

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

КРЫМСКИЙ ЖУРНАЛ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ И КЛИНИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ

CRIMEAN JOURNAL OF EXPERIMENTAL AND CLINICAL MEDICINE

2021, том 11, № 4

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 «Сушрута-врач-хирург Древней Индии»

АДРЕС РЕДАКЦИИ:
295051, бульвар Ленина, 5/7, г. Симферополь, ФГАОУ ВО «КФУ имени В. И. Вернадского»
Медицинская академия имени С. И. Георгиевского
E-mail: cjest_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 28 декабря 2018 года № 90-р, журнал считается включенным в Перечень ВАК по следующим научным специальностям и соответствующим им отраслям наук:

03.01.02 – Биофизика (медицинские науки); 03.01.03 – Молекулярная биология (биологические науки); 03.01.04 – Биохимия (медицинские науки); 03.01.07 – Молекулярная генетика (биологические науки); 03.01.08 – Биоинженерия (биологические науки); 03.01.09 – Математическая биология, биоинформатика (медицинские науки); 03.03.01 – Физиология (медицинские науки); 03.03.02 – Антропология (медицинские науки); 03.03.03 – Иммунология (медицинские науки); 03.03.04 – Клеточная биология, цитология, гистология (медицинские науки); 03.03.05 – Биология развития, эмбриология (медицинские науки); 03.03.06 – Нейробиология (медицинские науки); 14.03.01 – Анатомия человека (медицинские науки); 14.03.02 – Патологическая анатомия (медицинские науки); 14.03.03 – Патологическая физиология (медицинские науки); 14.03.05 – Судебная медицина (медицинские науки); 14.03.06 – Фармакология, клиническая фармакология (медицинские науки); 14.03.07 – Химиотерапия и антибиотики (медицинские науки); 14.03.08 – Авиационная, космическая и морская медицина (медицинские науки); 14.03.09 – Клиническая иммунология, аллергология (медицинские науки); 14.03.10 – Клиническая лабораторная диагностика (медицинские науки); 14.03.11 – Восстановительная медицина, спортивная медицина, лечебная физкультура, курортология и физиотерапия (медицинские науки).

Подписной индекс издания в каталоге Агентства «Роспечать» — 80124

Рекомендовано к печати ученым советом Медицинской академии имени С. И. Георгиевского (протокол № 10 от 30 ноября 2021)

УЧРЕДИТЕЛЬ:

ФГАОУ ВО «КРЫМСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ В. И. ВЕРНАДСКОГО»
МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ ИМЕНИ С. И. ГЕОРГИЕВСКОГО

СОДЕРЖАНИЕ

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

ORIGINAL ARTICLES

- Демяшкин Г. А., Боровая Т. Г., Андреева Ю. Ю., Корякин С. Н., Щекин В. И., Мамзеров А. В.**
ОСОБЕННОСТИ S-ПЕРИОДА МИТОЗА В СЕМЕННЫХ КАНАЛЬЦАХ ПОСЛЕ ОБЛУЧЕНИЯ ЭЛЕКТРОНАМИ ДОЗОЙ 2 ГР И ВВЕДЕНИИ PRP6
- Demyashkin G. A., Borovaya T. G., Andreeva Yu. Yu., Koryakin S. N., Shchekin V. I., Mamzerov A. V.**
SPECIFIC FEATURES OF THE S-PERIOD OF MITOSIS IN THE SEMINAL TUBULES AFTER 2 GY ELECTRON IRRADIATION AND PRP INTRODUCTION6
- Каде А. Х., Казанчи Д. Н., Цымбалов О. В., Занина Е. С.**
ТЭС-ТЕРАПИЯ ДЛЯ КОРРЕКЦИИ НЕЙРОИММУНОЭНДОКРИННОГО ДИСБАЛАНСА ПРИ СТРЕССОВОМ НЕДЕРЖАНИИ МОЧИ..... 11
- Kade A. Kh., Kazanchi D. N., Tsymbalov O. V., Zanina E. S.**
TES-THERAPY FOR THE CORRECTION OF NEUROIMMUNOENDOCRINE IMBALANCE IN STRESS URINARY INCONTINENCE..... 11
- Киричук О. П., Юрьев Г. О., Буркова Н. В., Постнов В. Н., Романчук Е. В., Свиридов Э. Е., Киселева А. В., Литвиненко Е. В., Романова О. Б., Кузнецов С. И.**
СИЛОХРОМ С-120 И ЕГО ПРОИЗВОДНЫЕ КАК ВОЗМОЖНЫЕ КОНТАКТНЫЕ АКТИВАТОРЫ КЛЕТОК КРОВИ ДЛЯ МАЛООБЪЕМНОЙ ГЕМОПЕРФУЗИИ..... 17
- Kirichuk O. P., Yuryev G. O., Burkova N. V., Postnov V. N., Romanchuk E. V., Sviridov E. E., Kiseleva A. V., Litvinenko E. V., Romanova O. B., Kuznetsov S. I.**
SILOCHROME C-120 AND ITS DERIVATIVES AS POSSIBLE CONTACT ACTIVATORS OF BLOOD CELLS FOR LOW-VOLUME HEMOPERFUSION17
- Никитин П. В., Демяшкин Г. А., Беркетова А. М., Марьевская Д. С., Петухова П. С.**
МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ХРОМОСОМНЫХ АБЕРРАЦИЙ В СЕМЕННИКАХ ПОСЛЕ ОБЛУЧЕНИЯ ЭЛЕКТРОНАМИ ДОЗОЙ 2 ГР И ВВЕДЕНИЯ PRP27
- Nikitin P. V., Demyashkin G. A., Berketova A. M., Marevskaya D. S., Petukhova P. S.**
MOLECULAR-GENETIC CHARACTERISTICS OF CHROMOSOMAL ABERRATIONS IN THE TESTES AFTER ELECTRON IRRADIATION WITH A DOSE OF 2 GY AND PRP INJECTION27
- Оксузян А. В., Бутолин Е. Г., Соловьев М. Д.**
ИЗМЕНЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ОБМЕНА СИАЛОГЛИКОПРОТЕИНОВ В ТКАНЯХ ПЕЧЕНИ, ЖЕЛУДКА И ТОНКОЙ КИШКИ АЛКОГОЛИЗИРОВАННЫХ КРЫС ПРИ ВВЕДЕНИИ S-АДЕНОЗИЛМЕТИОНИНА.....33
- Oksuzyan A. V., Butolin E. G., Solovyov M. D.**
CHANGES IN THE METABOLISM OF SIALOGLYCOPROTEINS IN LIVER, STOMACH, AND SMALL INTESTINE TISSUES IN ALCOHOLIZED RATS UPON ADMINISTRATION OF S-ADENOSYLMETHIONINE33
- Семенова Е. Ф., Маркелова Н. Н., Бибарсова А. А., Ржевская В. С., Теплицкая Л. М., Сластия Е. А., Степанова А. П., Солодаренко О. В.**
КАЧЕСТВЕННЫЙ И КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ СОСТАВ МЕТАБОЛИТОВ ШТАММОВ МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ В СВЯЗИ С РАЗРАБОТКОЙ ПРЕПАРАТОВ ПРОБИОТИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ44

Semenova E. F., Markelova N. N., Bibarsova A. A., Rzhetskaya V. S., Teplitskaya L. M., Slastya E. A., Stepanova A. P., Solodarenko O. M.

QUALITATIVE AND QUANTITATIVE COMPOSITION OF LACTIC BACTERIA STRAINS' METABOLITES IN CONNECTION WITH THE DEVELOPMENT OF PROBIOTIC MEDICATIONS.....44

Франциянц Е. М., Нескубина И. В., Каплиева И. В., Шихлярова А. И., Сурикова Е. И., Черярина Н. Д., Бандовкина В. А., Погорелова Ю. А., Шапошников А. И., Геворкян Ю. А.

СОДЕРЖАНИЕ НЕЙРОСТЕРОИДОВ В МИТОХОНДРИЯХ КЛЕТОК КОРЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА ПРИ РАЗВИТИИ МЕЛАНОМЫ В16/F10 НА ФОНЕ ХРОНИЧЕСКОЙ НЕЙРОГЕННОЙ БОЛИ.....54

Frantsiyants E. M., Neskubina I. V., Kaplieva I. V., Shikhlyarova A. I., Surikova E. I., Cheryarina N. D., Bandovkina V. A., Pogorelova Yu. A., Shaposhnikov A. V., Gevorkyan Yu. A.

LEVELS OF NEUROSTEROIDS IN MITOCHONDRIA OF THE BRAIN CORTEX CELLS DURING THE DEVELOPMENT OF B16/F10 MELANOMA IN PRESENCE OF CHRONIC NEUROGENIC PAIN54

ИСТОРИЯ МЕДИЦИНЫ

HISTORY OF MEDICINE

Агеева Е. С., Демиденко Л. А., Гафарова М. Т., Жукова А. А., Казакова В. В.

ВКЛАД ДОЦЕНТА КАФЕДРЫ БИОЛОГИИ И В. НЕУЙМИНА В ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ КЛЕЩЕЙ В ПЕРЕДАЧЕ КЛЕЩЕВОГО ВОЗВРАТНОГО ТИФА62

Ageeva E. S., Demidenko L. A., Gafarova M. T., Zhukova A. A., Kazakova V. V.

CONTRIBUTION OF ASSOCIATE PROFESSOR OF THE DEPARTMENT OF BIOLOGY I. V. NEUIMIN TO THE STUDY OF THE ROLE OF TICKS IN THE TRANSMISSION OF TICK-BORNE RECURRENT FEVER62

Барсуков Н. П., Шаповалова Е. Ю., Юнси Г. А., Остапенко О. В.

НАУЧНОЕ НАСЛЕДИЕ ПРОФЕССОРА Б. П. ХВАТОВА В ЭМБРИОЛОГИИ70

Barsukov N. P., Shapovalova E. Yu., Yunsi G. A., Ostapenko O. V.

SCIENTIFIC HERITAGE OF PROFESSOR B. P. KHVATOV IN EMBRYOLOGY70

Хайтович А. Б.

К 90 ЛЕТИЮ КАФЕДРЫ МИКРОБИОЛОГИИ, ВИРУСОЛОГИИ И ИММУНОЛОГИИ. ПРОФЕССОРА КАФЕДРЫ: ЗАВЕДУЮЩИЙ КАФЕДРОЙ В ПРЕДВОЕННЫЕ ГОДЫ ВЛАДИМИР ДАВЫДОВИЧ ШТИБЕН.....76

Khaitovich A. B.

TO THE 90TH ANNIVERSARY OF THE DEPARTMENT OF MICROBIOLOGY, VIRUSOLOGY AND IMMUNOLOGY. PROFESSOR OF DEPARTMENT: HEAD OF DEPARTMENT IN THE PRE-WAR YEARS VLADIMIR DAVYDOVICH STIBEN76

ОБЗОРЫ

REVIEWS

Горлов А. А., Петров А. В., Яцков И. А.

ВЛИЯНИЕ МЕТОТРЕКСАТА И БИОЛОГИЧЕСКОЙ БАЗИСНОЙ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ ТЕРАПИИ НА КОНЦЕНТРАЦИЮ NT-PROBNP У ПАЦИЕНТОВ С РЕВМАТОИДНЫМ АРТРИТОМ82

Gorlov A. A., Petrov A. V., Yatskov I. A.

IMPACT OF METHOTREXATE AND BIOLOGICAL DISEASE-MODIFYING DRUGS ON NT-PROBNP LEVELS IN RA PATIENTS82

Дмитриевская М. И., Неганова А. А., Пискарьева С. А.

ПРИМЕНЕНИЕ АКАЛАБРУТИНИБА ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ХРОНИЧЕСКОГО ЛИМФОЦИТАРНОГО ЛЕЙКОЗА92

Dmitrievskaya M. I., Neganova A. A., Piskareva S. A. THE USAGE OF ACALABRUTINIB IN TREATMENT OF CHRONIC LYMPHOCYTIC LEUKEMIA.....	92
Кузнецова Е. А., Есауленко Е. Е., Быков И. М. БИОХИМИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ РАЗВИТИЯ ДЕФИЦИТА ТЕСТОСТЕРОНА У МУЖЧИН С НЕАЛКОГОЛЬНОЙ ЖИРОВОЙ БОЛЕЗНЬЮ ПЕЧЕНИ.....	98
Kuznetsova E. A., Esaulenko E. E., Bykov I. M. BIOCHEMICAL MECHANISMS OF TESTOSTERONE DEFICIENCY DEVELOPMENT IN MEN WITH NON-ALCOHOLIC FAT LIVER DISEASE.....	98
Фоминых Т. А., Куцевол Б. Л., Саенко А. Г., Грицкевич О. Ю. ОСНОВНЫЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ В СОВРЕМЕННОЙ СУДЕБНОЙ МЕДИЦИНЕ	106
Fominykh T. A., Kutsevol B. L., Saenko A. G., Gritskevich O. Yu. BASIC RESEARCH METHODS IN MODERN FORENSIC MEDICINE	106

ОСОБЕННОСТИ S-ПЕРИОДА МИТОЗА В СЕМЕННЫХ КАНАЛЬЦАХ ПОСЛЕ ОБЛУЧЕНИЯ ЭЛЕКТРОНАМИ ДОЗОЙ 2 ГР И ВВЕДЕНИИ PRP

Демяшкин Г. А.^{1,2}, Боровая Т. Г.³, Андреева Ю. Ю.⁴, Корякин С. Н.², Щекин В. И.^{1,2},

Мамзеров А. В.⁵

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

²ФГБУ Национальный медицинский исследовательский центр радиологии, 249036, ул. Королева, 4, Обнинск, Россия

³Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. почетного академика Н. Ф. Гамалеи, 123098, ул. Гамалеи, Москва, Россия

⁴Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования, 123098, ул. Баррикадная, 2/1, стр. 1, Москва, Россия

⁵ФГБУ Обнинский институт атомной энергетики, 249039, Студгородок, 1, Обнинск, Россия

Для корреспонденции: Демяшкин Григорий Александрович, к.м.н., Сеченовский Университет, e-mail: dr.dga@mail.ru

For correspondence: Grigory Demyashkin, PhD, 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>

Borovaya T. G., <https://orcid.org/0000-0001-8444-1801>

Andreeva Yu. Yu., <https://orcid.org/0000-0003-4749-6608>

Koryakin S. N., <https://orcid.org/0000-0003-0128-4538>

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

Mamzerov A. V., <https://orcid.org/0000-0002-9211-531X>

РЕЗЮМЕ

С каждым годом неуклонно растет количество случаев мужского бесплодия, в связи с чем необходима разработка новых методов диагностики и лечения этого заболевания. Известно, что высокой регенеративной активностью обладает плазма, обогащённая тромбоцитами, α -гранулы которых содержат факторы роста, поэтому мы вправе ожидать положительных эффектов после ее применения для восстановления сперматогенного эпителия. Цель исследования: иммуногистохимическая оценка PCNA в семенных канальцах на фоне активации факторов роста после облучения. Материал и методы. Крысы породы Вистар (n=135) были поделены на группы: I – контроль, II – 2IR, III – 2IR+LP-PRP+IGF-1, IV – 2IR+LP-PRP и V – LP-PRP. Сперматогенез у животных II, III и IV групп ингибировали однократным локальным облучением электронами дозой 2 Гр. Затем, на протяжении 11 недель крысам III и IV внутрибрюшинно вводили LP-PRP, а в III группе – дополнительно IGF-1. Семенники изучали иммуногистохимическим методом с антителами к PCNA. Результаты. После облучения обнаружили резкое уменьшение доли PCNA-позитивных половых клеток, преимущественно сперматогоний, которая постепенно восстанавливалась на фоне введения LP-PRP в комбинации с IGF-1. Заключение. При однократном локальном воздействии облучения электронами дозой 2 Гр на семенники происходит снижение пролиферативной активности половых клеток, оцененной по PCNA.

Ключевые слова: сперматогенез, облучение, гипосперматогенез, PRP, PCNA, факторы роста.

SPECIFIC FEATURES OF THE S-PERIOD OF MITOSIS IN THE SEMINAL TUBULES AFTER 2 GY ELECTRON IRRADIATION AND PRP INTRODUCTION

Demyashkin G. A.^{1,2}, Borovaya T. G.³, Andreeva Yu. Yu.⁴, Koryakin S. N.², Shchekin V. I.^{1,2}, Mamzerov A. V.⁵

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

²Medical Radiological Scientific Center named after A.F. Tsyba, Obninsk, Russia

³The National Research Center for Epidemiology and Microbiology named after Honorary Academician N.F. Gamaleya, Moscow, Russia

⁴Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, Moscow, Russia

⁵Obninsk Institute for Nuclear Power Engineering, Obninsk, Russia

SUMMARY

Every year the number of cases of male infertility is growing steadily, and therefore it is necessary to develop new

methods for the diagnosis and treatment of this disease. It is known that plasma enriched with platelets, the α -granules of which contain growth factors, possesses high regenerative activity; therefore, we can expect positive effects after its use for the restoration of spermatogenic epithelium. Objective of the study: immunohistochemical assessment of PCNA in the seminiferous tubules against the background of activation of growth factors after irradiation. Material and methods. Wistar rats ($n = 135$) were divided into groups: I – control, II – 2IR, III – 2IR+LP-PRP+ IGF-1, IV – 2IR+LP-PRP and V – LP- PRP. Spermatogenesis in animals of groups II, III, and IV was inhibited by a single local irradiation with electrons at a dose of 2 Gy. Then, for 11 weeks, LP-PRP was intraperitoneally injected into rats III and IV, and in group III – additionally IGF-1. The testes were examined by immunohistochemistry with antibodies to PCNA. Results. After irradiation, a sharp decrease in the proportion of PCNA-positive germ cells, mainly spermatogonia, was found, which gradually recovered after the administration of LP-PRP in combination with IGF-1. Conclusion. The increase in the number of PCNA-positive cells is directly related to the introduction of LP-PRP-IGF-1.

Key words: spermatogenesis, irradiation, hypospermatogenesis, PRP, PCNA, growth factors.

С каждым годом отмечается рост количества мужчин с бесплодием во всем мире [1], которое связано с эндокринной, аутоимунной, инфекционной причинами или возникает идиопатически и вызывает угнетение сперматогенеза, сопровождающиеся, в первую очередь дисбалансом между пролиферацией и апоптозом мужских половых клеток, который особенно проявляется после действия ионизирующего излучения или использования цитостатических препаратов. С одной стороны, радиоактивные частицы оказывают прямое повреждающее действие на нуклеиновые кислоты и белки, вызывая радиоллиз воды с образованием активных радикалов, а с другой стороны, активируют перекисное окисление липидов и образование вторичных радиотоксинов, которые нарушают целостность мембранных структур клетки.

Поэтому, разработка способов восстановления репродуктивной функции является одной из актуальной и важных задач современной андрологии и морфологии, направленных на изучение причинно-следственных связей и внутригонадных патогенетических механизмов нарушения сперматогенеза, с последующей их коррекции.

Физиологический сперматогенез в том числе зависит от влияния ростовых факторов (PDGF, TGF- β , VEGF, EGF, и др.), регулирующих основные фазы жизненного цикла половых клеток, такие как пролиферация, дифференцировка и апоптоз [2]. В различные направления регенеративной медицины в последнее время широко внедряется плазма, обогащенная тромбоцитами (PRP), содержащая ряд биологически активных веществ и факторов роста, многие из которых являются мощными регуляторами и активаторами различных фаз клеточного цикла.

Для оценки эффективности применения PRP можно судить по пролиферативной активности половых клеток, учитывая значения таких маркеров, как PCNA, Ki-67 и др.

PCNA (ядерный антиген пролиферирующих клеток) регулирует S \rightarrow G2 период митоза,

отвечая за синтез и репликацию ДНК, являясь вспомогательным фактором для ϵ - и δ - ДНК-полимеразы [3]. В единичных исследованиях сообщается, что после облучения экспрессия маркеров пролиферации, в частности PCNA, понижается, в ответ на повреждение цепей ДНК [4]. Однако, пролиферативная активность половых клеток в условиях облучения электронами, а также возможная коррекция факторами роста остаются малоизученными или противоречивыми [5; 6].

Цель исследования: иммуногистохимическая оценка PCNA в семенных канальцах на фоне активации факторов роста после облучения.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследование проводили на базах Медицинского радиологического научного центра имени А.Ф. Цыба и Сеченовского университета.

Крысы породы Wistar ($n=135$) были поделены на группы: I – контрольная ($n=10$; вводили физиологический раствор); II, III, IV ($n=95$) – однократное локальное облучение семенников электронами дозой 2 Гр (2IR); III группа ($n=30$) – в течение 11 недель внутрибрюшинной инъекцией вводили плазму, содержащую высокую концентрацию тромбоцитов и низкую концентрацию лейкоцитов (LP-PRP) в комбинации с рекомбинантным человеческим IGF-1, а в IV группе ($n=30$) – только LP-PRP; V ($n=30$) – получали LP-PRP. Животных всех групп постепенно выводили из эксперимента каждые 2 недели на протяжении 12 недель.

