 2021–May 2022 *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2022;71:830–833.
19. CDC Health Advisory: COVID-19 rebound after Paxlovid treatment CDC. 2022. May 24, 2022. Available at: https://emergency.cdc.gov/han/2022/pdf/CDC_HAN_467.pdf. Accessed 16.09.2022.
20. Mlynaryk N. COVID-19 Rebound after Taking Paxlovid Likely Due to Insufficient Drug Exposure UC San Diego Health, June 21, 2022. Available at: <https://gargantuangarland.co.uk/download/releases/2022/06/220621141758.htm>. Accessed 16.09.2022.
21. Wang L., Berger N.A., Davis P.B., Kaelber D.C., Volkow N.D., Xu R. COVID-19 rebound after Paxlovid and Molnupiravir during January–June 2022. *medRxiv [Preprint]*. 2022. doi: 10.1101/2022.06.21.22276724.
22. Nischal R., O’Horo J. C, Douglas W Ch., Tulledge-Scheitel S.M., Marsha L. P., O’Brien R M. Rebound Phenomenon after Nirmatrelvir/Ritonavir Treatment of Coronavirus Disease-2019 in High-Risk Persons *Clin Infect Dis.* 2022;ciac 481. doi: 10.1093/cid/ciac481.
23. Eric Y. D. Viral Kinetics of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) Omicron Infection in mRNA-Vaccinated Individuals Treated and Not Treated with Nirmatrelvir-Ritonavir Version 1. *medRxiv. Preprint.* 2022. doi: <https://doi.org/10.1101/2022.08.04.22278378>.
24. Julie B., Rockib U., Caitlin M., James R., James P. F., Manish C Ch., Chen G., Stuckwisch A. M., Josh M., May Y Liew, Arshdeep S., Zahra R., Surabhi L I., Grace C Ch., Tammy D. V., Jatin M. V., Sarah E. T., Jonathan Z. L., Jacob E. L. Characterization of Virologic Rebound Following Nirmatrelvir-Ritonavir Treatment for Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) *Clin Infect Dis.* 2022;ciac512. doi: 10.1101/2022.03.01.22271582.
25. Brian P. E., Joseph M. R., Kristin L. B., Elizabeth L., Frances G., Anela K., Sanchita D., Allison R., Elodie Gh., Allie Kr., Robin L. D., Sophie E. M. K., Heather K., Tauseef R., Jeroen H., Adam R., Gregory K., Michael R. H., Andrea L. COVID-19 redux: clinical, virologic, and immunologic evaluation of clinical rebound after nirmatrelvir/ritonavir. *medRxiv. Preprint.* 2022. doi: 10.1101/2022.06.16.22276392.
26. Aaron F. C., Alex E. Cl., Antoine Ch., Aaron F G., William Br., Magali P., AsherLev T. S., Tariq M R., Davey M. Sm. Virologic and Immunologic Characterization of Coronavirus Disease 2019 Recrudescence After Nirmatrelvir/Ritonavir Treatment *Clinical Infectious Diseases,* 2022;ciac496. doi: 10.1093/cid/ciac496.
27. Rinki D., Manish C. Choudhary, Carlee Moser, Justin Ritz, Eric S. Daar, David A. Wohl, Alexander L. Greninger, Joseph J. Eron, Judith S. Currier, Michael D. Hughes, Davey M. Smith, Kara W. Chew, Jonathan Z. Li. Viral and Symptom Rebound in Untreated COVID-19

Infection medRxiv 2022.08.01.22278278. doi:10.1101/2022.08.01.22278278

28. Abigail Z. COVID-19 Rebound After Oral Treatment NEJM JW July 12, 2022. Available at: <https://www.jwatch.org/na55113/2022/07/12/covid-19-rebound-after-oral-treatment>. Accessed 16.09.2022.

29. François G., Oriol M., Catia M., and Thierry B. Evaluating the risk of drug-drug interactions with

pharmacokinetic boosters: the case of ritonavir-enhanced nirmatrelvir to prevent severe COVID-19 Clin Microbiol Infect. 2022 Mar 28. doi:10.1016/j.cmi.2022.03.030

30. FDA Requests More Trial Data Related to Pfizer's Paxlovid. Available at: <https://www.fdanews.com/articles/209127-fda-requests-more-trial-data-related-to-pfizers-paxlovid>. Accessed 16.09.2022.