Все манипуляции выполняли согласно «Международным рекомендациям по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» (ЕЭС, Страсбург, 1985) и Хельсинской декларации Всемирной медицинской ассоциации.

Семенники фиксировали в растворе Буэна, заливали в парафиновые блоки, готовили серийные срезы для иммуногистохимического исследования, которое проводили по стандартному

протоколу в ручном режиме. В качестве первичных использовали кроличьи моноклональные антитела к PCNA (Invitrogen, PA5-27214; 1:100), а вторичные – универсальные антитела (HiDef Detection™ HRP Polymer system, «Cell Marque», США). Подсчёт иммунопозитивных половых клеток проводили в 10 случайно отобранных полях зрения при увеличении $\times 400$ (в %). Микроскопический анализ выполнялся с помощью системы видео-микроскопии (микроскоп Leica DM2000, Германия; камера Leica ICC50 HD; компьютер Platrun LG).

Полученные в результате подсчёта данные обрабатывали с использованием компьютерной программы SPSS 12 for Windows statistical software package (IBM Analytics, США). Сравнение между группами проводили с использованием однофакторного дисперсионного анализа ANOVA со значимостью $p < 0.01$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

При иммуногистохимическом исследовании с антителами к PCNA во всех образцах контрольной и опытных групп визуализировали ядерные реакции различной степени выраженности, преимущественно в сперматогониях (рис. 1, рис. 2).

В семенных канальцах животных II группы через две недели после облучения электронами дозой 2 Гр отмечали снижения доли PCNA-позитивных половых клеток, которое к окончанию эксперимента было в 4,5 раза ниже ($28,1 \pm 1,2\%$, при $p < 0.01$) по сравнению с контрольными значениями ($70,0 \pm 2,2\%$, при $p < 0.01$) (рис. 1, рис. 2).

На фоне введения LP-PRP в комбинации с IGF-1 начиная со второй недели, наблюдали постепенное увеличения количества PCNA-позитивных половых клеток ($67,1 \pm 0,2\%$, при $p < 0.01$). Аналогичную картину выявили и в IV группе с отставанием в две недели ($46,3 \pm 0,1\%$, при $p < 0.01$) (рис. 1, 2).

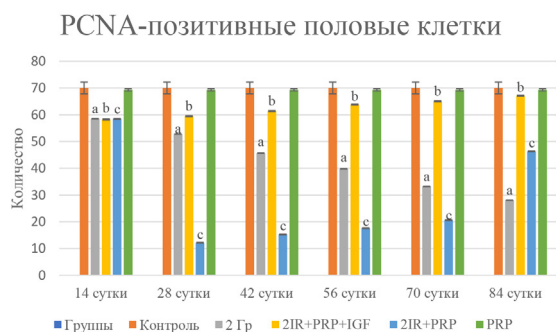
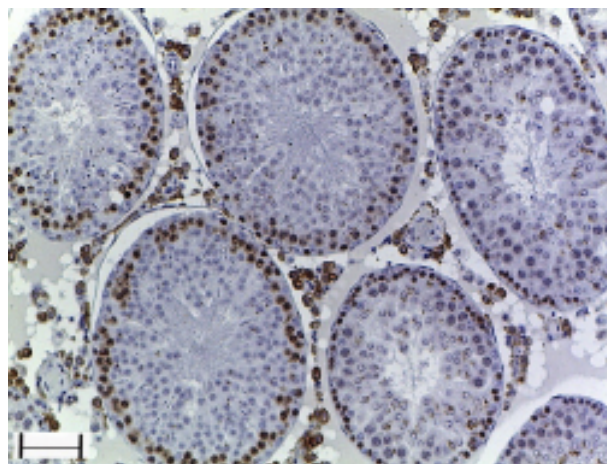
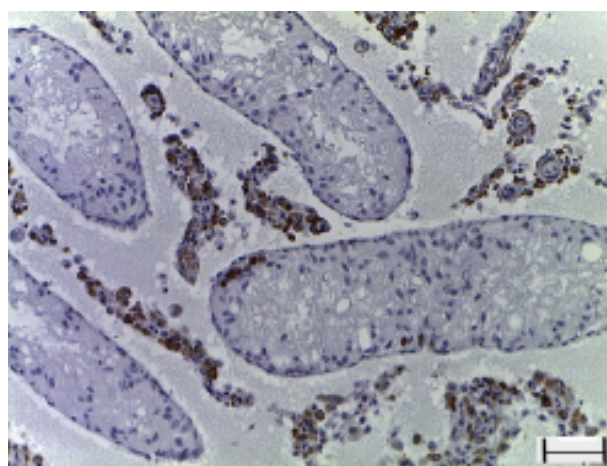


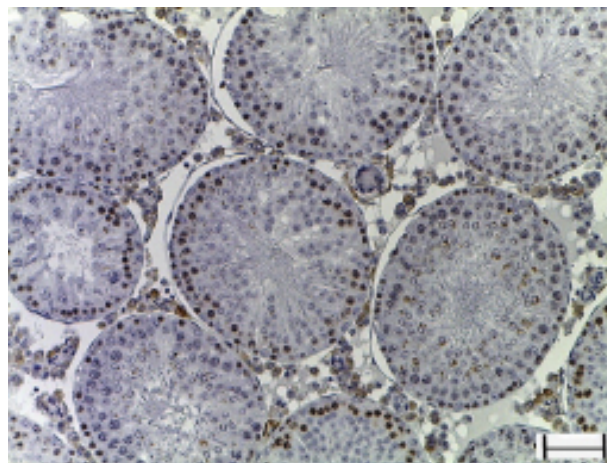
Рис. 1. Значение \pm стандартное отклонение количества PCNA-позитивных половых клеток в контрольной и опытных группах ^a $p < 0.01$ (контроль и 2IR), ^b $p < 0.01$ (2IR и 2IR+PRP+IGF), ^c $p < 0.01$ (2IR и 2IR+PRP)



I

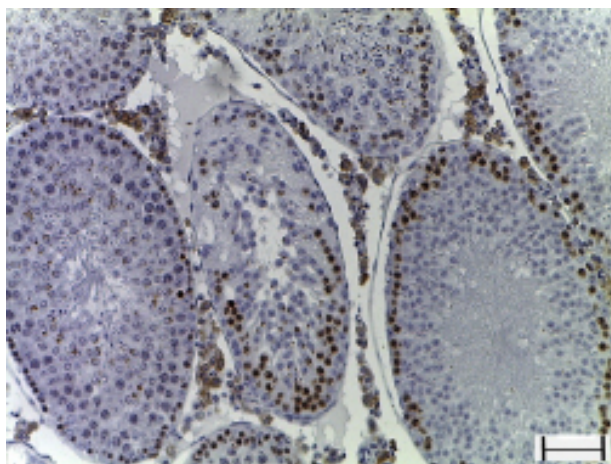


II

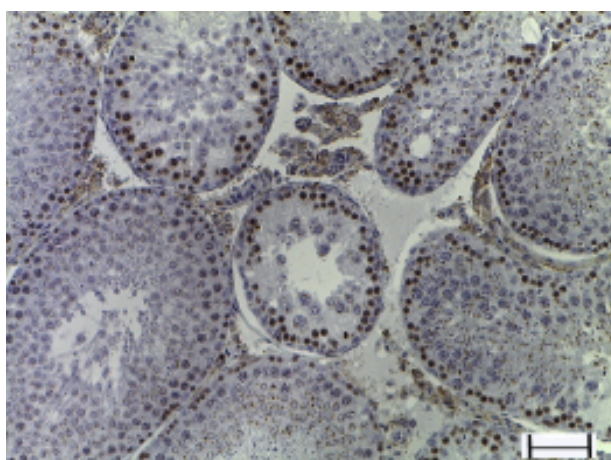


III

Рис. 2. Семенные канальцы животных контрольной и опытной группы на 84 сутки эксперимента, иммуногистохимические реакции с антителом к PCNA, докрашивание – гематоксилином, увеличение $\times 200$. II группа – после локального облучения электронами дозой 2 Гр и введение PRP (IV группа), а также в комбинации с IGF-1 (III группа).



IV



V

Рис. 2. Семенные каналцы животных контрольной и опытной групп на 84 сутки эксперимента, иммуногистохимические реакции с антителом к PCNA, докрашивание – гематоксилином, увеличение $\times 200$. II группа – после локального облучения электронами дозой 2 Гр и введение PRP (IV группа), а также в комбинации с IGF-1 (III группа).

Достоверных различий окрашивания на PCNA в половых клетках V-ой и контрольной групп не обнаружили (рис. 1, рис. 2).

ОБСУЖДЕНИЕ

Нарушение сперматогенеза напрямую связано с клеточными и молекулярными изменениями в гаметях, в первую очередь с их размножением и гибелью.

Известно, что PCNA участвует в митотическом делении и дифференцировки половых клеток, одновременно является регулятором пролиферации [3].

Обнаруженное после локального облучения семенников электронами дозой 2 Гр снижение количества половых клеток, связанное с уменьшением их пролиферативной активности, оцененной

по PCNA, частично совпадает с данным других авторов [7]. Клеточный цикл при воздействии радиации может быть блокирован в двух критических точках-перехода из G1 в S и/или из G2 в M фазу, что сопровождается двунитевыми разрывами ДНК, приводящая в итоге к гибели половых клеток путем апоптоза или развитию мутантных клонов.

Для коррекции гипосперматогенеза использовали плазму, обогащенную тромбоцитами (PRP) содержащую альфа-гранулы с хемотаксическими и пролиферативными факторами роста, такими как PDGF, TGF- β 1, IGF, VEGF, EGF, фибрин, фибронектин и витронектин и др. На фоне ее введения отмечали увеличение PCNA-позитивных гамет и восстановление пула за счет сперматогонимальных стволовых клеток. Этот регенеративный эффект можно объяснить различными свойствами, которыми обладают универсальные факторы, входящие в состав PRP. Так, тромбоцитарный фактор роста (PDGF) контролирует продолжительность G1-периода митоза, а трансформирующий фактор роста β (TGF- β) обладает антиапоптотическим действием. Эпидермальный фактор роста (EGF) активирует PI3K-сигнальный путь, который запускает каскад биохимических реакций, что приводит к повышению уровней внутриклеточного кальция и гликогена, а также увеличению экспрессии гена EGFR, регулирующего синтез ДНК, то есть пролиферацию клеток [8].

Дополнительное введение IGF-I с PRP показало опережение обнаруженных репаративных процессов восстановления пула половых клеток, учитывая, что IGF-1 является одним из ключевых индукторов и модуляторов метаболических процессов клетки по PI3K-сигнальному пути. Кроме того, IGF-I может ингибировать каскад апоптоза, вследствие лабильности антиапоптотического Akt-пути, фосфорилируя транскрипционный фактор NF- κ B, а также способствует диссоциации BAD на Ser136, тем самым деактивируя каспазы [9, 10].

Таким образом, введение LP-PRP в комбинации с IGF-1 улучшило морфологические параметры семенных каналцев и ускорило процесс восстановления сперматогенного эпителия, в частности, показатели клеточной пролиферации значительно повышались на протяжении всего эксперимента.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При однократном локальном воздействии облучения электронами дозой 2 Гр на семенники происходит снижение пролиферативной активности половых клеток, оцененной по PCNA. Факторы роста α -гранул тромбоцитов PRP способствуют увеличению количества PCNA-позитивных половых клеток и восстановлению пула.

ЛИТЕРАТУРА

1. Chalyi M. E., Akhvlediani N. D., Kharchilava R. R. Male infertility. *Urologiia*. 2017;(S2):4-19. (In Russ.).
2. Andrae J., Gallini R., Betsholtz C. Role of platelet-derived growth factors in physiology and medicine. *Genes Dev*. 2008; 22(10): 1276–1312. doi:10.1101/gad.1653708
3. Zhao W., Wang H., Liu J., Tan P., Luo X., Zhu S., Chen X., Zhou B. Positive PCNA and Ki-67 Expression in the Testis Correlates with Spermatogenesis Dysfunction in Fluoride-Treated Rats. *Biol Trace Elem Res*. 2018;186(2):489-497. doi:10.1007/s12011-018-1338-6
4. Jing Pan, Jianwei Zhang, Research Progress of PCNA in Reproductive System Diseases Review Article | Open Access Volume 2021, Article ID 2391917, 8 pages. doi:10.1155/2021/2391917
5. Ahmed F. Soliman, Mostafa Saif-Elnasr, Salma M. Abdel Fattah. Platelet-rich plasma ameliorates gamma radiation-induced nephrotoxicity via modulating oxidative stress and apoptosis. *Life Sciences*. 2019;219:238-247. doi:10.1016/j.lfs.2019.01.024.
6. Istiqamah E., Rizal D., Puspitasari I. Effect of Platelet-rich Plasma on Caspase-3 and IGF-1 mRNA expression in the diabetic rat testis. *Indonesian Journal of Pharmacy*. 2019;30(2):98-104. doi:10.14499/indonesianjpharm30iss2pp98-104
7. Ji H., Wang D., Wu Y., Niu Y., Jia L., Liu B., Feng Q., Feng M. Wuzi Yanzong pill, a Chinese polyherbal formula, alleviates testicular damage in mice induced by ionizing radiation. *BMC Complement Altern Med*. 2016;16(1):509. doi:10.1186/s12906-016-1481-6.
8. Kaprin A. D., Kostin A. A., Epifanova M. V., Chalyy M. E., Gameeva E. V., Artemenko S. A. Platelet-rich plasma therapy for erectile dysfunction: a review of preclinical and clinical studies. *Research and Practical Medicine Journal (Issled. prakt. med.)*. 2019;6(2):74-86. doi:10.17709/2409-2231-2019-6-3-7
9. Demyashkin G. Immunophenotypic characteristics of spermatogenesis in idiopathic male infertility. *Pathological physiology and experimental therapy*. 2020;64(2):63-73. doi:10.25557/0031-2991.2020.02.63-73.
10. Ellis M. J., Jenkins S., Hanfelt J., Redington M. E., Taylo M., Leek R., Siddle K., Harris A. Insulin-like growth factors in human breast cancer. *Breast Cancer Research and Treatment*. 1998; 52:175-184.

REFERENCE

1. Chalyi M. E., Akhvlediani N. D., Kharchilava R. R. Male infertility. *Urologiia*. 2017;(S2):4-19. (In Russ.).
2. Andrae J., Gallini R., Betsholtz C. Role of platelet-derived growth factors in physiology and medicine. *Genes Dev*. 2008; 22(10): 1276–1312. doi:10.1101/gad.1653708
3. Zhao W., Wang H., Liu J., Tan P., Luo X., Zhu S., Chen X., Zhou B. Positive PCNA and Ki-67 Expression in the Testis Correlates with Spermatogenesis Dysfunction in Fluoride-Treated Rats. *Biol Trace Elem Res*. 2018;186(2):489-497. doi:10.1007/s12011-018-1338-6
4. Jing Pan, Jianwei Zhang, Research Progress of PCNA in Reproductive System Diseases Review Article | Open Access Volume 2021, Article ID 2391917, 8 pages. doi:10.1155/2021/2391917
5. Ahmed F. Soliman, Mostafa Saif-Elnasr, Salma M. Abdel Fattah. Platelet-rich plasma ameliorates gamma radiation-induced nephrotoxicity via modulating oxidative stress and apoptosis. *Life Sciences*. 2019;219:238-247. doi:10.1016/j.lfs.2019.01.024.
6. Istiqamah E., Rizal D., Puspitasari I. Effect of Platelet-rich Plasma on Caspase-3 and IGF-1 mRNA expression in the diabetic rat testis. *Indonesian Journal of Pharmacy*. 2019;30(2):98-104. doi:10.14499/indonesianjpharm30iss2pp98-104
7. Ji H., Wang D., Wu Y., Niu Y., Jia L., Liu B., Feng Q., Feng M. Wuzi Yanzong pill, a Chinese polyherbal formula, alleviates testicular damage in mice induced by ionizing radiation. *BMC Complement Altern Med*. 2016;16(1):509. doi:10.1186/s12906-016-1481-6.
8. Kaprin A. D., Kostin A. A., Epifanova M. V., Chalyy M. E., Gameeva E. V., Artemenko S. A. Platelet-rich plasma therapy for erectile dysfunction: a review of preclinical and clinical studies. *Research and Practical Medicine Journal (Issled. prakt. med.)*. 2019;6(2):74-86. doi:10.17709/2409-2231-2019-6-3-7
9. Demyashkin G. Immunophenotypic characteristics of spermatogenesis in idiopathic male infertility. *Pathological physiology and experimental therapy*. 2020;64(2):63-73. doi:10.25557/0031-2991.2020.02.63-73.
10. Ellis M. J., Jenkins S., Hanfelt J., Redington M. E., Taylo M., Leek R., Siddle K., Harris A. Insulin-like growth factors in human breast cancer. *Breast Cancer Research and Treatment*. 1998; 52:175-184.

ТЭС-ТЕРАПИЯ ДЛЯ КОРРЕКЦИИ НЕЙРОИММУНОЭНДОКРИННОГО ДИСБАЛАНСА ПРИ СТРЕССОВОМ НЕДЕРЖАНИИ МОЧИ

Каде А. Х., Казанчи Д. Н., Цымбалов О. В., Занина Е. С.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 350063, ул. Митрофана Седина, 4, Краснодар, Россия

Для корреспонденции: Каде Азамат Халидович, д.м.н., профессор, заведующий кафедрой общей и клинической патологической физиологии ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России, e-mail: akh_kade@mail.ru

For correspondence: Kade Azamat Kh., MD, department of general and clinical pathologic physiology, Kuban state medical university, e-mail: akh_kade@mail.ru

Information about authors:

Kade A. Kh., <https://orcid.org/0000-0002-0694-9984>

Kazanchi D. N., <https://orcid.org/0000-0002-0111-171X>

Tsymbalov O. V., <https://orcid.org/0000-0002-6203-9272>

Zanina E. S., <https://orcid.org/0000-0002-8027-628X>

РЕЗЮМЕ

Стрессовое недержание мочи у женщин представляет собой актуальную клиническую проблему. Требуется поиск новых немедикаментозных методов лечения. Данные методы должны иметь гомеостатическую направленность действия и обладать антистрессорным эффектом, так как, возможно, наиболее опасными последствиями недержания мочи являются хронический психоэмоциональный стресс, тревожность и депрессия (которые по принципу обратной связи усугубляют стрессовое недержание и/или гиперактивность мочевого пузыря). Ключевым патогенетическим звеном стресса является повышение плазменной концентрации катехоламинов. Цель исследования - изучение влияния транскраниальной электростимуляции (ТЭС-терапии) на плазменную концентрацию катехоламинов у пациенток со стрессовым недержанием мочи. Материал и методы. В исследовании участвовали 40 пациенток со стрессовым недержанием мочи и 20 здоровых добровольцев. Пациентки основной группы (n=10) получали терапию согласно современным рекомендациям и ТЭС-терапию по 1 сеансу в день в течение 30 дней. Пациентки группы сравнения (n=30) получали терапию согласно современным рекомендациям без ТЭС-терапии. В обеих группах измерялась плазменная концентрация адреналина и норадреналина в динамике. Результаты. Исходный уровень адреналина был выше в 2,7 раз (p=0,00000003) в группе сравнения и в 3,6 раза (p=0,00001) в основной группе, чем у здоровых добровольцев. Исходный уровень норадреналина был выше в 2,4 раза выше (p=0,00000003) в группе сравнения и в 3,6 раза выше (p=0,00001) в основной группе, чем у здоровых добровольцев. В группе сравнения уровень адреналина незначительно снижился на 7 день (3,5%, p=0,4), 3 месяц (7,5%, p=0,01), 6 месяц (36,9%, p=0,000009) по сравнению с исходным уровнем, не снижаясь до значений у здоровых добровольцев. В этой же группе уровень норадреналина также незначительно изменялся на 7 день (повышение на 3,3%, p=0,17), 3 месяц (снижение на 10,7%, p=0,000002), 6 месяц (снижение на 22,8%, p=0,000005), не снижаясь до значений у здоровых добровольцев. В основной группе уровень адреналина значительно снижился на 41,9% (p=0,002) уже на 7 день лечения, а к концу курса (1 месяц) был сопоставим с показателями здоровых добровольцев (снижение на 71,6% от исходного, p=0,002). В этой же группе уровень норадреналина также снижился на 44,4% (p=0,006) уже на 7 день лечения, а к концу курса (1 месяц) был сопоставим с показателями здоровых добровольцев (снижение на 68,6% от исходного, p=0,006). Заключение. У пациенток со стрессовым недержанием мочи наблюдается выраженная гиперкатехоламинемия. Применение ТЭС-терапии эффективно снижает уровень адреналина и норадреналина в плазме у пациенток с данным заболеванием, что говорит о гомеостатическом стресс-лимитирующем влиянии лечебного метода.

Ключевые слова: ТЭС-терапия, стрессовое недержание мочи, адреналин, норадреналин, симпатoadrenalовая система.

TES-THERAPY FOR THE CORRECTION OF NEUROIMMUNOENDOCRINE IMBALANCE IN STRESS URINARY INCONTINENCE

Kade A. Kh., Kazanchi D. N., Tsymbalov O. V., Zanina E. S.

Kuban state medical university, Krasnodar, Russia

SUMMARY

Stress urinary incontinence in women is an important clinical problem. The search for new non-pharmacological methods of treatment is required. These methods should be homeostatic and have an anti-stressor effect, since probably the most dangerous consequences of urinary incontinence are chronic psychoemotional stress, anxiety and depression (which, according to the feedback principle, aggravate stress urinary incontinence and/or urgent urinary incontinence). The key pathogenetic link of stress is an increase in plasma concentration of catecholamines. Objective: to study the effect of transcranial electrostimulation (TES-therapy) on the plasma concentration of catecholamines

in female patients with stress urinary incontinence. Methods. Forty female patients with stress urinary incontinence and 20 healthy volunteers took part in the study. Patients in the main group (n=10) received therapy according to the modern guidelines and TES-therapy for 1 session a day for 30 days. Patients in the comparison group (n=30) received therapy according to modern recommendations without TES therapy. Plasma concentrations of adrenaline and norepinephrine were measured in both groups in the dynamics. Results. Baseline adrenaline levels were 2,7 times (p=0,000000003) higher in the comparison group and 3,6 times (p=0,00001) higher in the main group than in healthy volunteers. Baseline norepinephrine levels were 2,4 times higher (p=0,000000003) in the comparison group and 3,6 times higher (p=0,00001) in the main group than in healthy volunteers. In the comparison group, adrenaline levels decreased slightly on day 7 (3,5%, p=0,4), month 3 (7,5%, p=0,01), and month 6 (36,9%, p=0,000009) from baseline, without decreasing to values in healthy volunteers. In the same group, norepinephrine levels also changed slightly at day 7 (increase of 3,3%, p=0,17), month 3 (decrease of 10,7%, p=0,000002), month 6 (decrease of 22,8%, p=0,000005), not decreasing to values in healthy volunteers. In the main group, adrenaline levels significantly decreased by 41,9% (p=0,002) as early as day 7 of treatment, and by the end of the course (1 month) were comparable to healthy volunteers (71,6% reduction from baseline, p=0,002). In the same group, norepinephrine levels also decreased by 44,4% (p=0,006) as early as day 7 of treatment, and by the end of the course (1 month) was comparable to healthy volunteers (decrease of 68,6% from baseline, p=0,006). Conclusion. Patients with stress urinary incontinence have pronounced hypercatecholaminemia. Application of TES therapy effectively reduces the level of adrenaline and noradrenaline in the plasma in patients with this disease, indicating a homeostatic stress-limiting effect of the therapeutic method.

Key words: TES-therapy, stress urinary incontinence, adrenaline, noradrenaline, sympathetic nervous system.

Стрессовое недержание мочи у женщин представляет собой актуальную клиническую проблему, связанную с увеличением числа больных, сложностью выбора оптимальной тактики лечения, затрагивающую две смежные дисциплины - гинекологию и урологию [1; 2; 3]. Недержание мочи отрицательно сказывается на качестве жизни пациенток [1-3]. Лечение стрессового недержания мочи у женщин продолжает оставаться во многом еще не решенной задачей.

Недержание мочи сопряжено с хроническим психоэмоциональным стрессом, тревогой и депрессией [4; 5]. Хроническая гиперактивация стресс-реализующих систем - симпатoadrenalовой и гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой имеет многочисленные негативные эффекты в отношении нервной, иммунной, сердечно-сосудистой, желудочно-кишечной, эндокринной, мочевыделительной прочих систем [6-8]. Поэтому коррекция стресса и его последствий должна быть важным компонентом лечения недержания мочи.

Транскраниальная электростимуляция (ТЭС-терапия) обладает стресс-лимитирующим эффектом, который был изучен во многих экспериментальных и клинических работах [9]. Эффект ТЭС-терапии носит гомеостатический характер и обусловлен активацией эндорфинергической, дофаминергической, серотонинергической защитных систем мозга. Такое влияние ТЭС-терапии на нейроиммуноэндокринную регуляцию позволяет предположить возможность включения метода в схемы лечения пациенток со стрессовым недержанием мочи.

Цель исследования - изучение влияния ТЭС-терапии на плазменную концентрацию катехола-

минов у пациенток со стрессовым недержанием мочи.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследование проведено на базе ГБУЗ ГП №12 Минздрава Краснодарского края и кафедры общей и клинической патофизиологии ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России в период 01.09.2018 г. – 31.10.2021 г.

В исследование включены 40 пациенток со стрессовым недержанием мочи, которые были разделены на две группы - сравнения и основную. Пациентки основной группы (n=10) получали ТЭС-терапию в комбинации со стандартным лечением согласно современным рекомендациям [10]. Пациентки группы сравнения (n=30) получали только стандартное лечение. Здоровые добровольцы (n=20) не подвергались терапевтическим вмешательствам. ТЭС-терапия проводилась модифицированным двухпрограммным электростимулятором «ТРАНСА-ИР-03» (Санкт-Петербург, Россия). Расположение накожных электродов - фронто-мастоидальное. Проводилось 2 сеанса в сутки каждый день в течение 30 дней. Время первого сеанса - 15 минут, всех последующих - 45 минут. Частота модуляции составляла 77 Гц, длительность импульса - $3,75 \pm 0,25$ мс, величина суммарного тока - 3 мА. Пациенткам основной группы проводилось измерение плазменной концентрации адреналина и норадреналина перед началом терапии, на 7 день терапии и после завершения ТЭС-терапии (30 день).

Пациенткам группы сравнения проводилось измерение плазменной концентрации адреналина и норадреналина до начала лечения, на 7

день лечения, на 30 и 90 день наблюдения. У здоровых добровольцев уровень катехоламинов в плазме оценивался однократно. Измерение концентрации адреналина и норадреналина проводилось методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Все пациентки и здоровые добровольцы дали информированное согласие. Исследование одобрено Независимым этическим комитетом при ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России (протокол №66 от 28.09.2018 г.).

Статистический анализ проводился в R Foundation for Statistical Computing (Vienna, Austria, версия 3.5.2). Проверка на нормальность распределения не проводилась. Данные представлены в виде Ме (Q1-Q3), где Ме - медиана, Q1-Q3 - нижний и верхний квартили. Сравнение показателей зависимых групп проводилось с использованием критерия Вилкоксона, независимых - с использованием критерия Манна-Уитни.

Дихотомизация р-значений на «статистически значимые» и «незначимые» не проводилась [11].

РЕЗУЛЬТАТЫ

Уровень адреналина в группе сравнения до лечения был выше в 2,7 раз, чем у здоровых добровольцев ($p=0,000000003$). Уровень норадреналина в группе сравнения до лечения был выше в 2,4 раз, чем у здоровых добровольцев ($p=0,000000003$).

Уровень адреналина в основной группе до лечения был выше в 3,6 раза, чем у здоровых добровольцев ($p=0,00001$). Уровень норадреналина в основной группе до лечения был выше в 3,6 раза, чем у здоровых добровольцев ($p=0,00001$).

Уровень адреналина в группе сравнения до лечения был ниже на 24,9%, чем в основной группе ($p=0,00008$). Уровень норадреналина в группе сравнения до лечения был ниже на 33,2%, чем в основной группе ($p=0,000003$).

Таблица 1

Исходная плазменная концентрация катехоламинов у пациенток групп сравнения и основной (до лечения) и у здоровых добровольцев

Параметр	Группы пациенток		Здоровые добровольцы
	Основная	Сравнения	
Плазменная концентрация адреналина, пг/мл	739,8 (696,5- 793,1)*, **	555,2 (471,2-635,4)***	204,5 (195,6-215,6)
Плазменная концентрация норадреналина, пг/мл	22,3 (21,5-23,6)#, ##	14,9 (13,5-16,3)###	6,25 (5,6-6,8)

Примечание: * - $p=0,00001$ (по сравнению со здоровыми добровольцами), ** - $p=0,00008$ (по сравнению с группой сравнения), *** - $p=0,000000003$ (по сравнению со здоровыми добровольцами), # - $p=0,00001$ (по сравнению со здоровыми добровольцами), ## - $p=0,000003$ (по сравнению с группой сравнения), ### - $p=0,000000003$ (по сравнению со здоровыми добровольцами).

В группе сравнения уровень адреналина почти не отличался от исходного на 7 день стандартного лечения (снижение на 3,5%, $p=0,4$). Аналогичная картина наблюдалась на 3 месяц наблюдения (снижение на 7,5% по сравнению с исходным, $p=0,01$). Лишь на 6 месяц наблюдения уровень адреналина снижался на 36,9% по сравнению с исходным ($p=0,000009$).

Динамика снижения норадреналина в данной группе была еще менее заметной (таблица 2). На 7 день его концентрация была даже выше на 3,3%, чем исходная ($p=0,17$). На 3 и 6 месяцы снижение по сравнению с исходным составило 10,7% ($p=0,000002$) и 22,8% ($p=0,000005$) соответственно.

Таблица 2

Динамика показателей плазменной концентрации катехоламинов у пациенток группы сравнения

Параметр	До лечения	7 день	3 месяц	6 месяц
Плазменная концентрация адреналина, пг/мл	555,2 (471,2 - 635,4)	535,5 (457,2 - 632,2)*	513,6 (474,9 - 533,3)**	350 (342,0 - 456,1)***
Плазменная концентрация норадреналина, пг/мл	14,9 (13,5-16,3)	15,4 (13,5-16,3)#	13,3 (12,4-13,9)##	11,5 (10,5-12,4)###

Примечание: по сравнению с уровнем до лечения * - $p=0,4$, ** - $p=0,01$, *** - $p=0,000009$, # - $p=0,17$, ## - $p=0,000002$, ### - $p=0,000005$.

Уровень адреналина и норадреналина к концу периода наблюдения (6 месяц) у пациенток группы сравнения не достигал значений, сопоставимых с показателями здоровых добровольцев (таблица 3). Концентрация адреналина была выше на 71% ($p=0,00000008$), норадреналина - на 84% ($p=0,000000003$).

В группе ТЭС-терапии, напротив, снижение концентрации адреналина на 7 день лечения было выраженным (таблица 4) и составило 41,9% по сравнению с исходным уровнем ($p=0,002$). Как показано в таблице 4, к концу курса лечения (1 месяц) концентрация адреналина снижалась еще

больше (на 71,6% по сравнению с исходным ($p=0,002$)) и, как показано в таблице 5, была сопоставима с показателем у здоровых добровольцев ($p=0,15$).

В основной группе снижение концентрации норадреналина на 7 день лечения (таблица 4) составило 44,4% по сравнению с исходным уровнем ($p=0,006$). Как показано в таблице 4, к концу курса лечения (1 месяц) концентрация норадреналина снижалась еще сильнее (на 68,6% по сравнению с исходным ($p=0,006$)) и, как показано в таблице 5, была сопоставима с показателем у здоровых добровольцев ($p=0,13$).

Таблица 3

Уровень катехоламинов у пациенток группы сравнения к концу периода наблюдения и у здоровых добровольцев

Параметр	Группа сравнения, 6 месяц наблюдения	Здоровые добровольцы	p-значение
Плазменная концентрация адреналина, пг/мл	350 (342,0 - 456,1)	204,5 (195,6-215,6)	0,00000008
Плазменная концентрация норадреналина, пг/мл	11,5 (10,5-12,4)	6,25 (5,6-6,8)	0,000000003

Таблица 4

Динамика показателей плазменной концентрации катехоламинов у пациенток основной группы

Параметр	До лечения	7 день	1 месяц
Плазменная концентрация адреналина, пг/мл	739,8 (696,5- 793,1)	429,6 (402,9-479,0)*	209,6 (205,5-218,6)**
Плазменная концентрация норадреналина, пг/мл	22,3 (21,5-23,6)	12,4 (11,8-12,7)***	7,0 (6,7-7,1)#

Примечание: по сравнению с уровнем до лечения * - $p=0,002$, ** - $p=0,002$, *** - $p=0,006$, # - $p=0,006$

Таблица 5

Уровень катехоламинов у пациенток основной группы после курса ТЭС-терапии

Параметр	Основная группа, завершение курса ТЭС-терапии (1 месяц)	Здоровые добровольцы	p-значение
Плазменная концентрация адреналина, пг/мл	209,6 (205,5-218,6)	204,5 (195,6-215,6)	0,15
Плазменная концентрация норадреналина, пг/мл	7,0 (6,7-7,1)	6,25 (5,6-6,8)	0,13

Концентрация адреналина на 7 день в основной группе была ниже на 19,8% ($p=0,01$), чем в группе сравнения (таблица 6). Концентрация норадреналина на 7 день в основной группе была ниже на 19,5% ($p=0,001$), чем в группе сравнения (таблица 6).

ОБСУЖДЕНИЕ

У пациенток со стресс-ассоциированным недержанием мочи наблюдалась выраженная гиперкатехоламинемия, которая отражает активацию симпатoadреналовой системы. Концентрация адреналина и норадреналина в плазме пациентов до лечения многократно превыша-

Таблица 6

Сравнение плазменной концентрации катехоламинов у пациенток групп сравнения и основной на 7 день лечения

Параметр	Группы пациенток		Группы пациенток
	Основная	Сравнения	
Плазменная концентрация адреналина, пг/мл	429,6 (402,9-479,0)	535,5 (457,2 - 632,2)	0,01
Плазменная концентрация норадrenalина, пг/мл	12,4 (11,8-12,7)	15,4 (13,5-16,3)	0,001

ла нормальную. Такая гиперактивация стресс-реализующих систем негативно влияет на органы-мишени. В частности, она лежит в основе прогрессирования заболеваний сердечно-сосудистого континуума и смежных патологий. Среди них ведущие причины смерти во всем мире - артериальная гипертензия, ишемическая болезнь сердца, инсульт, сердечная недостаточность, сахарный диабет 2 типа, хроническая болезнь почек и другие [6-8]. Стрессовое недержание мочи и гиперактивность мочевого пузыря сопряжены с тревогой и депрессией [4; 5].

Коррекция данного нейроиммуноэндокринного дисбаланса должна сопровождать лечение стрессового недержания мочи. У пациенток, получавших стандартную терапию, уровень катехоламинов почти не изменялся к 7 дню лечения и несколько снижался через несколько месяцев. Однако даже через 6 месяцев наблюдения концентрация катехоламинов более чем в 1,5 раза превышала нормальную.

При применении ТЭС-терапии уровень катехоламинов снижался более чем на 40% уже к 7 дню лечения. По завершении курса ТЭС-терапии (1 месяц) концентрация катехоламинов была сопоставимой с показателем здоровых добровольцев. Эти результаты говорят о гомеостатическом благоприятном эффекте ТЭС-терапии. Нормализация уровня катехоламинов в плазме пациенток свидетельствует о влиянии на симпатoadrenalовую систему и о стресс-лимитирующем эффекте лечебного метода. Данный эффект обусловлен воздействием ТЭС-терапии на защитные системы мозга - эндорфинергическую, серотонинергическую, дофаминергическую.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Коррекция негативных последствий психоэмоционального стресса должна быть частью комплексного лечения стрессового недержания мочи. Применение ТЭС-терапии эффективно корректирует гиперактивацию симпатoadrenalовой системы у пациенток с данным заболеванием, что отражает стресс-лимитирующий эффект данно-

го лечебного метода. Необходимо дальнейшее изучение эффективности ТЭС-терапии в данном контексте, в частности, оценка воздействия лечебного метода на гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковую ось и клинические параметры.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

ЛИТЕРАТУРА

1. Abrams P., Andersson K. E., Apostolidis A., Birder L., Bliss D., Brubaker L. et al. 6th International Consultation on Incontinence. Recommendations of the International Scientific Committee: evaluation and treatment of urinary incontinence, pelvic organ prolapse and faecal incontinence. *Neurourol Urodyn.* 2018;37(7):2271-2272. doi: 10.1002/nau.23551
2. Vaughan C. P., Markland A. D. Urinary Incontinence in Women. *Ann Intern Med.* 2020;172(3):ITC17-ITC32. doi:10.7326/AITC202002040
3. Aoki Y., Brown H. W., Brubaker L., Cornu J. N., Daly J. O., Cartwright R. Urinary incontinence in women. *Nat Rev Dis Primers.* 2017;3:17097. doi: 10.1038/nrdp.2017.97
4. Felde G., Ebbesen M. H., Hunskaar S. Anxiety and depression associated with urinary incontinence. A 10-year follow-up study from the Norwegian HUNT study (EPINCONT). *Neurourol Urodyn.* 2017;36(2):322-328. doi: 10.1002/nau.22921
5. Felde G., Engeland A., Hunskaar S. Urinary incontinence associated with anxiety and depression: the impact of psychotropic drugs in a cross-sectional study from the Norwegian HUNT study. *BMC Psychiatry.* 2020;20(1):521. doi: 10.1186/s12888-020-02922-4
6. Vogelzangs N., Beekman A. T., Milaneschi Y., Bandinelli S., Ferrucci L., Penninx B. W. Urinary cortisol and six-year risk of all-cause and cardiovascular mortality. *J Clin Endocrinol Metab.* 2010;95(11):4959-64. doi: 10.1210/jc.2010-0192

7. Fioranelli M., Bottaccioli A. G., Bottaccioli F., Bianchi M., Rovesti M., Roccia M. G. Stress and Inflammation in Coronary Artery Disease: A Review Psychoneuroendocrineimmunology-Based. *Front Immunol.* 2018;9:2031. doi: 10.3389/fimmu.2018.02031
8. Kupper N., Denollet J. Type D Personality as a Risk Factor in Coronary Heart Disease: a Review of Current Evidence. *Curr Cardiol Rep.* 2018 Sep;20(11):104. doi: 10.1007/s11886-018-1048-x
9. Каде А. Х., Ахеджак-Нагузе С. К. Изменение стрессоустойчивости у студентов при применении транскраниальной электростимуляции. *Кубанский научный медицинский вестник.* 2018;25(2):78-81. doi: 10.25207/1608-6228-2018-25-2-78-81
10. EAU Guidelines on Urinary Incontinence in Adults Available at: <https://uroweb.org/guideline/urinary-incontinence/>
11. Pike H. Statistical significance should be abandoned, say scientists. *BMJ.* 2019;364:11374. doi: 10.1136/bmj.11374

REFERENCE

1. Abrams P., Andersson K. E., Apostolidis A., Birder L., Bliss D., Brubaker L. et al. 6th International Consultation on Incontinence. Recommendations of the International Scientific Committee: evaluation and treatment of urinary incontinence, pelvic organ prolapse and faecal incontinence. *Neurourol Urodyn.* 2018;37(7):2271-2272. doi: 10.1002/nau.23551
2. Vaughan C. P., Markland A. D. Urinary Incontinence in Women. *Ann Intern Med.* 2020;172(3):ITC17-ITC32. doi: 10.7326/AITC202002040
3. Aoki Y., Brown H. W., Brubaker L., Cornu J. N., Daly J. O., Cartwright R. Urinary incontinence in women. *Nat Rev Dis Primers.* 2017;3:17097. doi: 10.1038/nrdp.2017.97
4. Felde G., Ebbesen M. H., Hunskaar S. Anxiety and depression associated with urinary incontinence. A 10-year follow-up study from the Norwegian HUNT study (EPINCONT). *Neurourol Urodyn.* 2017;36(2):322-328. doi: 10.1002/nau.22921
5. Felde G., Engeland A., Hunskaar S. Urinary incontinence associated with anxiety and depression: the impact of psychotropic drugs in a cross-sectional study from the Norwegian HUNT study. *BMC Psychiatry.* 2020;20(1):521. doi: 10.1186/s12888-020-02922-4
6. Vogelzangs N., Beekman A. T., Milaneschi Y., Bandinelli S., Ferrucci L., Penninx B. W. Urinary cortisol and six-year risk of all-cause and cardiovascular mortality. *J Clin Endocrinol Metab.* 2010;95(11):4959-64. doi: 10.1210/jc.2010-0192
7. Fioranelli M., Bottaccioli A. G., Bottaccioli F., Bianchi M., Rovesti M., Roccia M. G. Stress and Inflammation in Coronary Artery Disease: A Review Psychoneuroendocrineimmunology-Based. *Front Immunol.* 2018;9:2031. doi: 10.3389/fimmu.2018.02031
8. Kupper N., Denollet J. Type D Personality as a Risk Factor in Coronary Heart Disease: a Review of Current Evidence. *Curr Cardiol Rep.* 2018 Sep;20(11):104. doi: 10.1007/s11886-018-1048-x
9. Каде А. К., Ахеджак-Нагузе С. К. The change in stress resistance of the students when applying transcranial electrostimulation. *Kuban Scientific Medical Bulletin.* 2018;25(2):78-81. (In Russ.) doi: 10.25207/1608-6228-2018-25-2-78-81
10. EAU Guidelines on Urinary Incontinence in Adults Available at: <https://uroweb.org/guideline/urinary-incontinence/>
11. Pike H. Statistical significance should be abandoned, say scientists. *BMJ.* 2019;364:11374. doi: 10.1136/bmj.11374

УДК 616-03

DOI: 10.29039/2224-6444-2021-11-4-17-26

СИЛОХРОМ С-120 И ЕГО ПРОИЗВОДНЫЕ КАК ВОЗМОЖНЫЕ КОНТАКТНЫЕ АКТИВАТОРЫ КЛЕТОК КРОВИ ДЛЯ МАЛООБЪЕМНОЙ ГЕМОПЕРФУЗИИ

Киричук О. П.^{1,2}, Юрьев Г. О.³, Буркова Н. В.¹, Постнов В. Н.^{1,3}, Романчук Е. В.², Свиридов Э. Е.¹, Киселева А. В.¹, Литвиненко Е. В.¹, Романова О. Б.¹, Кузнецов С. И.¹

¹ФГБУ Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова Минздрава России, 197341, ул. Аккуратова 2, Санкт-Петербург, Россия

²ФГАОУ ВО Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, 195251, ул. Политехническая 29, Санкт-Петербург, Россия

³ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный университет, институт химии, 198504, Петергоф, Университетский проспект 26, Санкт-Петербург, Россия

Для корреспонденции: Буркова Наталья Владимировна, доктор биологических наук, доцент, заведующий кафедрой физиологии, «Национальный медицинский исследовательский центр им. В. А. Алмазова» Минздрава России, e-mail: n.burk@list.ru.