К 75 ЛЕТИЮ ПРОФЕССОРА КАФЕДРЫ МИКРОБИОЛОГИИ, ВИРУСОЛОГИИ И ИММУНОЛОГИИ ХАЙТОВИЧА АЛЕКСАНДРА БОРИСОВИЧА

Сатаева Т. П.

Кафедра микробиологии, вирусологии и иммунологии, Институт «Медицинская академия имени С. И. Георгиевского» ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», 295051, бульвар Ленина, 5/7, Симферополь, Россия

Для корреспонденции: Сатаева Татьяна Павловна, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой микробиологии, вирусологии и иммунологии, Институт «Медицинская академия имени С. И. Георгиевского», ФГАОУ ВО «КФУ им. В. И. Вернадского», e-mail: tanzcool@mail.ru

For correspondence: Sataeva Tatyana Pavlovna, MD, Professor, Head of the Department of Microbiology, Virology and Immunology, Institute «Medical Academy named after S. I. Georgievsky» of Vernadsky CFU, e-mail: tanzcool@mail.ru

Information about author:

Sataeva T. P., <http://orcid.org/0000-0001-6451-7285>



Хайтович Александр Борисович родился 27 июня 1947 г. в г. Иркутск в семье инженеров. В 1962 г. окончил 8 классов 16 средней школы г. Симферополь (ул. Кавказская 7), а 1965 г. - 14 среднюю школу г. Симферополя (ныне ул. Караимская 23). В 1965 г. поступил в Иркутский государственный медицинский институт (ныне Иркутский государственный медицинский университет) на санитарно-гигиенический факультет (ныне медико-профилактический факультет) по специальности – санитарно-гигиеническое дело, который окончил в 1971 г. получив диплом с отличием и уровень образования: высшее образование – специалист. После 6 месячной специализации по особо опасным инфекциям в Иркутском противочумном институте работал с 1971 по февраль 1974 гг. врачом Борзинского противочумного отделения Читинской противочумной станции Министерства здравоохранения (МЗ) СССР; с марта 1974 по 2014 гг. работал в Крымской (Украинской) противочумной стан-

ции МЗ СССР (Украины), до 1992 гг. – врачом; с 1992 по 1997 гг. – заведующим лабораторией; с 1997 по 2014 гг. – начальником Крымской (Украинской) противочумной станции Министерства здравоохранения Украины. С 1999 г. по 2014 гг. работал по совместительству на кафедре микробиологии, вирусологии и иммунологии Крымского государственного университета имени С.И. Георгиевского в должности профессора. С 2015 г. и по настоящее время – профессор кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии в Федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования Крымском федеральном университете (структурное подразделение Институт «Медицинская академия им. С.И. Георгиевского»). В 2021 г. присвоено звание - заслуженный профессор Крымского федерального университета имени В.И. Вернадского.

Работая руководителем Украинской (Крымской) противочумной станцией Министерства здравоохранения Украины одновременно был руководителем: Центра индикации БПА и идентификации патогенных вибрионов; референс-лаборатории Министерства здравоохранения Украины по диагностике и идентификации холерных и других патогенных вибрионов; Национальной коллекции патогенных вибрионов. Проработав 43 года в противочумной системе СССР, Украины, Российской Федерации имеет разнообразный опыт борьбы с особо опасными инфекциями и высочайшую профессиональную подготовку, которая включает многолетнюю работу по мониторингу природно-очаговых инфекций в природных очагах инфекций чумы в Забайкалье, природных очагов туляремии, лептоспироза, геморрагической лихорадки с почечным синдромом, Крымской геморрагической лихорадки, боррелиозов, клещевого

энцефалита, кишечных иерсиниозов и других инфекций на территории Забайкальского края, Крыму, Черниговской, Сумской, Днепропетровской, Херсонской и других областей Украины. Вторым направлением в деятельности профессора Хайтовича А. Б. явилось консультативно-методическая и практическая помощь медицинским учреждениям разных областей Украины по профилактике и диагностике особо опасных инфекций, при этом выполняя различные государственные задания Хайтович А.Б. побывал во всех административных территориях Украины, на некоторых территориях Российской Федерации и Казахстана. Кроме того, участвовал в ликвидации последствий землетрясений в Армении (1987 г.) и аварии на Чернобыльской АЭС (1988 г.), а также принял участие в локализации и ликвидации более чем 30 вспышек особо опасных инфекций на территории СССР и Украины.