For correspondence: Natalia V. Burkova, MD, Head of the Department of Physiology, “V.A. Almazov National Medical Research Center”, e-mail: n.burk@list.ru.

Information about authors:

Kirichuk O. P., <https://orcid.org/0000-0003-0933-9505>

Yuryev G. O., <https://orcid.org/0000-0003-3330-6324>

Burkova N. V., <https://orcid.org/0000-0002-0197-1146>

Postnov V. N., <https://orcid.org/0000-0001-6094-36607>

Romanchuk E. V., <https://orcid.org/0000-0002-8561-8736>

Sviridov E. E., <https://orcid.org/0000-0001-8962-2073>

Kiseleva A. V., <https://orcid.org/0000-0003-4874-4503>

Litvinenko E. V., <https://orcid.org/0000-0003-3464-0930>

Romanova O. B., <https://orcid.org/0000-0001-6803-4563>

Kuznetsov S. I., <http://orcid.org/0000-0002-8740-6956>

РЕЗЮМЕ

Продолжается поиск новых гемоконтактных препаратов, обладающих гемосовместимостью и выраженным активационным воздействием на клеточные и гуморальные системы крови для возможного их использования в клинической практике при проведении малообъемной гемоперфузии (МОГ). Целью работы являлась оценка способности пяти гранулированных гемосорбентов разной химической структуры активировать клетки крови по скорости их адгезии к поверхности гранул, контактирующих с кровью *in vitro*.

Гемоконтактное взаимодействие проводили в стендовых условиях с использованием донорской крови в ротационном режиме. Пробы крови брали до начала эксперимента и через 5, 20, 40 и 60 минут. Выполнено по 10 экспериментов с каждым из 5 исследуемых сорбентов. Оценивали изменения в клеточных и субклеточных популяциях крови с помощью гематологического анализатора SySmex ХТ 1800i (26 параметров), что давало возможность косвенно судить об активации клеток крови.

Результаты исследования доказали, что показатели скорости адгезии могут быть индикаторами активации клеток крови при контакте с чужеродными поверхностями и служить критерием оценки активационных возможностей этих поверхностей при использовании метода МОГ. Карбосилохромфуллерен С60 (КСХФ) может быть рекомендован для дальнейших исследований при создании гемоконтактных препаратов, используемых в клинике.

Ключевые слова: малообъемная гемоперфузия, адгезия, контактная активация клеток крови, клеточные популяции крови, тромбоциты, лейкоциты.

SILOCHROME C-120 AND ITS DERIVATIVES AS POSSIBLE CONTACT ACTIVATORS OF BLOOD CELLS FOR LOW-VOLUME HEMOPERFUSION

Kirichuk O. P.^{1,2}, Yuryev G. O.³, Burkova N. V.¹, Postnov V. N.^{1,3}, Romanchuk E. V.², Sviridov E. E.¹, Kiseleva A. V.¹, Litvinenko E. V.¹, Romanova O. B.¹, Kuznetsov S. I.¹

¹Almazov National Medical Research Centre, St. Petersburg, Russia

²Peter the Great Saint Petersburg Polytechnic University, St. Petersburg, Russia

³St. Petersburg State University, Institute of Chemistry, St. Petersburg, Russia

SUMMARY

The search continues for new hemocontact drugs with hemocompatibility and a pronounced activation effect on the cellular and humoral blood systems for their possible use in clinical practice during low-volume hemoperfusion (LVH). The aim of work was to assess the ability of 5 granular hemosorbents of different chemical structure to activate

blood cells by the rate of their adhesion to the surface of granules in contact with blood *in vitro*.

Blood-contact interaction was carried out in bench conditions with the use of donated blood in rotary mode. Blood samples were taken before the experiment and after 5, 20, 40 and 60 min. 10 experiments were performed with each of the 5 studied sorbents. Changes in blood cell and subcellular populations were evaluated using the Sysmex XT 1800i hematological analyzer (26 parameters), which made it possible to indirectly judge the activation of blood cells.

The results of the study proved that the adhesion rate indicators can be indicators of the activation of blood cells upon contact with foreign surfaces and serve as a criterion for assessing the activation capabilities of these surfaces when using the LVH method. Carbosylochromfullerene C60 can be recommended for further research in the creation of blood-contact drugs used in the clinic.

Key words: low-volume hemoperfusion, adhesion, contact activation of blood, hemosorbent, blood cell populations, platelets, leukocyte.

Разработана новая медицинская технология – малообъемная гемоперфузия (МОГ), основанная на принципе контактной твердофазной гемомодуляции, которая дала выраженный положительный эффект при включении ее в стандартные схемы лечения ряда тяжелых заболеваний конечностей [1]. Ключевым фактором, играющим решающую роль в достижении существенного лечебного эффекта при использовании МОГ, является гемоконтактный препарат (сорбент), обеспечивающий активацию клеток крови, в результате которой значительно меняется постконтактный спектр биологически активных соединений в крови, что оптимизирует процессы саногенеза в пораженных тканях. В работах, проведенных ранее, были исследованы гемоконтактные препараты по критериям гемосовместимости и активационных возможностей. Получены данные, что сорбент Силохром С-120 обладает выраженными активационными свойствами для тромбоцитов и лейкоцитов, являющихся основными продуцентами биоактивных структур в крови, но проявляет выраженную гемолитическую активность для эритроцитов [2; 3]. Возникла необходимость в проведении химической модификации поверхности Силохрома С-120. При этом необходимо сохранить активационный потенциал модифицированных гемоконтактных препаратов, значительно уменьшив их гемолитические свойства [4]. Данная работа посвящена исследованию и сравнению активационных свойств Силохрома С-120 и его производных.

Целью исследования явилась оценка активационных способностей гемосорбента Силохром С-120 и его модифицированных производных в процессе их динамического контакта с венозной кровью человека *in vitro*.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В стендовых условиях оценивали и сравнивали активационный потенциал Силохрома С-120 и четырех модификаций этого препарата для прилипающих клеток крови. В эксперименте использовали венозную кровь здоровых доноров, которую забирали из локтевой вены в вакуумную пробирку с гепарином лития в объеме

9,0 мл. Кровь получали на станции переливания крови ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России.

Заключение этического комитета ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» МЗ РФ (протокол №154 от 10.10.16г.: «Одобрить проведение исследований по протоколу проекта «Апробация сверхсшитого полистирола (марки MN) и силикагелей (Силохрома С-120 и КСК-2) в качестве гемоконтактных препаратов в стендовых условиях на базе Центра».

В работе были исследованы пять сорбентов (Силохром С-120 и четыре его модификации).

1. Силохром С-120 – гранулы белого цвета неправильной формы размером 0,3-0,5 мм. Удельная поверхность образца, определенная по низкотемпературной адсорбции азота методом ВЕТ составила 154 м²/г, размер пор, определенный методом ВЖН – 32 нм.

2. Аминированный Силохром С-120 с сорбированным трисмалонилфуллереном С60 (ТМФС) – гранулы того же размера с удельной поверхностью 140 м²/г и размером пор 32 нм. Аминирование Силохрома С-120 проводили жидкофазным методом, предварительно удалив физически связанную воду с поверхности кремнезема. Синтез композита аминированного аэросилогеля с трисмалонилфуллереном С60 осуществляли следующим образом: в насыщенный раствор (10 мл) трисмалонилфуллерена С60 помещали навеску (100 мг) аминированного аэросилогеля и проводили сорбцию в течение 8 часов при температуре 20оС и интенсивном перемешивании на шейкере. В результате процесса сорбции основные характеристики сорбента изменились незначительно, сохранилась глобулярная структура и высокая удельная поверхность.

3. Минерально-углеродный сорбент (Карбосилохром) – гранулы того же размера с удельной поверхностью 104 м²/г и величиной предельного сорбционного объема 0,65 см³/г. Синтез проводился в реакторе проточного типа в режиме кипящего слоя, путем пиролиза пропаргилового спирта в токе азота, очищенного от кислорода, на кремнеземных матрицах при

температуре 800°C. Содержание углерода, определенное методом Прегля, составило 9 % масс.

4. Минерально-углеродный сорбент с сорбированным фуллереном С60 (Карбосилохром + Фуллерен, КСХФ). Удельная поверхность гранул – 96 м²/г, величина предельного сорбционного объема – 0,60 см³/г, диаметр пор – 24 нм. Навеску исходного сорбента (Карбосилохром), предварительно высушенную при 200°C помещали в раствор фуллерена С60 в о-ксилоле концентрации 1 г/л. Данную суспензию сорбента и раствора фуллерена С60 встряхивали на шейкере в течение 5 часов. Содержание фуллерена С60 в образце после сорбции составило 4 мг/г.

5. Амнированный силохром с ковалентно пришитым трисмалонилфуллереном С60 (ТМФС-К) – гранулы размером 0,3-0,5 мм с удельной поверхностью 140 м²/г и размером пор 32 нм. Для получения данного сорбента использовались амнированный аэросилогель, трисмалонилфуллерен С60 и водорстворимый карбодиимид (N-(3-диметиламинопропил)-N-этилкарбодиимид). Синтез проводили следующим образом: в раствор трисмалонилфуллерена С60 (10 мл) помещали навеску (100 мг) амнированного аэросилогеля и 2 мл карбодиимида, затем полученную смесь перемешивали на шейкере в течение 8 часов при температуре 20°C.

При проведении гемоконтактной процедуры было выполнено 50 экспериментов (по 10 с каждым из исследуемых сорбентов).

Гемоконтактные колонки для стендовых экспериментов готовили из одноразовых шприцов объемом 20 мл. В них загружали указанные выше сорбенты в объеме 1,8-2,0 мл, хранящиеся в 20% растворе этанола. Перед началом опытов колонки трижды промывали 10-кратным объемом стерильного физиологического раствора и еще три раза 10-кратным объемом того же раствора с гепарином (20 ед./мл). После промывки в шприц-колонку забирали гепаринизированную донорскую кровь из вакуумной пробирки из расчета сорбент: кровь (1:4). Предварительно из этой же пробирки отбирали пробу крови «до контакта». Колонки с кровью помещали в горизонтальном положении на роторную мешалку. Эксперименты проводились в течение 60 мин при комнатной температуре в постоянном ротационном режиме. Для проведения исследований пробы крови забирали из колонки через 5, 20, 40 и 60 мин после начала контакта в объеме 1,8 – 2,0 мл в пробирки с ЭДТА. Во всех пробах регистрировали показатели крови (26 параметров) с использованием гематологического анализатора Sysmex XT 1800i (Япония). На основании полученных данных по изменениям в популяциях

и субпопуляциях клеток крови составляли и графически изображали скоростно-временные адгезивные профили (СВАП) для каждого из сорбентов, а также оценивали их активационные возможности по скорости адгезии прилипающих клеток крови в различные временные интервалы [5]. После окончания эксперимента цельную кровь центрифугировали в течение 10 минут при скорости 3000 об/мин на лабораторной центрифуге Thermo Scientific SL 16 и отделяли плазму крови от форменных элементов. Плазму крови замораживали и хранили до проведения необходимых исследований.

Статистический анализ полученных результатов проводили с использованием прикладных пакетов Statistica 7.0 for Windows и Excel 2013. Статистически значимые изменения показателей внутри групп оценивали с помощью t критерия Стьюдента для попарно связанных выборок и критерия Вилкоксона для парных сравнений, статистически значимые различия показателей между группами – с помощью t критерия Стьюдента для независимых выборок и U-критерия Манн-Уитни. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

При взаимодействии крови с твердофазными поверхностями происходит прилипание части клеток, которые обладают выраженным адгезивным аппаратом. К таким клеткам прежде всего относятся тромбоциты и лейкоциты. Чтобы количественно выразить степень взаимодействия прилипающих клеток крови с сорбентами, был предложен способ построения СВАП для любого твердофазного материала, контактирующего с кровью, а также способ расчета скорости адгезии клеток к гемоконтактным препаратам в любой промежуток времени контакта. Скорость адгезии клеток крови может быть как положительной, когда количество клеток, прилипающих к сорбенту, превышает количество клеточных элементов, переходящих обратно в жидкую фазу крови, так и отрицательной, если процесс десорбции клеток преобладает над их фиксацией. По СВАП и скорости адгезии клеток можно косвенно судить о степени активации клеток на данном гемоконтактном препарате и предполагать об интенсивности поступления в кровь биологически активных молекул, которые будут влиять на процессы саногенеза в очаге повреждения. Это позволит выбрать один из исследованных препаратов, обладающий наиболее выраженным эффектом при лечении заболеваний методом МОГ [5].

На рисунке 1 представлены результаты исследований СВАП гемоконтактных препаратов Си-

лохрома С-120 и его четырех химически модифицированных производных, построенных для тромбоцитов крови человека. Профиль ТМФС-К отличается от общей картины СВАП и характеризуется существенным снижением показателя адгезии тромбоцитов в интервале «0 – 5 мин» по сравнению с другими препаратами, а также появлением второй реперной точки «20 мин», когда процессы адгезии тромбоцитов на сорбенте еще преобладают над процессами их перехода в жидкую фазу. Другие исследованные сорбенты имеют идентичные СВАП – максимум адгезии клеток в пробах «5 мин» с последующим периодом развития десорбции до конца эксперимента, то есть превалирует уход клеток с препаратов в жидкую фазу крови.

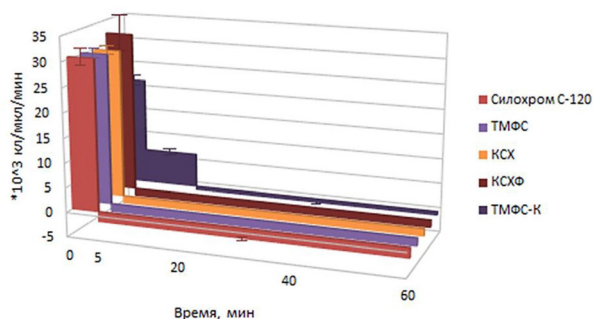


Рис.1

Проводили сравнение препаратов по скорости адгезии клеток в разные временные интервалы контакта, т.е. по их способности активировать тромбоциты. Было отмечено, что активационный потенциал всех сорбентов (за исключением ТМФС-К) реализуется в первые «5 мин» контакта. Наибольшие показатели скорости адгезии тромбоцитов зафиксированы на КСХФ – $32,4 \pm 2,82 \times 10^3$ кл/мкл/мин. Показатели скорости адгезии на других 3 препаратах схожи: Силохром С-120 – $30,6 \pm 1,62 \times 10^3$ кл/мкл/мин; КСХ – $29,9 \pm 1,62 \times 10^3$ кл/мкл/мин; ТМФС – $30,3 \pm 1,78 \times 10^3$ кл/мкл/мин. Отмечены различия показателей на сорбенте ТМФС-К – $21,7 \pm 1,47 \times 10^3$ кл/мкл/мин ($p < 0,05$). Максимальная скорость перехода тромбоцитов в жидкую фазу крови происходит на Силохроме С-120 и ее показатели существенно отличаются ($p < 0,05$) от показателей всех производных препаратов. Фиксированный на Силохроме С-120 углерод (КСХ) при контакте с кровью практически не меняет показатели скорости адгезии на нем тромбоцитов, но при этом на 30% снижается скорость десорбции клеток ($p < 0,05$). Введение в структуру препаратов трисмалонилфуллерена С60 сорбционным методом (препараты КСХФ и ТМФС) незначительно повышает скорость десорбции

тромбоцитов с этих препаратов. Ковалентная «пришивка» трисмалонилфуллерена С60 к матричному силикагелю (препарат ТМФС-К) при контакте с кровью вызывает существенное снижение как скорости адгезии, так и скорости десорбции клеток с сорбента и их возврат в жидкую фазу крови. Скорость десорбции тромбоцитов с ТМФС-К в 2,0 – 2,8 раза меньше по сравнению с другими препаратами. Таким образом, по скорости адгезии тромбоцитов все исследованные препараты можно расположить в следующем порядке: КСХФ ($32,4 \pm 2,82 \times 10^3$ кл/мкл/мин) > Силохром С-120 ($30,6 \pm 1,62 \times 10^3$ кл/мкл/мин) > ТМФС ($30,3 \pm 1,78 \times 10^3$ кл/мкл/мин) > КСХ ($29,9 \pm 1,62 \times 10^3$ кл/мкл/мин) > ТМФС-К ($21,7 \pm 1,47 \times 10^3$ кл/мкл/мин). При оценке скорости десорбции данный ряд сорбентов можно представить в следующем виде: Силохром С-120 ($-2,02 \pm 0,09 \times 10^3$ кл/мкл/мин) > ТМФС ($-1,59 \pm 0,11 \times 10^3$ кл/мкл/мин) > КСХФ ($-1,51 \pm 0,13 \times 10^3$ кл/мкл/мин) > КСХ ($-1,44 \pm 0,06 \times 10^3$ кл/мкл/мин) > ТМФС-К ($-0,71 \pm 0,07 \times 10^3$ кл/мкл/мин).

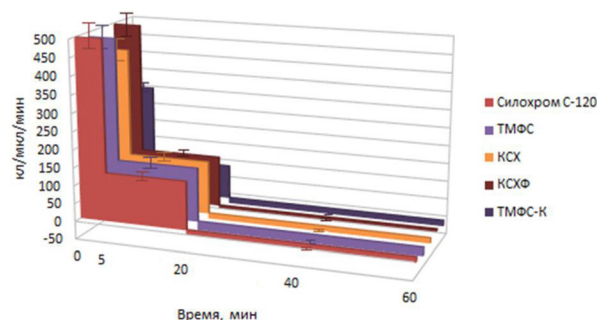


Рис.2

На рисунке 2 представлена реакция лейкоцитов крови на ее контактное взаимодействие со всеми исследованными препаратами. Максимальный адгезивный эффект развивается в первые «5 мин» контакта. При этом появляется вторая реперная точка – «20 мин». В период «0 – 20 мин» на всех сорбентах процесс адгезии/сорбции преобладает над процессом десорбции. Начиная с «20 мин» и до конца эксперимента скорость адгезии регистрируется в отрицательном диапазоне, т.е. идет переход лейкоцитов с поверхности сорбентов в жидкую фазу крови. Сравнивая скорости адгезии лейкоцитов во временной интервал «0–5 мин» (первая реперная точка), можно отметить, что эти показатели скорости не различаются у всех сорбентов, кроме ТМФС-К. Силохром С-120 с ковалентно связанным трисмалонилфуллереном С60 обладает гораздо менее выраженными показателями скорости адгезии, чем другие исследуемые препараты, которые по уменьшению скорости адгезии в этот

период контакта можно расположить в следующем порядке: Силохром С-120 ($501,0 \pm 44,41 \times 10^3$ кл/мкл/мин) > КСХФ ($497,5 \pm 24,43 \times 10^3$ кл/мкл/мин) > ТМФС ($487,6 \pm 39,20 \times 10^3$ кл/мкл/мин) > КСХ ($441,0 \pm 34,44 \times 10^3$ кл/мкл/мин) > ТМФС-К ($304,0 \pm 20,57 \times 10^3$ кл/мкл/мин). При этом скорость адгезии лейкоцитов на ТМФС-К ниже ($p < 0,05$), чем на других исследуемых препаратах. При рассмотрении показателей скорости адгезии в интервале «0 - 20 мин» (вторая реперная точка) можно отметить схожесть полученных результатов: Силохром С-120 – $134,4 \pm 10,50$ кл/мкл/мин; КСХ – $146,5 \pm 6,77$ кл/мкл/мин; КСХФ – $137,8 \pm 9,69$ кл/мкл/мин; ТМФС – $149,2 \pm 12,02$ кл/мкл/мин; ТМФС-К – $94,1 \pm 6,93$ кл/мкл/мин). Скорость адгезии лейкоцитов на ТМФС-К существенно ниже по сравнению с другими препаратами ($p < 0,05$). В период «20 – 60 мин» в большей степени происходит уход лейкоцитов с сорбентов. Скорости отрицательной адгезии (десорбции) на всех препаратах колеблются от $-6,1 \pm 2,15$ кл/мкл/мин (КСХФ) до $-22,9 \pm 3,22$ кл/мкл/мин (ТМФС). Можно отметить, что на трех сорбентах показатели скорости десорбции примерно одинаковы: Силохром С-120 – ($-13,4 \pm 3,92$ кл/мкл/мин); КСХ – ($-14,2 \pm 2,41$ кл/мкл/мин); ТМФС-К – ($-15,1 \pm 2,68$ кл/мкл/мин).

Анализ показателей адгезии лейкоцитарного пула показал, что наименьшей скоростью адгезии для общей популяции лейкоцитов обладает гемоконтактный препарат на основе Силохрома С-120 с ковалентно фиксированным на нем трисмалонилфуллереном С60. Фиксация модифицирующих агентов силикагеля методом сорбции мало изменяла активационные характеристики препаратов для клеток крови, что характерно как для тромбоцитов, так и для лейкоцитов.

Общую популяцию лейкоцитов условно делят на гранулоциты (нейтрофилы, базофилы, эозинофилы) и агранулоциты (лимфоциты и моноциты). Изучены СВАП и скорости адгезии клеток в разные временные интервалы контакта отдельно для каждой из субпопуляций.

На рисунке 3 представлены СВАП всех препаратов для гранулоцитов. Профили гранулоцитов идентичны профилям, характерным для общей популяции лейкоцитов, что вполне закономерно, так как основная масса лейкоцитов в их общей популяции представлена нейтрофильными лейкоцитами. Максимум адгезии клеток наблюдали в первые «5 мин» контакта, 2-я реперная точка – «20 мин» и отрицательный показатель адгезии соответствовал периоду «20 – 60 мин» для всех препаратов. Как и в общей популяции лейкоцитов, в субпопуляции гранулоцитов можно отметить снижение скорости адгезии

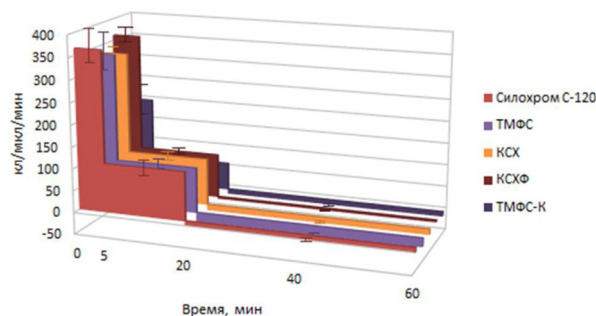


Рис.3

зии клеток на препарате ТМФС-К по сравнению со всеми другими сорбентами ($p < 0,05$). Этот показатель на данном препарате снижается в интервале контакта «0–20 мин» ($p < 0,05$). Во временном диапазоне «20 – 60 мин» регистрировали отрицательную адгезию (десорбцию) гранулоцитов. Как и в общей популяции лейкоцитов, для гранулоцитов наименьшая скорость десорбции характерна при контакте с КСХФ ($-4,1 \pm 1,39$ кл/мкл/мин). Если для общей популяции лейкоцитов различия на всех сорбентах схожи, то для гранулоцитов скорость адгезии на КСХФ значительно ниже ($p < 0,05$) по сравнению с КСХ ($-12,5 \pm 1,73$ кл/мкл/мин), ТМФС ($-18,7 \pm 2,36$ кл/мкл/мин) и ТМФС-К ($-10,3 \pm 1,35$ кл/мкл/мин). Между исходной матрицей (Силохром С-120) и другими ее производными существенных различий в скорости адгезии гранулоцитов не выявлено.

При анализе СВАП агранулоцитов для всех препаратов можно отметить сходную реакцию клеток на их контактное взаимодействие с кровью. Максимальный эффект наблюдали в период «0 – 5 мин». 2-я реперная точка для всех сорбентов (кроме КСХ) была «20 мин» и отрицательные показатели адгезии отмечены в период «20 – 60 мин» (за исключением КСХ). При этом необходимо выделить некоторые особенности. Во-первых, в показатели скорости адгезии агранулоцитов в первые «5 мин» контакта в 1,9 – 3,7 раза ниже, чем для гранулоцитов и общей

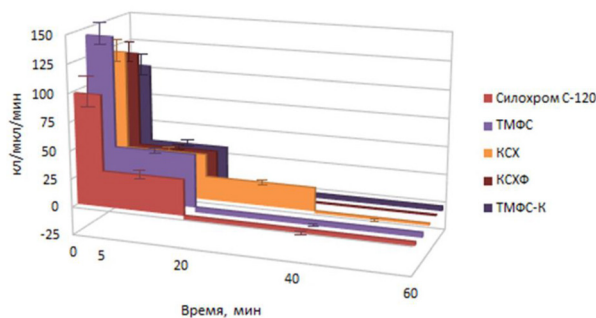


Рис.2

популяции лейкоцитов. Во-вторых, различия в скорости адгезии агранулоцитов на всех сорбентах менее выражены (Силохром С-120 – $98,6 \pm 11,05$ кл/мкл/мин; КСХ – $126,0 \pm 7,58$ кл/мкл/мин; КСХФ – $120,2 \pm 10,4$ кл/мкл/мин; ТМФС – $144,0 \pm 14,94$ кл/мкл/мин; ТМФС-К – $104,2 \pm 4,98$ кл/мкл/мин). Существенно различаются между собой показатели скорости адгезии только на сорбентах Силохром С-120 и ТМФС ($p < 0,05$). В-третьих, на препарате КСХ вторая реперная точка для агранулоцитов смещена в область «40 мин», т.е. до этого времени в гемоконтактной системе преобладали процессы адгезии клеток над процессами десорбции. Такого эффекта не было зафиксировано ни на одном из гемоконтактных сорбентов ни для какого типа клеток крови. В интервале контакта «0–20 мин» также отмечено снижение скорости адгезии агранулоцитов по сравнению с гранулоцитами (Силохром С-120 – $31,7 \pm 5,69$ кл/мкл/мин; КСХ – $40,5 \pm 4,17$ кл/мкл/мин; КСХФ – $37,0 \pm 2,50$ кл/мкл/мин; ТМФС – $46,9 \pm 4,28$ кл/мкл/мин; ТМФС-К – $34,5 \pm 2,82$ кл/мкл/мин). В этот промежуток времени существенных различий между показателями скорости адгезии агранулоцитов на всех исследованных сорбентах не выявлено. Показатели десорбции характерны в заключительный период контакта «20 – 60 мин» и для этой субпопуляции лейкоцитов, но они ниже, чем у гранулоцитов (Силохром С-120 – $-3,1 \pm 0,62$ кл/мкл/мин); КСХ – $(-1,8 \pm 0,81$ кл/мкл/мин); КСХФ – $(-1,1 \pm 0,52$ кл/мкл/мин); ТМФС – $(-4,3 \pm 0,68$ кл/мкл/мин); ТМФС-К – $(-4,1 \pm 0,70$ кл/мкл/мин).

ОБСУЖДЕНИЕ

Все исследованные производные Силохрома С-120 обладают схожими показателями скорости адгезии клеток к гранулам препаратов за исключением ТМФС-К. Скорость адгезии, по которой косвенно можно судить об активационных свойствах препаратов, на ТМФС-К существенно ниже. Такая реакция клеток характерна как для тромбоцитов, так и для лейкоцитов в целом, а также для их субпопуляций. Обращает на себя внимание тот факт, что модификация поверхности матричного сорбента методом сорбции различных компонентов практически не влияет на адгезивные характеристики модифицированных препаратов. Ковалентная фиксация трисмалонилфуллерена С60 к исходной матрице существенно снижает адгезивные свойства препарата для всех типов прилипающих клеток крови. Известно, что выраженность фиксации клеток крови на искусственных поверхностях зависит от их гидрофильности/гидрофобности [6], топографических характеристик поверхности (гладкие/

шероховатые) [7] и, вероятно, от химической структуры поверхности. Можно полагать, что адгезивные свойства для клеток крови на всех сорбентах (за исключением ТМФС-К) обеспечивает матричная структура силикагеля и его химические свойства. Модификация поверхности Силохрома С-120 сорбционным способом обеспечивает прочную фиксацию сорбируемых веществ, в основном внутри пор, размеры которых у данного препарата колеблются в районе 30 нм. В результате сорбционных процедур на всех модифицированных препаратах удельная поверхность образцов снижается, коррелируя с уменьшением размера пор. Прилипание клеток крови к гранулам препаратов не может обеспечить существенного контакта адгезивных структур клеточной мембраны с сорбированными веществами, так как, например, при распластывании тромбоцитов образующиеся фило- и ламеллоподии не способны проникнуть внутрь нанопор в силу своего размера. По некоторым данным размеры псевдоподий варьируют от 500 до 3000 нм в длину и от 50 до 300 нм в толщину, что гораздо больше диаметра пор всех исследованных препаратов [8]. Поэтому на всех препаратах (кроме ТМФС-К) основное взаимодействие клеточной мембраны происходит с однородными по химической природе функциональными группами и участками поверхности, что и обеспечивает практически одинаковые скорости адгезии клеток крови на исследованных сорбентах.

Несколько отличается по своим характеристикам препарат ТМФС-К. Аминирование Силохрома С-120 и последующая ковалентная фиксация трисмалонилфуллерена С60, очевидно, обеспечивает не только равномерное покрытие всей поверхности сорбента производным фуллерена С60, включая внутреннюю и внешнюю поверхность гранул, но и существенно меняет химическую природу поверхностного слоя. Следует отметить, что при ковалентной иммобилизации происходит жесткая фиксация молекул трисмалонилфуллерена С60, при этом возможно многоточечное связывание с поверхностью Силохрома, модифицированного 3-аминопропилсилильными группами. Можно предположить, что такая функционализация поверхности создает условия для контакта клеток не только с карбоксильными группами, но и с гидрофобным фуллереновым кором трисмалонилфуллерена С60. При такой модификации уменьшается удельная поверхность гранул ($с 154 \text{ м}^2/\text{г}$ до $140 \text{ м}^2/\text{г}$), но, по сравнению с матрицей, размер пор при этом не меняется. Контакт клеток крови с твердофазным фуллереном С60 приводит к статистически значимому снижению скорости адгезии всех прилипающих клеток и,

следовательно, к уменьшению активационного потенциала препарата. Механизмы влияния фуллеренов на биообъекты достаточно широко обсуждаются в научной литературе. Многие работы связаны с изучением биосовместимости и токсических эффектов. Токсичность фуллеренов не была четко установлена [9], так же, как и их асбестоподобный эффект [10]. С одной стороны показано, что фуллерен обладает крайне низкой общей токсичностью (от 1200 до 2500 мг/кг) [11], с другой – выявлен токсический эффект для ряда клеточных культур [12; 13] и эритроцитов человека и крысы [14]. Полагают, что фуллерены (в частности, фуллерен C60) обладают мембранотропными свойствами и реализуют свое действие через интегральные белки мембраны, хотя они (фуллерены) и не являются жесткими деструктивными агентами в клетке [15]. Работы, посвященные влиянию фуллеренов на клетки, проводят, в основном, с использованием водорастворимых структур или их водными дисперсиями. Наиболее часто встречающийся объект исследований – эритроциты. Было показано, что под воздействием гидратированных углеродных наночастиц происходят морфологические и функциональные изменения эритроцитов, что приводит к агрегации самих клеток [16]. Также установлено, что производные фуллерена C60 проявляют антиоксидантную, мембранотропную, иммунотропную, противовирусную, фотодинамическую активность и способны инактивировать ферменты [17].

При изучении влияния немодифицированного фуллерена C60 на функциональную активность лимфоцитов человека показано увеличение жесткости мембраны лимфоцитов, что подтверждалось уменьшением фазы набухания этих клеток на 4 мин и снижением относительного мембранного резерва в гипотонической среде в 1,4 раза, то есть по показателям осморегуляции. Данный эффект может иметь негативные последствия для нормальных клеток крови, так как ограничивает физиологические возможности лимфоцитов при развитии иммунологических реакций: миграции клеток, кооперативного взаимодействия, презентации антигена, развития фагоцитарных процессов и т.д. Однако, данный эффект может оказаться и позитивным при воздействии фуллеренов C60 на неопластические клетки, что будет существенно ограничивать их функциональную активность и развитие лимфо-пролиферативных процессов в целом [18]. Культивирование моноцитов крови человека *in vitro* на носителях из биополимера полигидроксиполаноата при введении в культуральную среду наоалмазов и фуллеренов не влияло на жизнеспособность клеток в краткосрочной культуре, но

приводило к изменению морфофункциональных характеристик моноцитов. Существенно менялось соотношение морфологических классов моноцитов в присутствии наночастиц. Оно зависело от класса вводимых частиц, их концентрации и наличия белковой «короны» на частицах. Так, фуллерен в концентрации 25 мг/мл вызывал появление нового морфологического класса клеток – адгезированных плоских клеток с гладкими краями, к которому относилось 80% клеток популяции. Присутствие белковой короны на фуллерене нивелировало данный класс клеток до нуля и стал доминировать класс сферических клеток с микроворсинками [19]. Также было изучено влияние фуллерена C60 на функциональную активность клеток крови, обладающих фагоцитарными свойствами. Взаимодействие фуллерена C60 в дозах 0,01 и 0,1 мкМ/л оказывало, в основном, негативное влияние на активность клеток. Наряду с угнетением ряда функций (активности миелопероксидазы, уровня индуцированной хемилюминесценции) выявлено подавление экспрессии молекул CD54, отвечающих за адгезию клеток. Молекула CD54 (ICAM-1) является лигандом интегринового рецептора FLA-1. Взаимодействие этих молекул обеспечивает клеточно-клеточные связи. Таким образом, проникновение фуллерена C60 в клетку воздействует на различные механизмы реализации функции фагоцитов, снижая в том числе и адгезивные свойства клеток. Может ли аналогичным действием обладать молекула фуллерена C60, фиксированная на твердофазной подложке? Скорее всего – нет, так как она не может проникнуть в клетку. Однако, в наших экспериментах мы наблюдали снижение скорости адгезии на ТМФС-К как для лейкоцитов, так и для тромбоцитов. Очевидно, что существует механизм контактного блокирования процесса адгезии фиксированными молекулами фуллерена C60. Аналогичный эффект наблюдали при использовании в экспериментах поверхности из ПВХ, модифицированной фуллереном, в которых оценивали осмотическую резистентность эритроцитов человека в различных вариантах. Было показано, что часовая инкубация твердофазного фуллерена с компонентами крови не оказывает существенного влияния на функциональные свойства мембран. Продолжительная инкубация (48 часов) снижает функциональные свойства эритроцитов [20]. Механизм действия может быть связан с активацией свободнорадикального окисления и энергозависимых мембранных процессов. Показано, что фуллерен способен влиять на биохимические и физические параметры на клеточном, мембранном и субклеточном уровнях [21].

ВЫВОДЫ

1. Адгезивный потенциал тромбоцитов реализуется на всех производных Силохрома С-120 (за исключением ТМФС-К) в первые «5 мин» контакта крови с сорбентами. ТМФС-К показал наиболее низкую скорость адгезии на нем тромбоцитов и более длительный период фиксации этих клеток к поверхности гранул («20 мин»). Показатели скорости перехода лейкоцитов с поверхности сорбентов в жидкую фазу крови (десорбции) на всех препаратах имели сходные величины, за исключением ТМФС-К.
2. Для общей популяции лейкоцитов СВАП всех препаратов практически одинаковы. Максимальная скорость адгезии отмечена в первые «5 мин», период преобладания прилипания лейкоцитов к гранулам сорбентов длился до «20 мин», затем отмечали превалирование десорбции клеток с препаратов над их фиксацией. Наименьший показатель скорости адгезии лейкоцитов зафиксирован на ТМФС-К ($p < 0,05$).
3. По форме СВАП и скорости адгезии реакция гранулоцитов на контакт с сорбентами соответствует показателям для общей популяции лейкоцитов.
4. Реакция агранулоцитов на контактное взаимодействие крови с препаратами сходна по форме СВАП для всех сорбентов, за исключением КСХ. Период преобладания фиксации на нем клеток длился «40 мин». Скорости адгезии для агранулоцитов на всех препаратах существенно ниже, чем для гранулоцитов.
5. По своим адгезивным характеристикам для клеток крови Силохром С-120 и все его модифицированные производные могут быть использованы в качестве контактных активаторов тромбоцитов и лейкоцитов при проведении МОГ. Учитывая предыдущие исследования по оценке гемолитических характеристик данных препаратов [4], для дальнейшего исследования в плане его практического применения в клинике может быть рекомендован только один препарат – карбосилохромфуллерен С60 (КСХФ), обладающий наименьшей и адекватной гемолитической активностью из всех исследованных сорбентов.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

ЛИТЕРАТУРА

1. Буркова Н. В., Кузнецов С. И., Тюкавин А. И. Контактная твердофазная гемомодуляция. Бюллетень ФЦСКЭ им. В.А. Алмазова. 2013;6:28–34.
2. Кузнецов С. И., Киричук О. П., Буркова Н. В., Даванков В.А., Постнов В. Н., Литвиненко Е.В. Реакция клеточных элементов крови на контакт с гранулированными сверхсшитым полистиролом и кремнеземами. Трансляционная медицина. 2017;4(4):43-55. doi:10.18705/2311-4495-2017-4-4-43-55.
3. Буркова Н. В., Киричук О. П., Романчук Е. В., Даванков В. А., Постнов В. Н., Кузнецов С. И. Изменения спектральных характеристик плазмы при контакте венозной крови человека с гранулированными сорбентами *in vitro*. Альманах клинической медицины. 2018; 46(8):772-777. doi:10.18786/2072-0505-2018-46-8-772-777.
4. Киричук О. П., Юрьев Г. О., Буркова Н. В., Постнов В. Н., Романчук Е. В., Кузнецов С. И. Сравнение спектральных характеристик плазмы после контакта венозной крови человека с Силохромом С-120 и его химически модифицированными производными в стендовых условиях. Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины. 2019;9(2):20-26.
5. Киричук О. П., Буркова Н. В., Романчук Е. В., Литвиненко Е. В., Киселева А. Д., Кузнецов С. И. Оценка активационных возможностей твердофазных поверхностей по скорости адгезии клеток крови. Трансляционная медицина. 2019;6(3):53-60. doi:10.18705/2311-4495-2019-6-3-53-60.
6. Chang S., Popowich Y., Greco R.S., Haimovich B. Neutrophil survival on biomaterials is determined by surface topography. J. Vasc. Surg. 2003; 37(5):1082-1090. doi:10.1067/mva.2003.160.
7. Tomczok J., Sliwa-Tomczok W., Klein C. L., van Kooten T. G., Kirkpatrick C. J. Biomaterial – induced alterations of human neutrophils under fluid shear stress. Scanning electronical study *in vitro*. Biomaterials.1996;17(14):1359-1367. doi:10.1016/0142-9612(96)87275-9.
8. Golebiewska E. M, Alastair W. Poole Platelet secretion: From haemostasis to wound healing and beyond. Blood Rev. 2015;29(3):153-62. doi:10.1016/j.blre.2014.10.003.
9. Guang Jia, Haifang Wang, Lei Yan, Xiang Wang, Rongjuan Pei, Tao Yan, Yuliang Zhao, and Xinbiao Guo. Cytotoxicity of carbon nanomaterials: single-wall nanotube, multi-wall nanotube, and

fullerene. *Environ Sci Technol.* 2005;39(5):1378-1383. doi:10.1021/es048729l.

10. Takagi A., Hirose A., Nishimura T. Induction of mesothelioma in p53[±] mouse by intraperitoneal application of multi-wall carbon nanotube. *J. Toxicol. Sci.* 2008;33(1):105-116. doi:10.2131/jts.33.105.

11. Каркищенко Н.Н. Нанобезопасность: новые подходы к оценке рисков и токсичности наноматериалов. *Биомедицина.* 2009;(1):5-27.

12. Aleksandra Isakovic, Zoran Markovic, Biljana Todorovic-Markovic, Nadezda Nikolic, Sanja Vranjes-Djuric, Marija Mirkovic, Miroslav Dramicanin, Ljubica Harhaji, Nevena Raicevic, Zoran Nikolic Distinct cytotoxic mechanisms of pristine versus hydroxylated fullerene. *Toxicol. Sci.* 2006;91(1):173–183. doi:10.1093/toxsci/kfj127

13. Christie M. Sayes, Andre M. Gobin, Kevin D. Ausman, Joe Mendez Jennifer L. West, Vicki L. Colvin. Nano-C60 cytotoxicity is due to lipid peroxidation. *Biomaterials.* 2005; 26(36):7587–7595. doi:10.1016/j.biomaterials.2005.05.027

14. Соломадин И. Н., Мааров Н. В., Бендиктова Н. И., Косенко Е. А., Каминский Ю. Г. Токсическое действие Ab25-35 и фуллерепа С60 на эритроциты. *Известия РАН.* 2008; 4:507-512.

15. Скворцевич Е. Г., Романов Р. В., Стурлис О. В. Биологические эффекты наноструктур углерода. *Вестник Санкт-Петербургского университета.* 2009;(1):114-119.

16. Горюнов А. С., Борисова А. Г., Рожков С. П., Суханова Г. А., Рожкова Н. Н. Морфология и агрегация эритроцитов в нанодисперсиях углерода. *Труды Карельского научного центра РАН.* 2009;3:30–37.