Одним из важных направлений деятельности Хайтовича А.Б., учитывая важность соблюдения биологической безопасности для стабильной работы в учреждениях с патогенными микроорганизмами, являлось соблюдению противоземидемического режима в лабораториях Украины, где особое внимание уделялось работе с возбудителями 2-ой группы патогенности: с 1976 г. состоял членом режимной комиссии в Крымской противочумной станции; с 1986 г. - Крымской областной (республиканской) санитарно-эпидемиологической станции, которая осуществляла консультативно-методическую и контрольную функцию за соблюдением противоземидемического режима работы за всеми лабораториями Крыма независимо от ведомственной подчиненности; с 2001 г. был назначен руководством Министерства охраны здоровья Украины – членом режимной комиссии Министерства здравоохранения Украины, которая осуществляла аналогичную работу в масштабах всего государства и давала разрешение на работу с 1 и 2-ой группой патогенности в Украине. Является автором (соавтором) всех основных государственных документов Украины по вопросам биологической безопасности.

Высокий профессиональный уровень и знания проблем использовался руководством Министерства здравоохранения Украины и для решения других задач, стоящих перед государством: с 1996 г. по 2014 гг. – член штаба по локализации и ликвидации вспышек холеры и других патогенных вибрионов; с 2001 по 2014 гг. – эксперт при Министре охраны здоровья Украины по вопросам проявлениям биотерроризма в мире; с 2004 г. по 2012 гг. – внештатный эксперт Министерства иностранных дел Украины по биологической безопасности; с 2005 г. – член

государственной Правительственной комиссии Украины по борьбе с птичьим гриппом; с 2009 г. – член государственной Правительственной комиссии Украины по борьбе с «калифорнийским гриппом»; с 2009 г. - член штаба Министерства охраны здоровья Украины по борьбе с «калифорнийским гриппом». Кроме того, неоднократно привлекался для координации мероприятий по борьбе с разными инфекциями (холера, дизентерия, грипп, птичий грипп и т.д.) в правительственные комиссии Автономной республики Крым и оперативные штабы Министерства здравоохранения Автономной республики Крым. Неоднократно представлял Министерство здравоохранения Украины и государство на международном уровне: в 2003 г. вошел в состав рабочей группы по биологической безопасности при Координационном совете по проблемам санитарной охраны территории государств-участников СНГ; в 2001, 2003, 2005, 2007, 2008, 2009, 2010 гг. представлял Украину в Координационном совете по проблемам санитарной охраны территории государств-участников СНГ; в 2004 г. и 2010 г. в качестве эксперта ООН от Украины по Конвенции о запрете разработки, производства и накопления запасов бактериологического (биологического) и токсичного оружия и об их уничтожении принимал участие и выступал на заседаниях ООН в Женеве, Швейцария; в 2005 г. в соответствии с Распоряжением Президента Украины 1256/2005-рп как член делегации Украины принял участие в заседании государств – участников Конвенции о запрете разработки, производства и накопления запасов бактериологического (биологического) и токсичного оружия и об их уничтожении в ООН, Женева, Швейцария.

Профессиональная практическая деятельность сопровождалась очень интенсивной и эффективной научно-исследовательской работой. Хайтович А.Б. является учеником микробиологической научной школы академика Ермольевой З.В. и её ученицы профессора Ведьминой Е.А. Хайтович А.Б. в 1986 г. защитил в Российском университете Дружбы народов (г. Москва) кандидатскую диссертацию по теме «Сравнительная биологическая характеристика и совершенствование методов лабораторной диагностики некоторых групп вибрионов и аэромонад», по специальности 03.00.07 – микробиология и в 1987 г. была присвоена ученая степень кандидат медицинских наук; в 1998 г. в Национальном медицинском университете имени И.И. Богомольца (г. Киев) защитил докторскую диссертацию по теме «Микробиологическая характеристика вибрионов и организационно-методические подходы к ее практическому использованию»,

по специальности 03.00.07 – микробиология, в 1999 г. была присвоена ученая степень доктор медицинских наук. Ученое звание доцент присвоено в 2002 г., ученое звание профессор - в 2004 г. Имея огромный опыт практической работы по разным направлениям деятельности, профессор Хайтович Александр Борисович получил высшие аттестационные категории по специальностям бактериология (с 1985 г.), эпидемиология (с 1999 г.), организация здравоохранения и менеджмент (с 2003 г.).

В XXI веке научно-исследовательская деятельность, выполняемая непосредственно профессором Хайтовичем А.Б. и под его руководством, была еще больше активизировалась и вышла на международный уровень с участием в международных конференциях в Швейцарии, Германии, Италии, Франции, Португалии, Словении, Нидерландах, Польши, Чехии, Австрии, Великобритании. Кроме того, профессор Хайтович А.Б. неоднократно принимал участие в совещаниях СНГ в рамках координационного Совета СНГ по санитарной охране территории, где выступал с научными докладами на конференциях в гг. Саратове, Волгограде, Ильичевске. Под его руководством выполнено около 30 НИР в СССР, Украине, Российской Федерации. С 2011 по 2014 гг. под руководством Хайтовича А.Б. выполнялось несколько грантов стран Европейского Союза по созданию условий биологической безопасности и использованию молекулярно-генетических, и ГИС-технологий в изучении эпидемических процессов и микробиологическом мониторинге.

Научная работа Хайтовича А.Б. в период работы по совместительству и с 2015 г. по основному месту работы связана с привлечением к научно-исследовательской деятельности наиболее способных и одаренных студентов Института «Медицинской академии имени С.И. Георгиевского», аспирантов и соискателей.

Интерес к научной работе Хайтовича А.Б. проявил в студенческие годы, где занимался в кружке при кафедре микробиологии, вирусологии и иммунологии Иркутского государственного медицинского института со 2 по 6 курс обучения, много лет был старостой студенческого кружка при кафедре микробиологии и выполнил несколько научных исследований посвященных влиянию постоянного магнитного тока на иммунитет в эксперименте. К этому периоду относятся первые публикации и выступления в конференциях студенческого научного общества. В 1970 г. за выступление на пленарном заседании Студенческой научной конференции с докладом «Действие магнитного поля на иммунологическую реактивность кролика» занял 1 место в

институте и был награжден ценным подарком и грамотой.

Профессиональную деятельность, которая началась в 1971 г., Хайтович А.Б. всегда сочетал с научной и практической работой в сфере микробиологии, эпидемиологии, экологии инфекций, представляющих угрозу человечеству и имеющих международное значение. Эти возбудители относятся к группе особо опасных инфекционных заболеваний (холера и другие патогенные вибрионы, чума, туляремия, сибирская язва, птичий грипп, иерсиниозы, лептоспирозы, геморрагических лихорадок с почечным синдромом, Крымской, Эбола, Зика и т.д.). Научный интерес представляли вопросы микробиологической диагностики и эпидемиологического надзора за особо опасными инфекциями; биологической безопасности при работе с возбудителями в лабораториях и разработка подходов в организации этой работы; получение иммунобиологических препаратов для диагностики патогенных вибрионов и совершенствование методов диагностики. Особый научный интерес был у Хайтовича А.Б. к проблеме патогенные вибрионы, в частности к проблеме холера, где он был ведущим специалистом в государстве как в научном понимании проблемы, так и в оказании практической помощи органам и учреждениям здравоохранения различных территорий Украины при выявлении неблагополучия по этой инфекции.

Хайтович А.Б. один из первых в СССР в 1989 г. апробировал и внедрил в работу Крымской противочумной станции методы молекулярно-генетической диагностики (ДНК-ДНК зондирование с помощью радиоактивных и «холодных» зондов в диагностику микроорганизмов, в 1995 г. - ПЦР-диагностика электрофоретическим способом, в 2005 г. – ПЦР Real-time для научных и практических работ). Одним из первых в мире (1997) начал использовать геоинформационную систему (ГИС) в изучении научных медицинских и эпидемиологических проблем.