17. Satoh M., Takayanagi I. Pharmacological Studies on Fullerene (C60), a Novel Carbon Allotrope, and Its Derivatives. *J. Pharm. Sci.* 2006;100:513–518. doi:10.1254/jphs.CPJ06002X.

18. Скоркина М. Ю., Бучельников А. С., Тикунова Т. С., Кротова Е. Е. Влияние немодифицированного водного раствора фуллерепа С60 на функциональную активность лимфоцитов в норме и при лимфопролиферативных процессах. *Нанофизика.* 2015 3:147-151.

19. Мензянова Н. Г., Николаева Е. Д., Винокурова Д. В., Шабанов А. В., Шершнева А. М. Влияние биоматериалов медицинского назначения на структурно-функциональные особенности моноцитов. *Журнал Сибирского Федерального Университета. Биология 1.* 2016; (9):33-42. doi:10.17516/1997-1389-2015-9-1-33-42.

20. Веснина Л. Э., Мамонтова Т. В., Микитюк М. В., Боброва Н. А., Куценко Л. А. Влияние фуллерепа С60 на функциональную активность фагоцитарных клеток. *Экспериментальная и*

клиническая фармакология. 2011;74(6):26-29. doi:10.30906/0869-2092-2011-74-6-26-29.

21. Думпис М. А., Николаев Д. Н., Литасова Е. В., Ильин В. В., Брусина М. А., Пиотровский Л.Б. Биологическая активность фуллеренов – реалии и перспективы. *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии.* 2018;16(1):4–20. doi:10.17816/RCF1614-20.

REFERENCES

1. Burkova N. V. Kuznetsov S. I., Tyukavin A. I. Contact solid phase chemomodulation. *Bulletin Almazov National Medical Research Centre.* 2013; 6:28-34 (In Russ.).

2. Kuznetsov S. I., Kirichuk O. P., Burkova N. In. Davankov V. A., Postnov V. N., Litvinenko E. V. Reaction of blood cell elements to contact with granulated super-crosslinked polystyrene and silica. *Translational medicine.* 2017; 4(4):43-55 (In Russ.). doi:10.18705/2311-4495-2017-4-4-43-55

3. Burkova N. In. Kirichuk O. P., Romanchuk E. V., Davankov V. A., Postnov V. N., Kuznetsov S. I. Changes in the spectral characteristics of plasma in contact with human venous blood granulated sorbents invitro. *Almanac of clinical medicine.* 2018; 46(8):772-777 (In Russ.). doi:10.18786/2072-0505-2018-46-8-772-777.

4. Kirichuk O. P., Yuriev G. O., Burkova N. V., Postnov V. N., Romanchuk E. V., Kuznetsov S. I. Comparison of spectral characteristics of plasma after contact of human venous blood with Silochrom S-120 and its chemically modified derivatives under bench conditions. *Crimea Journal of Experimental and Clinical Medicine.* 2019;9(2):20-26 (In Russ.).

5. Kirichuk O. P., Burkova N. V., Romanchuk E. V., Linvinenko E. V., Kiseleva A. D., Kuznetsov S. I. Assessment of the activation capabilities of solid-phase surfaces by the rate of adhesion of blood cells. *Translational medicine.* 2019; 6 (3):53-60 (In Russ.). doi:10.18705/2311-4495-2019-6-3-53-60.

6. Chang S., Popowich Y., Greco R.S., Haimovich B. Neutrophil survival on biomaterials is determined by surface topography. *J. Vasc. Surg.* 2003;37(5):1082-1090. doi:10.1067/mva.2003.160.

7. Tomczok J., Sliwa-Tomczok W., Klein C. L., van Kooten T. G., Kirkpatrick C. J. Biomaterial – induced alterations of human neutrophils under fluid shear stress. *Scanning electronical study in vitro.* *Biomaterials.* 1996;17(14):1359-1367. doi:10.1016/0142-9612(96)87275-9.

8. Golebiewska E. M., Alastair W. Poole Platelet secretion: From haemostasis to wound healing and beyond. *Blood Rev.* 2015; 29(3):153-62. doi:10.1016/j.blre.2014.10.003.

9. Guang Jia, Haifang Wang, Lei Yan, Xiang Wang, Rongjuan Pei, Tao Yan, Yuliang Zhao, and Xinbiao Guo Cytotoxicity of carbon nanomaterials: single-wall nanotube, multi-wall nanotube, and fullerene. *Environ Sci Technol.* 2005;39(5):1378-1383. doi:10.1021/es048729L.
10. Atsuya Takagi, Akihiko Hirose, Tetsuji Nishimura, Nobutaka Fukumori, Akio Ogata, Norio Ohashi, Satoshi Kitajima, Jun Kanno. Induction of mesothelioma in p53+/- mouse by intraperitoneal application of multi-wall carbon nanotube. *J. Toxicol. Sci.* 2008; 33(1):105-116. doi:10.2131/jts.33.105.
11. Karkishchenko, N. N. Nanosafety: new approaches to the assessment of risks and toxicity of nanomaterials. *Biomedicine.* 2009;1:5-27 (In Russ.).
12. Aleksandra Isakovic, Zoran Markovic, Biljana Todorovic-Markovic, Nadezda Nikolic, Sanja Vranjes-Djuric, Marija Mirkovic, Miroslav Dramicanin, Ljubica Harhaji, Nevena Raicevic, Zoran Nikolic. Distinct cytotoxic mechanisms of pristine versus hydroxylated fullerene. *Toxicol. Sci.* 2006;91(1):173-183. doi:10.1093/toxsci/kfj127
13. Christie M. Sayes, Andre M. Gobin, Kevin D. Ausman, Joe Mendez, Jennifer L. West, Vicki L. Colvin. Nano-C60 cytotoxicity is due to lipid peroxidation. *Biomaterials.* 2005; 26(36):7587-7595. doi:10.1016/j.biomaterials.2005.05.027
14. Salomatin I. N., Markov N. In. Venediktova N. E. A. Kosenko, Y. G. Kaminsky. Toxic effects and b from 25 to 35 and fullerene C60 on erythrocytes. *News of wounds.* 2008;4:507-512 (In Russ.).
15. Skvortsevich E. G., Romanov R. V., Sturlis O. V. Biological effects of carbon nanostructures. *Bulletin of St. Petersburg University.* 2009;1:114-119 (In Russ.).
16. Goryunov A. S., Borisova A. G., Rozhkov S. P., Sukhanova G. A., Rozhkova N. N. Morphology and aggregation of erythrocytes in carbon nanodispersions. *Proceedings of the Karelian Scientific Center of the Russian Academy of Sciences.* 2009;3:30-37 (In Russ.).
17. Satoh M., Takayanagi I. Pharmacological Studies on Fullerene (C60), a Novel Carbon Allotrope, and Its Derivatives. *Jurn. Pharmacol. Sci.* 2006; 100:513-518. doi:10.1254/jphs.CPJ06002X
18. Skorkina M. Yu., Buchelnikov A. S., Tikunova T. S., Krotova E. E. Influence of an unmodified aqueous solution of fullerene C60 on the functional activity of lymphocytes in normal conditions and in lymphoproliferative processes. *Nanophysics.* 2015;(3):147-151 (In Russ.).
19. Menzyanova N. G., Nikolaeva E. D., Vinokurova D. V., Shabanov A.V., Shershneva A.M. The influence of medical biomaterials on the structural and functional features of monocytes. *Journal of Siberian Federal University. Biology* 1. 2016;(9):33-42 (In Russ). doi:10.17516/1997-1389-2015-9-1-33-42.
20. Vesnina L.E., Mamontova T.V., Mikityuk M.V., Kutsenko N.L., Kutsenko L.A., Bobrova N.A., Berkalo L.V., Kaidashev I.P. The effect of fullerene C60 on the functional activity of phagocytic cells. *Experimental and Clinical Pharmacology.* 2011;74(6):26-29 (In Russ.). doi:10.30906/0869-2092-2011-74-6-26-29
21. Dumpis M. A., Nikolaev D. N., Litasova E. V., Ilyin V. V., Brusina M. A., Piotrovsky L. B. Biological activity of fullerenes - realities and prospects. *Reviews on clinical pharmacology and drug therapy.* 2018; 16(1):4-20 (In Russ.). doi:10.17816/RCF1614-20

УДК 616.697-021.6.

DOI: 10.29039/2224-6444-2021-11-4-27-32

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ХРОСОМНЫХ АБЕРРАЦИЙ В СЕМЕННИКАХ ПОСЛЕ ОБЛУЧЕНИЯ ЭЛЕКТРОНАМИ ДОЗОЙ 2 ГР И ВВЕДЕНИЯ PRP

Никитин П. В.^{1,2}, Демяшкин Г. А.^{1,2}, Беркетова А. М.³, Марьевская Д. С.³, Петухова П. С.³

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

²ФГБУ Медицинский радиологический научный центр им. А. Ф. Цыба, 249036, ул. Королева, 4, Обнинск, Россия

³ФГБУ Обнинский институт атомной энергетики, 249039, Студгородок, 1, г. Обнинск, Россия

Для корреспонденции: Демяшкин Григорий Александрович, к.м.н., Сеченовский Университет, e-mail: dr.dga@mail.ru

For correspondence: Grigory Demyashkin, PhD, I. M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), e-mail: dr.dga@mail.ru

Information about authors:

Nikitin P. V., <https://orcid.org/0000-0003-3223-4584>

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

Berketova A. M., <https://orcid.org/0000-0003-4821-7383>

Marevskaya D. S., <https://orcid.org/0000-0002-2584-087X>

Petukhova P. S., <https://orcid.org/0000-0002-3521-5074>

РЕЗЮМЕ

Использование химиотерапевтических препаратов и/или ионизирующего γ - или β -излучения для лечения злокачественных опухолей яичка может приводить к бесплодию. Облучение вызывает хромосомные aberrации в KRAS-, Myc-, Met- и Yap1-протоонкогенах, ответственных за пролиферацию, дифференцировку и апоптоз половых клеток. Количество этих генов-регуляторов и их структурные изменения можно рассматривать в качестве таргетной терапии мужского бесплодия. Цель исследования: молекулярно-генетическая оценка амплификации генов KRAS, Myc, Met, Yap1 в семенниках после облучения электронами дозой 2 Гр и введения факторов роста плазмы, обогащенной тромбоцитами (PRP). Материал и методы. Крысы породы Вистар (n=135) были поделены на группы: I – контроль, II – 2IR, III – 2IR+LP-PRP+IGF-1, IV – 2IR+LP-PRP и V – LP-PRP. Сперматогенез у животных II, III и IV групп ингибировали однократным локальным облучением электронами дозой 8 Гр. Затем, на протяжении 11 недель крысам III и IV внутрибрюшинно вводили LP-PRP, а в III группе – дополнительно IGF-1. В семенниках методом ПЦР изучали амплификацию генов KRAS, MYC, MET, YAP1. Результаты. После облучения было отмечено повышение экспрессии KRAS, Myc, Met, Yap1, однако на фоне введения PRP с IGF1 выявили постепенное уменьшение экспрессии изучаемых генов, которое, к окончанию исследования, были практически приближены к контрольным значениям. Заключение. Ионизирующее облучение половых клеток семенников крыс электронами дозой 2 Гр индуцирует хромосомные aberrации генов KRAS, MYC, MET, YAP1, что приводит к различным фенотипическим и функциональным нарушениям и апоптозу.

Ключевые слова: мужское бесплодие, PRP, сперматогенез, облучение электронами, хромосомные aberrации.

MOLECULAR-GENETIC CHARACTERISTICS OF CHROMOSOMAL ABERRATIONS IN THE TESTES AFTER ELECTRON IRRADIATION WITH A DOSE OF 2 GY AND PRP INJECTION

Nikitin P. V.^{1,2}, Demyashkin G. A.^{1,2}, Berketova A. M.³, Marevskaya D. S.³, Petukhova P. S.³

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

²Medical Radiological Scientific Center named after A.F. Tsyba, Obninsk, Russia

³Obninsk Institute for Nuclear Power Engineering, Obninsk, Russia

SUMMARY

The use of chemotherapeutic drugs and/or ionizing gamma or beta radiation for the treatment of malignant testicular tumors can lead to infertility. Irradiation causes chromosomal aberrations in KRAS-, Myc-, Met- and Yap1-protocogenes responsible for proliferation, differentiation and apoptosis of germ cells. The number of these regulatory genes and their structural changes can be considered as targeted therapy for male infertility. Objective of the study: molecular genetic evaluation of the amplification of KRAS, Myc, Met, and Yap1 genes in the testes after electron irradiation with a dose of 2 Gy and administration of platelet-enriched plasma growth factors (PRP). Material and methods. Wistar rats (n = 135) were divided into 5 groups: I – control, II – 2IR, III – 2IR+LP-PRP+IGF-1, IV – 2IR+LP-PRP, and V – LP-PRP. Spermatogenesis in animals of groups II, III, and IV was inhibited by a single local irradiation with 2Gy electrons. Then, for 11 weeks, LP-PRP was injected intraperitoneally to rats III and IV, and in group III – additionally IGF-1. The testes were examined by amplification of genes KRAS, Myc, Met, Yap1. Results: After irradiation, an increase in the expression of KRAS, Myc, Met, Yap1 was noted, however, against the background of the introduction of

PRP with IGF1, there was a gradual decrease in the expression of the studied genes, which by the end of the study were almost close to the control values. Conclusion. Ionizing irradiation of rat testis germ cells with electrons at a dose of 2 Gy induces chromosomal aberrations of the KRAS, MYC, MET, YAP1 genes, which leads to various phenotypic morphofunctional disorders and apoptosis.

Key words: male infertility, PRP, spermatogenesis, electron irradiation, chromosomal aberrations.

Мужское бесплодие обусловлено, прежде всего, различными нарушениями сперматогенеза [13]. Причин снижения мужской фертильности множество, но основные из них следующие: врожденные или приобретенные аномалии мужских половых органов, инфекции мочевыделительной и репродуктивной систем, варикоцеле, генетические отклонения, иммунологические и эндокринные нарушения. В том числе к бесплодию могут приводить новообразования яичка, использование цитостатических лекарственных препаратов и ионизирующего излучения (ИИ): рентгеновское, γ – и β – излучения и др.

Известно, что яичко относится к группе радиочувствительных органов, при этом наиболее восприимчивыми являются сперматогонии, а самыми устойчивыми – сперматозоиды.

Под действием ионизирующего излучения в ядре возникают одонитевые и двунитевые разрывы структуры молекулы ДНК, сопровождающиеся хромосомными перестройками, поэтому последующие генерации содержат патологический набор хромосом, приводящий к фенотипическим изменениям половых клеток.

Разработка новых видов облучения и совершенствование уже существующих, а также подбор режимов дозирования в настоящее время по-прежнему остаются актуальными для современной лучевой диагностики, терапии, андрологии и онкологии.

По литературным данным, чаще всего облучение приводит к хромосомным aberrациям в *KRAS*-, *Myc*-, *Met*- и *Yap1*-протоонкогенах, которые ответственны за пролиферацию, дифференцировку и апоптоз клеток. Однако их пенетрантность напрямую зависит от локализации в геноме, типа и морфофункционального состояния клетки. Так, *KRAS* из семейства *RAS*, играет важную роль в формировании цитоскелета половых клеток, придавая им определенную форму [1]. *Met*, находящийся в клетках Лейдига, регулирует синтез тестостерона. В тоже время, данные о его участии в синтезе белков, отвечающих за передвижение мужских половых клеток, противоречивы [5]. Ген *Myc*, впервые появляясь в первичных и вторичных сперматоцитах, подвергает селекции половые клетки, запуская апоптотический каскад [5]. *Yap1* участвует в Hippo-сигнальном пути, контролирует дифференцировку клеток Сертоли [6]. Также, данный ген был обнаружен в половых клетках и клетках

Лейдига. Однако его роль в сперматогенезе, как и вышеупомянутых генов, остается мало изучена и требует дальнейшего исследования.

В последнее время для вспомогательных репродуктивных технологий используют лечение плазмой, обогащенной тромбоцитами (PRP-терапию), содержащей различные факторы роста. В тоже время, отсутствуют данные о влиянии этих биологически-активных веществ на мужские половые клетки и об оценке хромосомных aberrаций после облучения.

Структура, концентрация, количество генов-регуляторов и их перестройки, можно рассматривать в качестве таргетной терапии мужского бесплодия различной этиологии.

Цель исследования – молекулярно-генетическая оценка амплификация генов *KRAS*, *Myc*, *Met*, *Yap1* в семенниках после облучения электронами дозой 2 Гр и введение PRP.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Дизайн эксперимента. Крысы породы Wistar (n=135) были поделены на группы: I – контрольная (n=10; вводили физиологический раствор); II, III, IV (n=95) – однократное локальное облучение семенников электронами дозой 2 Гр (2IR); III группа (n=30) – в течение 11 недель внутрибрюшинной инъекцией вводили плазму, содержащую высокую концентрацию тромбоцитов и низкую концентрацию лейкоцитов (LP-PRP) в комбинации с рекомбинантным человеческим IGF-1, а в IV группе (n=30) – только LP-PRP; V (n=30) – получали LP-PRP. Животных всех групп постепенно выводили из эксперимента каждые 2 недели на протяжении 12 недель.

Амплификация генов *KRAS*, *MYC*, *MET*, *YAP1*. Семенники после фиксации в растворе Буэна готовили по протоколу гистологического исследования. Анализ экспрессии генов *KRAS*, *MYC*, *MET*, *YAP1* проведен с использованием метода определения порогового цикла (ΔC_t) и вычисления относительной экспрессии генов согласно протоколу. Нормирование и внутренний контроль выполнены относительно гена домашнего хозяйства GAPDH. Статистический контроль проводился относительно контрольной группы. Подбор праймеров был осуществлён на основании общедоступных материалов о последовательностях ДНК и мРНК генов в базе данных NCBI с использованием программы Primer-BLAST.

Статистический анализ. Полученные данные обрабатывали с использованием компьютерной программы SPSS 12 for Windows statistical software package (IBM Analytics, США). Сравнение между группами проводили с использованием однофакторного дисперсионного анализа ANOVA со значимостью $p < 0,01$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Анализ амплификации генов семенников проводили для определения цитотоксического действия и наличия хромосомных aberrаций в половых клетках после облучения электронами дозой 2 Гр.

Через неделю после облучения в семенниках II группы зафиксировали резкое повышение экс-

прессии *KRAS*, *MYC*, *MET*, *YAP1*. К 84 суткам экспрессия тестируемых генов у облученных животных превысила контрольные значения в 5,3 (*KRAS*), в 6,5 (*Myc*), в 7,5 (*MET*) и в 7,6 (*YAP1*) раз.

На фоне введения PRP в комбинации с IGF-1 отмечали постепенное уменьшение экспрессии *KRAS*, *MYC*, *MET*, *YAP1*, которое к окончанию исследования было практически приближено к единице. Аналогичные, однако, заметно менее эффективные результаты наблюдали в семенниках IV группы, с животными, которым после облучения вводили только PRP.

Достоверных различий экспрессии генов *KRAS*, *MYC*, *MET*, *YAP1* в семенниках V группы (PRP без облучения) и контрольных животных – не обнаружено.

Таблица 1

Амплификация экспрессии тестируемых генов в половых клетках семенников контрольной и опытных групп.

Группы	Амплификация гена <i>KRAS</i>	Амплификация гена <i>Myc</i>	Амплификация гена <i>Met</i>	Амплификация гена <i>Yap1</i>
Контроль	1	1	1	1
2IR 7 сутки	12.5±2.3 ^a	12.9±2.3 ^a	13.38±2.5 ^a	13.45±2.6 ^a
2IR 42 сутки	7.43±1.5 ^a	7.87±2.0 ^a	8.74±2.34 ^a	8.82±2.1 ^a
2IR 84 сутки	5.28±2.04 ^a	6.48±2.24 ^a	7.52±2.86 ^a	7.64±2.38 ^a
2IR+PRP+IGF 42 сутки	5.05±0.78 ^b	5.58±0.85 ^b	5.79±0.9 ^b	5.94±0.95 ^b
2IR+PRP+IGF 84 сутки	1.8±0.28 ^b	1.03±0.36 ^b	1.42±0.37 ^b	1.7±0.4 ^b
2IR+PRP 42 сутки	6.81±1.47 ^c	6.96±1.56 ^c	7.15±1.67 ^c	7.56±1.8 ^c
2IR+PRP 84 сутки	2.26±1.2 ^c	2.61±1.39 ^c	2.7±1.43 ^c	2.83±1.62 ^c
PRP 84 сутки	1	1	1	1

Обозначения: ^a $p < 0.01$ (контроль и 2IR), ^b $p < 0.01$ (2IR и 2IR+PRP+IGF), ^c $p < 0.01$ (2IR и 2IR +PRP).

ОБСУЖДЕНИЕ

Настоящее исследование посвящено выявлению хромосомных aberrаций путем определения уровня экспрессии генов *KRAS*, *MYC*, *MET*, *YAP1* в половых клетках после облучения семенников электронами дозой 2 Гр и коррекции плазмой, обогащенной тромбоцитами, в комбинации с инсулиноподобным фактором роста-1.