Научная деятельность проявлялась выполнением 28 научно-исследовательскими разработками, большинство из которых имеет не только теоретическое значение, но и практическое внедрение; анализом полученных результатов их отражение в более 470 публикациях, в том числе – 7 монографиях, 16 - изобретениях и патентов, 9 учебно-методических пособиях, 36 методических документах государственного и регионального уровня, более 400 статья и тезисов докладов; выступлениями на международных, государственных и региональных конференциях; внедрением современных технологий в обла-

сти молекулярной, микробиологической диагностики и информационно аналитических систем.

Многие годы профессор Хайтович А.Б. сотрудничал с представителями международных организаций (ВОЗ), специалистами многих министерств и ведомств иностранных государств, ведущих научно-исследовательских институтов СССР, Российской Федерации: ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора; ФБУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Роспотребнадзора; ФГБУН «Научно-исследовательский институт гриппа» Министерства здравоохранения Российской Федерации, ФНИЦ эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалея Министерства здравоохранения Российской Федерации, ФГБУН «Институт полиомиелита и вирусных энцефалитов им. Чумакова М.П.» Министерства здравоохранения Российской Федерации, лаборатории Р-4 Института общественного здравоохранения Франции и др., по разработкам новых методов эпидемиологической и микробиологической диагностики различных патогенов с использованием информационных и молекулярно-генетических технологий, поиску новых очагов природно-очаговых инфекций, изучению возбудителя и экологии вибрионов; эпидемиологии холеры и др.

Много внимания уделял профессор Хайтович А.Б. подготовке научных кадров, с 2003 по 2017 гг. руководил аспирантурой по специальности эпидемиология в Крымском государственном медицинском университете им. С.И. Георгиевского, было выполнено 4 диссертационных работы, 3 из которых защищены в специализированных Советах г. Киева. С 2008 по 2011 гг. состоял членом Специализированного ученого Совета Д 26.614.02 при Институте эпидемиологии и инфекционных болезней им. Л.В. Громышевского НАМН Украины (г. Киев) по специальности эпидемиология.

Много времени и сил Хайтович А.Б. уделял общественной деятельности: с 1975 г. - член Крымского отделения Всесоюзного научного общества микробиологов, эпидемиологов и паразитологов имени И.И. Мечникова; с 1976 г. – член Микробиологического общества АН СССР, а с 1992 г. – член Микробиологического общества НАН Украины, с 2021 г. – член Межрегионального Российского Микробиологического общества; с 1989 г. - заместитель Председателя Крымского отделения Всесоюзного научного общества микробиологов, эпидемиологов и паразитологов имени И.И. Мечникова, с 1992 г. - заместитель Председателя Крымского отделения Украинского научного медицинского

общества микробиологов, эпидемиологов и паразитологов имени академика Д.К. Заболотного, с 1999 по 2015 гг. - Председатель Крымского отделения Украинского научного медицинского общества микробиологов, эпидемиологов и паразитологов имени академика Д.К. Заболотного, с 2002 по 2014 гг. - член Правления Украинского научного медицинского общества микробиологов, эпидемиологов и паразитологов имени академика Д.К. Заболотного, с 2016 г. – Председатель Крымского регионального отделения Всероссийского научно-практического общества эпидемиологов, микробиологов и паразитологов; с 2005 г. – действительный член (академик) научной общественной организации Крымская Академия Наук; с 1996 по 2014 гг. на общественных началах Главный внештатный специалист по бактериологии, а с 2014 г. Главный внештатный специалист и по эпидемиологии Министерства здравоохранения Автономной Республики Крым; с 1992 по 2014 гг. член Аттестационной комиссии Республиканской санитарно-эпидемиологической службы по присвоению категорий для врачей: эпидемиологии, бактериологии, паразитологии, дезинфекционному делу, организации здравоохранения и санитарно-гигиеническим специальностям; с 1997 по 2014 гг. член Аттестационной комиссии Министерства здравоохранения Автономной Республики Крым по присвоению категорий для врачей и биологов: клиническая лабораторная диагностика, биохимическая диагностика, бактериологическая диагностика, иммунологическая диагностика, серологическая диагностика; с 2015 г. – член Постоянно действующей комиссия для проведения специальных экзаменов для лиц, получивших медицинскую подготовку в иностранных государствах и претендующих заниматься медицинской деятельностью в Российской Федерации по клинической лабораторной диагностике при Крымском федеральном университете имени В.И. Вернадского; с 1989 по 1992 гг. - член Симферопольского горкома профсоюза медработников; с 1995 г. - член Совета и член правления Крымской республиканской ассоциации «Экология и мир»; с 2000 по 2006 гг. на общественных началах внештатный консультант-эксперт Постоянной комиссии по здравоохранению и социальным вопросам Верховного Совета Автономной республики Крым; с декабря 2019 г. член экспертного совета при Комитете Государственного Совета Республики Крым по экологии и природным ресурсам; с 2000 г. - член проблемной комиссии по микробиологии и инфекционным болезням Крымского государственного медицинского университета имени С.И. Георгиевского (ныне Институт «Ме-