Обнаруженное нами резкое увеличение экспрессии всех тестируемых генов уже через неделю после облучения семенников, свидетельствует о появлении мутаций, сопровождающихся структурными качественными и количественными перестройками хромосом и приводящие

к фенотипическим изменениям половых клеток и, как следствие, к нарушению сперматогенеза.

Увеличение экспрессии гена *KRAS* из семейства *Ras*, ответственного за кодирование низкомолекулярных гуанозинтрифосфат-связывающих белков (ГТФ) в тканях семенника, после облучения приводит к модуляции цикличности переключения между неактивной и активной формами ГТФ, а также взаимодействию ГТФ-Ras с эффекторными белками, ответственными за фосфатидилинозитол-3-киназный (PI3-киназа) и С-протеинкиназный (ПКС) сигнальные пути [1]. Тем самым, не происходит фосфорилирование 39-ОН группы инозитолового кольца до инозитолфосфолипидов и активация ПКС, участвующая в фосфолировании α - и

генов *KRAS*, *MYC*, *MET*, *YAP1*, что приводит к различным фенотипическим и функциональным нарушениям: от гипосперматогенеза до герминальной аплазии гамет. Введение факторов роста α -гранул тромбоцитов PRP в комбинации с IGF-1 не вызывает хромосомные мутации данных генов.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

ЛИТЕРАТУРА

1. Nagdas S., Winfrey V., Olson G. Identification of ras and its downstream signaling elements and their potential role in hamster sperm motility, 2002;67(4):1058-1066. doi:10.1095/biolreprod67.4.1058
2. Chieffi P., Minucci S., Cobellis G., Fasano S., Pierantoni R. Changes in proto-oncogene activity in the testis of the frog, *Rana esculenta*, during the annual reproductive cycle. *General and Comparative Endocrinology*. 1995;99(2):127-136. doi: 10.1006/gcen.1995.1093.
3. Ricci G., Catizone A. Pleiotropic Activities of HGF/c-Met System in Testicular Physiology: Paracrine and Endocrine Implications. *Front. Endocrinol.* 2014;5:38. doi: 10.3389/fendo.2014.00038.
4. Pheesse T., Myant K., Cole A., Ridgway R., Pearson H., Muncan V., van den Brink G., Vousden K., Sears R., Vassilev L., Clarke A., Sansom O. Endogenous c-Myc is essential for p53-induced apoptosis in response to DNA damage in vivo. *Cell Death Differ.* 2014; 21:956–966. doi: 10.1038/cdd.2014.15.
5. Suzuki M., Abe K., Yoshinaga K., Obinata M., Furusawa M. Specific arrest of spermatogenesis caused by apoptotic cell death in transgenic mice. *Genes to Cells*. 1996; 1(12):1077-1068. doi:10.1046/j.1365-2443.1996.d01-228.x.
6. Sen Sharma S., Majumdar S. Mol Cell Endocrinol. Transcriptional co-activator YAP regulates cAMP signaling in Sertoli cells. 2017; 450:64-73. doi: 10.1016/j.mce.2017.04.017.
7. Liqun Y., Mengying H., Juan T., Jianbing H., Jiang H., Feng W., Hongjuan C., Liang Y. Transcriptional co-activator with PDZ-binding motif overexpression promotes cell proliferation and transcriptional co-activator with PDZ-binding motif deficiency induces cell cycle arrest in neuroblastoma. *Oncol Lett.* 2017;13(6):4295-4301. doi: 10.3892/ol.2017.60.
8. Leung C., Yang Y., Yu K., Tam N., Chan T., Lin X., Kong R., Chiu J., Wong A., Lui W., Yuen K., Lai K., Wu R. Low-Dose Radiation Can Cause Epigenetic Alterations Associated with Impairments

in Both Male and Female Reproductive Cells. *Front. Genet.* 2021; 12:710143. doi: 10.3389/fgene.2021.710143

9. Khadivi F., Koruji M., Akbari M., Jabari A., Talebi A., Ashouri Movassagh S., Panahi Boroujeni A., Feizollahi N., Nikmahzar A., Pourahmadi M., Abbasi M. Application of platelet-rich plasma (PRP) improves self-renewal of human spermatogonial stem cells in two-dimensional and three-dimensional culture systems. *Acta Histochem.* 2020;122(8):151627. doi: 10.1016/j.acthis.2020.151627.

10. Salamanna F., Veronesi F., Maglio M., Della Bella E., Sartori M., Fini M. New and Emerging Strategies in Platelet-Rich Plasma Application in Musculoskeletal Regenerative Procedures: General Overview on Still Open Questions and Outlook. *BioMed Research International*. 2015:846045. doi: 10.1155/2015/846045.

11. LeRoith D., Roberts CT. Jr. The insulin-like growth factor system and cancer. *Cancer Lett.* 2003;195(2): 127-37. doi: 10.1016/s0304-3835(03)00159-9.

12. Kubota H., Avarbock M., Brinster R. Growth factors essential for self-renewal and expansion of mouse spermatogonial stem cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2004; 101 (47), 16489–16494. doi: 10.1073/pnas.0407063101.

13. Demyashkin G. Immunophenotypic characteristics of spermatogenesis in idiopathic male infertility. *Patologicheskaya Fiziologiyai Eksperimental'naya Terapiya (Pathological physiology and experimental therapy)*. 2020;64(2):63-73. doi:10.25557/0031-2991.2020.02.63-73.

REFERENCE

14. Nagdas S., Winfrey V., Olson G. Identification of ras and its downstream signaling elements and their potential role in hamster sperm motility, 2002;67(4):1058-1066. doi:10.1095/biolreprod67.4.1058
15. Chieffi P., Minucci S., Cobellis G., Fasano S., Pierantoni R. Changes in proto-oncogene activity in the testis of the frog, *Rana esculenta*, during the annual reproductive cycle. *General and Comparative Endocrinology*. 1995;99(2):127-136. doi: 10.1006/gcen.1995.1093.
16. Ricci G., Catizone A. Pleiotropic Activities of HGF/c-Met System in Testicular Physiology: Paracrine and Endocrine Implications. *Front. Endocrinol.* 2014;5:38. doi: 10.3389/fendo.2014.00038.
17. Pheesse T., Myant K., Cole A., Ridgway R., Pearson H., Muncan V., van den Brink G., Vousden K., Sears R., Vassilev L., Clarke A., Sansom O. Endogenous c-Myc is essential for p53-induced

- apoptosis in response to DNA damage in vivo. *Cell Death Differ.* 2014; 21:956–966. doi: 10.1038/cdd.2014.15.
18. Suzuki M., Abe K., Yoshinaga K., Obinata M., Furusawa M. Specific arrest of spermatogenesis caused by apoptotic cell death in transgenic mice. *Genes to Cells.* 1996; 1(12):1077-1068. doi:10.1046/j.1365-2443.1996.d01-228.x.
19. Sen Sharma S., Majumdar S. *Mol Cell Endocrinol.* Transcriptional co-activator YAP regulates cAMP signaling in Sertoli cells. 2017; 450:64-73. doi: 10.1016/j.mce.2017.04.017.
20. Liqun Y., Mengying H., Juan T., Jianbing H., Jiang H., Feng W., Hongjuan C., Liang Y. Transcriptional co-activator with PDZ-binding motif overexpression promotes cell proliferation and transcriptional co-activator with PDZ-binding motif deficiency induces cell cycle arrest in neuroblastoma. *Oncol Lett.* 2017;13(6):4295-4301. doi: 10.3892/ol.2017.60.
21. Leung C., Yang Y., Yu K., Tam N., Chan T., Lin X., Kong R., Chiu J., Wong A., Lui W., Yuen K., Lai K., Wu R. Low-Dose Radiation Can Cause Epigenetic Alterations Associated with Impairments in Both Male and Female Reproductive Cells. *Front. Genet.* 2021; 12:710143. doi: 10.3389/fgene.2021.710143
22. Khadivi F., Koruji M., Akbari M., Jabari A., Talebi A., Ashouri Movassagh S., Panahi Boroujeni A., Feizollahi N., Nikmahzar A., Pourahmadi M., Abbasi M. Application of platelet-rich plasma (PRP) improves self-renewal of human spermatogonial stem cells in two-dimensional and three-dimensional culture systems. *Acta Histochem.* 2020;122(8):151627. doi: 10.1016/j.acthis.2020.151627.
23. Salamanna F., Veronesi F., Maglio M., Della Bella E., Sartori M., Fini M. New and Emerging Strategies in Platelet-Rich Plasma Application in Musculoskeletal Regenerative Procedures: General Overview on Still Open Questions and Outlook. *BioMed Research International.* 2015:846045. doi: 10.1155/2015/846045.
24. LeRoith D., Roberts CT. Jr. The insulin-like growth factor system and cancer. *Cancer Lett.* 2003;195(2): 127-37. doi: 10.1016/s0304-3835(03)00159-9.
25. Kubota H., Avarbock M., Brinster R. Growth factors essential for self-renewal and expansion of mouse spermatogonial stem cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2004; 101 (47), 16489–16494. doi: 10.1073/pnas.0407063101.
26. Demyashkin G. Immunophenotypic characteristics of spermatogenesis in idiopathic male infertility. *Patologicheskaya Fiziologiyai Eksperimental'naya Terapiya (Pathological physiology and experimental therapy).* 2020;64(2):63-73. doi:10.25557/0031-2991.2020.02.63-73.

УДК: 616.89-085.214.32-008.831:[577.112.017.73+57.085] DOI: 10.29039/2224-6444-2021-11-4-33-43

ИЗМЕНЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ОБМЕНА СИАЛОГЛИКОПРОТЕИНОВ В ТКАНЯХ ПЕЧЕНИ, ЖЕЛУДКА И ТОНКОЙ КИШКИ АЛКОГОЛИЗИРОВАННЫХ КРЫС ПРИ ВВЕДЕНИИ S-АДЕНОЗИЛМЕТИОНИНА

Оксузян А. В., Бутолин Е. Г., Соловьев М. Д.

ФГБОУ ВО «Ижевская государственная медицинская академия» Минздрава России, 426034, ул. Коммунаров, 281, Ижевск, Россия.

Для корреспонденции: Оксузян Артур Валериевич, доцент, кандидат медицинских наук, доцент кафедры медицины катастроф и безопасности жизнедеятельности Ижевской государственной медицинской академии, e-mail: artur30st@mail.ru

For correspondens: Oksuzyan Artur Valerievich, PhD, Associate Professor of the Department of Disaster Medicine and Life Safety, Izhevsk State Medical Academy, e-mail: artur30st@mail.ru

Information about authors:

Oksuzyan A. V., <https://orcid.org/0000-0002-5901-615X>

Butolin E. G., <https://orcid.org/0000-0002-3312-4689>

Solovyov M. D., <https://orcid.org/0000-0002-9504-8335>

РЕЗЮМЕ

В статье рассматриваются особенности обмена сialogликопротеинов в тканях печени и желудочно-кишечного тракта при экспериментальных моделях: алкогольная болезнь печени и длительная алкоголизация крыс при введении гепатопротектора. Обмен сialogликопротеинов оценивали в динамике на 21, 35, 60, 90 дни опытов по уровню общих сиаловых кислот и сиалидазной активности. Для оценки реализации опытов были проведены морфологические исследования срезов печени и биохимический анализ показателей липидного спектра и трансаминаз. При этом на микропрепаратах печени опытных грызунов с хронической алкогольной интоксикацией картина патологоанатомических признаков жировой дистрофии, что доказывает сформированность экспериментальной модели. У группы животных, которым вводили S-аденозилметионин, большинство гепатоцитов без изменений, но с присутствием алкогольного гиалина или телец Маллори в отдельных клетках. Кроме этого, отмечается рост трансаминаз; дислипидемия в сыворотке крови, которые менее выражены в опытной группе крыс на фоне введения гепатопротектора. В обмене сialogликопротеинов в сыворотке крови и в тканях печени, желудка и тонкой кишки экспериментальных животных отмечается рост уровня сиаловых кислот и сиалидазной активности в обеих исследуемых группах, что подтверждает метаболический оборот в сторону распада сialogликопротеинов в исследуемых тканях у крыс с хронической алкогольной интоксикацией во второй половине динамики опытов, в отличие от животных находящихся в условиях введения S-аденозилметионина, у которых изменения проявляются в первой декаде наблюдений, что может быть связано с цитолитическим действием этанола в данных тканях.

Ключевые слова: сialogликопротеины, S-аденозилметионин, липидный спектр, алкогольная жировая болезнь печени.

CHANGES IN THE METABOLISM OF SIALOGLYCOPROTEINS IN LIVER, STOMACH, AND SMALL INTESTINE TISSUES IN ALCOHOLIZED RATS UPON ADMINISTRATION OF S-ADENOSYLMETHIONINE

Oksuzyan A. V., Butolin E. G., Solovyov M. D.

Izhevsk State Medical Academy, Izhevsk, Russia

SUMMARY

The article examines the features of the exchange of sialoglycoproteins in the tissues of the liver and gastrointestinal tract in experimental models: alcoholic liver disease and prolonged alcoholization of rats with the introduction of a hepatoprotector. The exchange of sialoglycoproteins was assessed over time on days 21, 35, 60, 90 of the experiments according to the level of total sialic acids and sialidase activity. To assess the implementation of the experiments, morphological studies of liver sections and biochemical analysis of the parameters of the lipid spectrum and transaminases were carried out. At the same time, on micropreparations of the liver of experimental rodents with chronic alcohol intoxication, the picture of pathological signs of fatty degeneration, which proves the formation of the experimental model. In the group of animals that were injected with S-adenosylmethionine, most of the hepatocytes were unchanged, but with the presence of alcoholic hyaline or Mallory bodies in individual cells. In addition, there is an increase in transaminases; dyslipidemia in the blood serum, which are less pronounced in the experimental group of rats against the background of the introduction of a hepatoprotector. In the metabolism of sialoglycoproteins in the blood serum and in the tissues of the liver, stomach and small intestine of experimental animals, there is an increase in the level of sialic acids and sialidase activity in both study groups, which confirms the metabolic turnover towards the breakdown of sialoglycoproteins in the studied tissues in rats with chronic alcohol intoxication in the second half of the dynamics of the experiments, in contrast to animals under the conditions of the introduction of S-adenosylmethionine, in which changes appear in the first decade of observations, which may be associated with the cytolytic effect of ethanol in these tissues.

Key words: sialoglycoproteins, S-adenosylmethionine, lipid spectrum, alcoholic fatty liver disease.

На сегодняшний день, установлено, что последствия хронического злоупотребления напитками, изготовленными на основе этанола, приводят к дисрегуляции многих процессов метаболизма. На данный момент определена корреляция между наличием обменных заболеваний у пациентов и вероятности встречаемости у них болезней желудочно-кишечного тракта [1]. Органы гастродуоденальной зоны выполняют функцию защитного барьера на пути проникновения этанола в организм, испытывая его негативное воздействие, что предотвращает развитие воспалительного процесса. Он состоит из слоя слизи, гликокаликса и собственно эпителиальной выстилки, участвует в регуляции иммунных реакций и состава микрофлоры [2]. В основе биохимических механизмов нарушений обмена веществ, вызванных злоупотреблением алкоголя, лежит способность этилового спирта повреждать биомембраны клетки за счет активации оксидативного стресса. В свою очередь, интенсификация свободнорадикального окисления способствует накоплению в печени углеводсодержащих биополимеров [3; 4]. В протоколах лечения заболеваний печени рекомендуется применение препаратов, относящихся к группе гепатопротекторов, которые усиливают ее обезвреживающую функцию, повышают устойчивость данного органа к патологическим воздействиям. Однако, эти лекарственные средства являются как известными соединениями, широко применяющимися в настоящее время в медицине, так и менее распространёнными на российском рынке препаратами, изученными не в полной мере. Установлено, что введение S-аденозилметионина алкоголизированным крысам оказывает выраженное действие на репарацию в гепатоцитах [5]. Но при этом, не изучены изменения при хронической алкогольной интоксикации в обмене биополимеров соединительной ткани, в частности, сиалогликопротеинов в слизистой оболочке желудка и тонкой кишки, концевыми молекулами которых являются сиаловые кислоты. В связи с этим, особый интерес представляют экспериментальные исследования по моделированию данного патологического состояния у животных с помощью алкогольной диеты, позволяющие понять причины развития и прогрессирования метаболических нарушений, а также исследовать потенциальные методы его профилактики и лечения.

Целью исследования явилось выявить изменения показателей обмена сиалогликопротеинов в тканях печени, желудка и тонкой кишки алкоголизированных крыс при введении S-аденозилметионина.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

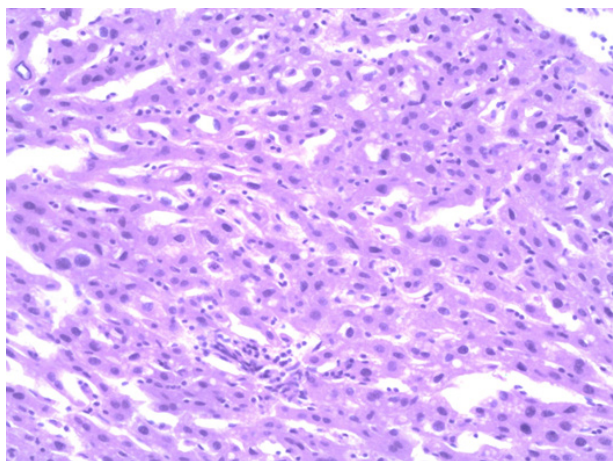
Эксперименты проведены на 64 взрослых белых беспородных крысах-самцах массой 180-230 грамм в осенне-зимний период. Животные содержались на обычном рационе вивария со свободным доступом к воде в соответствии с требованиями приказа № 267 МЗ РФ от 19.06.2003 г., «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» № 755 от 12.08.1977 г. и положениями Хельсинской декларации Всемирной медицинской ассоциации (1996 г.) о гуманном обращении с животными (одобрительная форма комитета по биомедицинской этике от 25.09.2007 г., аппликационный № 153). Алкогольную болезнь печени формировали на 64 крысах-самцах ежедневным внутривентральным введением через 3 часа после еды 40% этилового спирта один раз в сутки в течение 70 дней [6; 7], а с 21 дня 32 опытным грызунам самцам внутримышечно вводили препарат, содержащий S-аденозилметионин в дозе 20 мг/кг веса тела [5]. В контрольную группу вошли 16 лабораторных животных, которым ежедневно один раз в сутки через 3 часа после еды интрагастрально вводили 0,9% раствор натрия хлорида. Обмен сиалогликопротеинов оценивали в крови, печени, слизистых оболочках желудка и тонкой кишки лабораторных крыс на 21, 35, 60 и 90 дни. В указанные дни животных декапитировали под кратковременным эфирным наркозом. О функциональном состоянии печени судили по изменению активности трансаминаз (аланинаминотрансфераза (АЛТ) и аспартатаминотрансфераза (АСТ)), щелочной фосфатазы (ЩФ) и гаммаглутамилтранспептидазы (ГГТ). Для морфологического подтверждения развития моделируемого патологического процесса проводили гистологическое исследование печени. Для этой цели применяли гистопроцессор карусельного типа Leica TP1020, а для получения срезов использовали микротом фирмы Leica. Микропрепараты изучали с помощью программного комплекса «Видео Тест Морфология 5,0». В сыворотке крови крыс определялись: общие сиаловые кислоты (ОСК), сиалидаза (СА), триглицериды (ТГ), липопротеины низкой плотности (ЛПНП), липопротеины высокой плотности (ЛПВП), холестерин (ОХС) с помощью стандартных наборов, индекс атерогенности (ИА) вычисляли по формуле – (ОХС – ЛПВП)/ЛПВП, а в гомогенатах печени, слизистом секрете и стенке желудка и тонкой кишки – общие сиаловые кислоты (ОСК) и сиалидаза (СА) [8]. Полученные в ходе исследования показатели проанализированы с помощью непараметрических методов количественной оценки критерия

Манна-Уитни с достоверностью $p < 0,05$, коэффициент корреляции оценивали по методике Спирмена с достоверностью $p < 0,05$.