дицинская академия имени С.И. Георгиевского» Крымского федерального университета имени В.И. Вернадского), с 2001 по 2003 гг. - Председатель проблемной комиссии по микробиологии и инфекционным болезням Крымского государственного медицинского университета имени С.И. Георгиевского; с 2005 г. - заместитель Председателя Крымской республиканской организации «Землячество сибиряков в Крыму»; с 2011 по 2019 гг. - член общественного совета Государственной Архивной службы Республики Крым, Государственного комитета по делам архивов Республики Крым; с 2017 г. член общественной некоммерческой организации «Национальное общество микологов»; с 2018 г. член общественной некоммерческой организации «Национальное научно-практическое общество бактериологов «Ассоциация бактериологов»; с декабря 2019 г. член Ассоциации специалистов и организаций лабораторной службы «Федерация лабораторной медицины»; с марта 2020 г. действительный член (академик) Петровской академии наук и искусств (Санкт-Петербург); с мая 2020 г. член Аналитического научно-практического центра по мониторингу ситуации, оценке эффективности мероприятий по противодействию распространения новой коронавирусной инфекции (2019-nCov) при Главе Республики Крым; с июня 2021 г. член Научно-экспертного совета Евразийская технологическая платформа (ЕАТП) «Технологии производства и применения эфиромасличных и лекарственных растений».

Профессор Хайтович А.Б. являлся и является членом редакционной коллегии журналов: Таврический медико-биологический вестник Крымского федерального университета В.И. Вернадского Медицинской академии им. С.И. Георгиевского (структурное подразделение) (г.

Симферополь); Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины Крымского федерального университета В.И. Вернадского Медицинской академии им. С.И. Георгиевского (структурное подразделение) (г. Симферополь), а также членом редакционного совета журналов: Профілактична медицина, г. Київ, Інститут епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л.В. Громашевського НАМН України; Епідеміологія, гігієна, інфекційні хвороби, г. Харків, Харківська медична академія післядипломної освіти МОЗ України; Экомир, г. Симферополь, Крымская Республиканская Ассоциация «Экология и Мир» при участии Крымской Академии Наук и Фонда развития экономических и гуманитарных связей «Москва - Крым».

Высокопрофессиональная научная и практическая деятельность профессора Хайтовича А.Б. отмечена государственными званиями: «Заслуженный врач Автономной Республики Крым (2001), «Заслуженный врач Украины» (2009) и наградами: знак Отличник здравоохранения СССР (1985), юбилейной медалью «Двадцать років незалежності України (2011), медаль «За доблестный труд» (2016), юбилейной медалью «70 лет Великой Отечественной войны» (2015), юбилейной медалью «100 лет Днепропетровской санитарно-эпидемиологической службы» (2000), юбилейной медалью «100-летие летчику Чеснокову» (2016), медалью «80 лет Иркутской области» (2017), медалью академика Б.Д. Грекова (2017), знаком «Изобретатель СССР» (1985), знаком «100 лет Иркутскому государственному медицинскому университету» (2020), 23 грамотами, 5 благодарностями и дипломом «Почетный профессор Крымского Федерального университета имени В.И. Вернадского (2021).