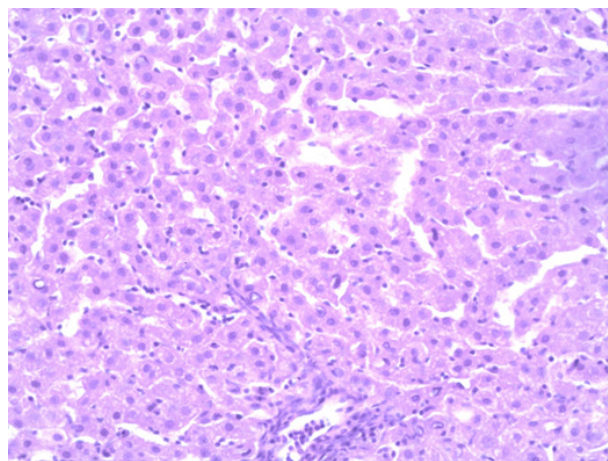
РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На гистологических срезах печени алкоголизованных крыс были выявлены патоморфологические признаки баллонной дистрофии гепатоцитов с последующим их некрозом, характеризующиеся зернистостью и вакуолизацией цитоплазмы гепатоцитов ацетальдегид-белковых комплексов, нарушающих полимеризацию тубулина микротрубочек, носящим название алкогольного гиалина или телец Маллори (рис.1). При этом, в динамике эксперимента их количество и число купферовских клеток возрастало. Важнейшим механизмом их образования являлся гепатотоксический эффект уксусного

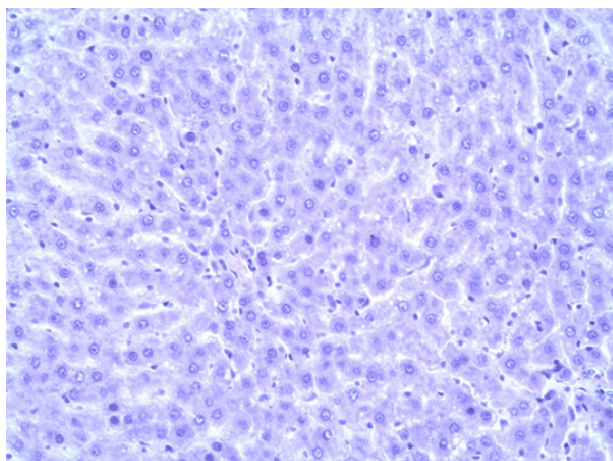
альдегида, проявляющийся в результате усиления перекисного окисления липидов и формирования стойких комплексных соединений с белками, приводящее к нарушению функции основного структурного компонента клеточных мембран – фосфолипидов и далее к повышению их проницаемости, нарушению межмембранного транспорта, изменениям функционирования клеточных рецепторов и мембраносвязанных ферментов. К 90 дню опыта появлялись очаги некроза, которые приводили к деструктивным изменениям. При этом, на микропрепаратах печени крыс с хронической алкогольной интоксикацией на фоне введения S-аденозилметионина большинство гепатоцитов без изменений, но в отдельных из них присутствует жировая дистрофия, портальный тракт инфильтрирован, сосуды расширены (рис.2).



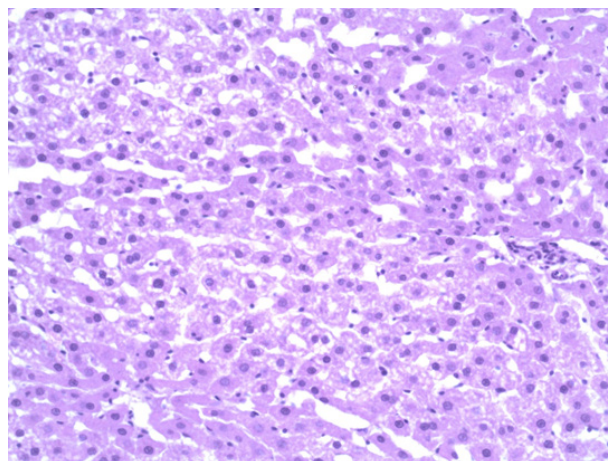
21 день



35 день

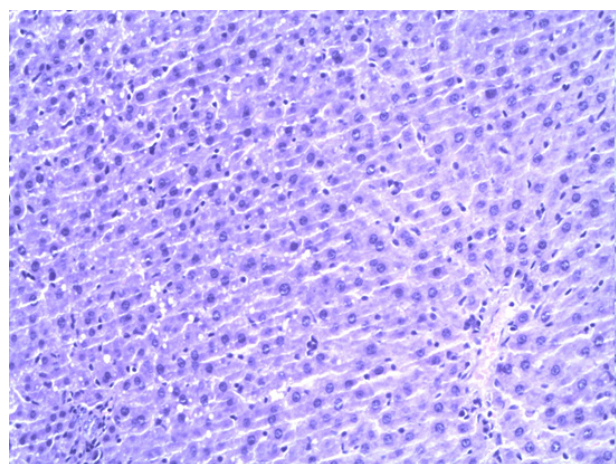


60 день

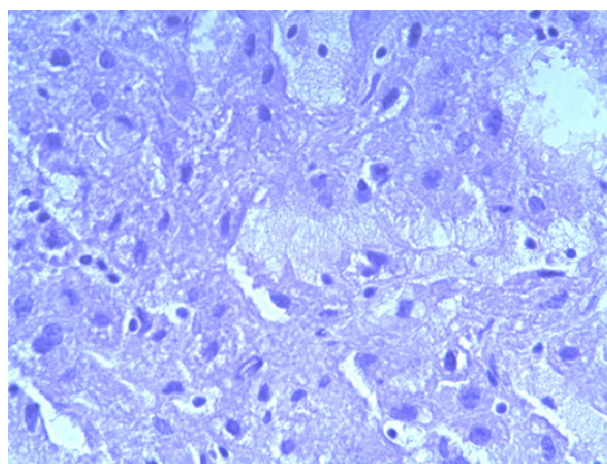


90 день

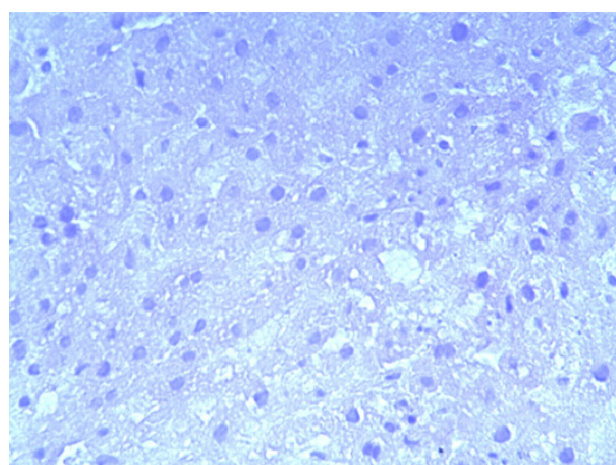
Рис.1. Морфологическая характеристика печени алкоголизованных крыс. Слева на право: 35, 90 дни – выраженная дистрофия, инфильтрация стромы органа. Архитектоника печеночных балок нарушена. 21, 60 дни - расширение синусоид. Мелкокапельная умеренная дистрофия. Окраска гематоксилин-эозином. Увелич. x400.



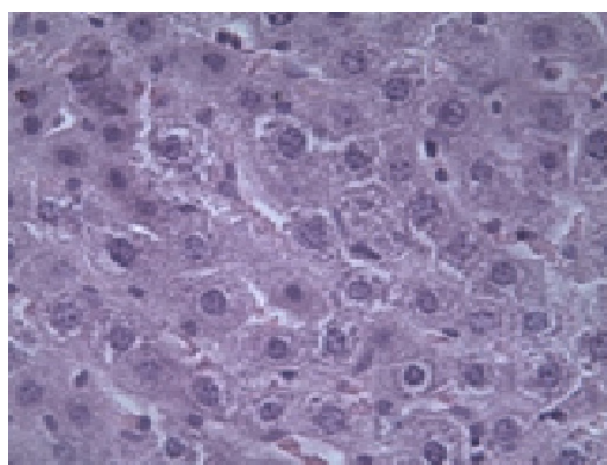
21 день



35 день



60 день



90 день

Рис.2. Морфологическая характеристика печени алкоголизованных крыс в динамике при введении S-аденозилметтионин. Слева на право: 21,35,60,90 дни – центральная вена расширена, структура печеночных балок сохранена, гепатоциты без изменений, но в отдельных присутствует жировая дистрофия. Портальный тракт инфильтрирован, сосуды расширены. Окраска гематоксилин-эозином. Увелич. x400.

Динамика трансаминаз в сыворотке крови алкоголизованных животных визуализировала достоверный рост АЛТ до 90 дня с максимумом на 35 и 60 дни, соответственно на 65,5% ($p=0,0009$) и 80,8%, ($p=0,0009$), тогда как показатель АСТ имел аналогичную тенденцию, но изменялся циркадно: повышался на 21 день на 45,4%, ($p=0,0009$), а на 35 день снижался, но был выше контроля на 23,6% ($p=0,0009$), на 60 сутки вновь возрастал на 61% ($p=0,0009$) от значения интактных животных и на 90 день уменьшился, но оставался больше контроля на 53,2% ($p=0,0009$). Однако, отмечалось достоверное снижение ЩФ до 60 дня, а к 90 дню приближение данного показателя к контролю. Анализируемые показатели: АЛТ и ЩФ визуализировали

на 21 день отрицательную корреляцию ($r=-0,8$; $p=0,017$), а на 35 сутки положительную взаимосвязь ($r=0,8$; $p=0,017$). При этом, показатель ГГТ максимально увеличивался на 21 сутки на 27,2% ($p=0,0009$) от значения интактных крыс (рис.3).

Трансаминазы в сыворотке крови алкоголизованных крыс, в условиях введения S-аденозилметтионина, визуализировали достоверный рост АЛТ до 90 дня ($p=0,0009$) и АСТ до 35 дня ($p=0,0009$), с максимумом на 21 день, тогда как показатели ЩФ и ГГТ имели одинаковую тенденцию к повышению их активности (рис.4). В первой половине экспериментальной алкоголизации животных уровень ЩФ отрицательно коррелировал с содержанием АЛТ ($r=-0,8$; $p=0,017$).

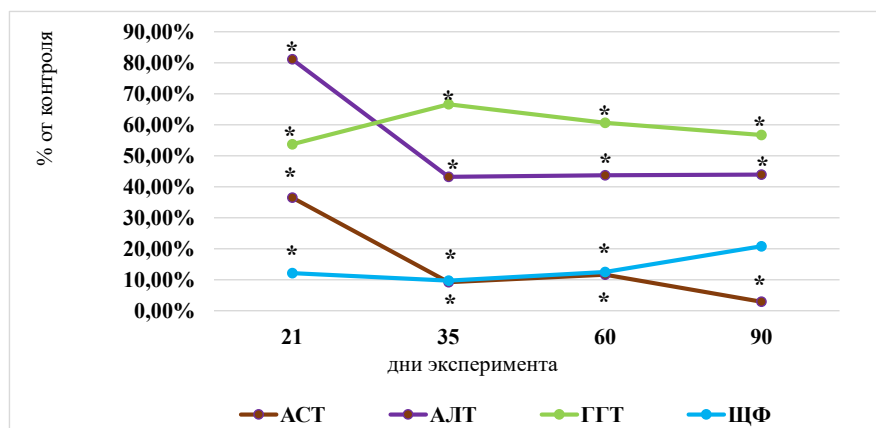


Рис.3. Динамика активности ферментов-маркеров патологии печени в сыворотке крови алкоголизированных крыс (достоверность различий между опытом и контролем: * - $p < 0,05$).

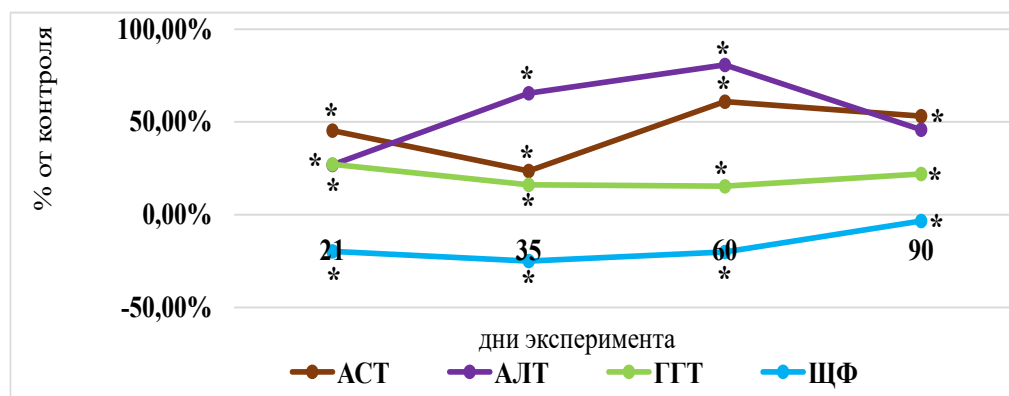


Рис.4. Динамика активности ферментов-маркеров патологии печени в сыворотке крови животных с хронической алкогольной интоксикацией в условиях введения S-аденозилметионина (достоверность различий между опытом и контролем: * - $p < 0,05$).

Вышеуказанные изменения могут быть связаны с нарушением процессов перекисного окисления липидов (антиоксидантной защиты (АОЗ)), ее декомпенсации и грубого повреждения мембран клеток с последующим развитием органических дисфункций, что в свою очередь может вызвать повышение проницаемости клеточных мембран, а это рост ферментативной активности в исследуемых тканях, что подтверждают исследования многих авторов [9].

В липидном спектре алкоголизированных крыс наблюдалась дислипидемия, которая продемонстрирована значительным увеличением ЛПНП на 21 день введения этанола, соответственно на 98,3% от контрольного значения равного 0,21 ммоль/л ($p=0,030$).

Уровень триглицеридов в сыворотке крови животных достоверно падал на протяжении всего опыта, с максимумом на 21 и 60 дни алкоголизации крыс, соответственно на 55,2%

($p=0,0008$) и 68,6% ($p=0,0008$) от контроля. При этом, концентрация холестерина и ЛПВП статистически значимо не изменялись (таб.1).

Результаты исследований показали, что индекс атерогенности у опытных грызунов (ИА= (усл. ед.) = $(\text{ОХС} - \text{ЛПВП}) / \text{ЛПВП}$) увеличивался только на 21 день и составил 1,6, что на 58% ($p=0,023$) выше по отношению к контролю, а в остальные сроки наблюдения достоверно снижался на 60 и 90 дни, а именно на 38,4% ($p=0,003$) и 29% ($p=0,007$) от контрольного значения (таб. 2).

В липидном спектре животных с хронической алкогольной интоксикацией в условиях введения S-аденозилметионина в сыворотке крови наблюдалась дислипидемия, которая проявлялась гиперхолестеринемией с наибольшим значением на 21 и 35 дни соответственно на 70,4% ($p=0,0009$) и 55,9% ($p=0,0009$) от контроля и ростом триглицеридов в эти сроки исследования. Одновременно

Таблица 1

Изменение показателей липидного спектра крови алкоголизованных крыс

Показатели	Контроль	Дни опыта			
		21	35	60	90
холестерин, ммоль/л	1,02 [0,89;1,14]	1,11 [0,78;1,32] +9,6%	1,02 [0,7;1,31] +0,86%	1,05 [0,73;1,25] +3,81%	1,02 [0,91;1,1] +0,36%
липопротеиды высокой плотности, ммоль/л	0,53 [0,42;0,63]	0,64 [0,55;0,75] +21,9%	0,52 [0,28;0,7] -1%	0,64 [0,49; 0,78] +22,6%	0,58 [0,52;0,65] +11,19%
липопротеиды низкой плотности, ммоль/л	0,21 [0,04;0,36]	0,44 [0,36;0,5] +98,3%*	0,13 [0,07;0,18] -40,33%	0,26 [0,11;0,36] +15%	0,15 [0,05;0,21] -35,2%
триглицериды, ммоль/л	1,06 [0,98;1,13]	0,47 [0,38;0,6] -55,22%*	0,82 [0,74;0,95] -22,16%*	0,33 [0,28;0,37] -68,6%*	0,63 [0,52;0,75] -39,91%*

Примечание: достоверность различий между опытом и контролем: * - $p < 0,05$.

уровень ЛПНП достоверно повышался к 90 дню на 21,8% ($p=0,0009$), а максимально высокий показатель ЛПВП – на 21 день, на 17,3% ($p=0,007$) (табл.2). При этом, данные изменения подтвержда-

ются ростом индекса атерогенности, которое значимо происходило на 35 и 60 дни, соответственно на 156,2% ($p=0,0009$) и 176,2% ($p=0,0009$) от контрольного значения равного 0,7 (табл.2).

Таблица 2

Изменение показателей липидного спектра крови крыс с хронической алкогольной интоксикации в условиях введения S-аденозилметионина

Показатели	Контроль	Дни опыта			
		21	35	60	90
Холестерин, ммоль/л	0,92 [0,89;0,95]	1,57 [1,51;1,63]* +70,4%	1,44 [1,36;1,51]* +55,9%	1,27 [1,25;1,3]* +38%	1,1 [1,03;1,16]* +18,75%
Липопротеиды высокой плотности, ммоль/л	0,51 [0,47;0,54]	0,59 [0,55;0,64]* +17,3%	0,51 [0,48;0,55] +1,5%	0,44 [0,4; 0,48]* -13,4%	0,45 [0,43;0,47]* -12%
Липопротеиды низкой плотности, ммоль/л	0,7 [0,67;0,74]	0,73 [0,71;0,76] +4,6%	0,75 [0,73;0,78]* +7%	0,79 [0,77;0,82]* +13,2%	0,85 [0,82;0,89]* +21,8%
Триглицериды, ммоль/л	0,43 [0,4;0,47]	0,78 [0,69;0,87]* +79,8%	0,77 [0,7;0,83]* +94,8%	0,73 [0,66;0,79]* +67,6%	0,64 [0,59;0,69]* +47,4%

Примечание: достоверность различий между опытом и контролем: * - $p < 0,05$.

Полученные нами данные свидетельствовали о том, что дислипидемия у лабораторных крыс связана с метаболическими изменениями при алкогольной интоксикации. В связи с тем, что 48% метионина метаболизируется в печени, и его содержание и функциональная активность наиболее выражены в гепатоцитах. Одним из важнейших последствий данных реакций является метилирование фосфолипидов клеточных мембран, что сопровождается повышением их текучести, восстановлением активности Na^+/K^+-ATP азы - главной движущей силы для секреции и тока компонентов желчи. После от-

дачи метильных групп большому количеству молекул (фосфолипидам, нуклеиновым кислотам, белкам, гормонам и др.) аденозилметионин превращается в S-аденозилгомоцистеин, который включается в реакции транссульфирования. Следует отметить, что у животных, получавших одновременно с этанолом гепатопротектор «Гептрал» отмечено достоверное уменьшение активности трансаминаз относительно группы алкоголизованных животных без его введения и имели менее выраженные морфологические признаки поражения печени за счет отдачи донатора метильных групп S-аденозилметионина,

и как следствие меньшего выхода цитолитических ферментов из клетки. Существенная роль в развитии интралобулярного холестаза принадлежит снижению активности фермента метионин-аденозилтрансферазы (S-аденозил-L-метионинсинтетазы). Данный фермент участвует в синтезе S-аденозил-L-метионина (аде-

метионина) из метионина при участии АТФ [10]. При сравнении с полученными нами данными можно отметить, что в проведённых экспериментах выявлены более существенные изменения трансаминаз, что может быть связано с гепатоцитозом, выявленным в работах других авторов [5; 10].

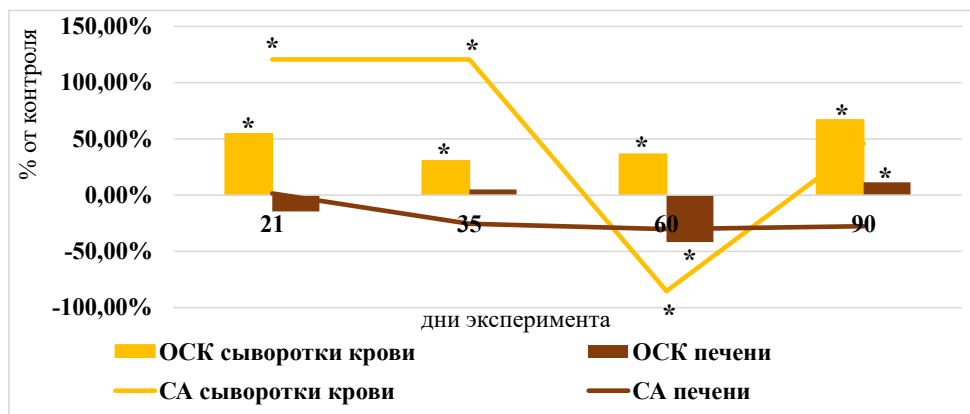


Рис. 5. Изменение содержания общих сиаловых кислот (ОСК) и сиалидазной активности (СА) в сыворотке крови и в печени алкоголизованных крыс (достоверность различий между опытом и контролем: * - $p < 0,05$).

При моделировании алкогольной болезни печени в сыворотке крови крыс отмечались процессы десиалирования сиалогликопротеинов, которые доказываются высокой активностью сиалидазы и значимым повышением уровня сиаловых кислот с максимумом на 90 день наблюдения, соответственно на 45,6% ($p=0,007$) и 66,8% ($p=0,0009$) от контроля. Данный факт свидетельствует о выраженной интенсификации процессов катаболизма сиалогликопротеинов, составляющих группу острофазных белков. При этом в гомогенатах печени животных содержание сиаловых кислот уменьшалось в течение всей динамики наблюдения, кроме 35 дня, со статистически значимым уровнем на 60 сутки на 41,7% ($p=0,002$). Показатель сиалидазной активности к этому дню приближался к контрольному (рис. 5). Кроме этого, на 21 день введения этанола выявилась обратная пропорциональная корреляция общих сиаловых кислот и сиалидазы ($r=-0,80$; $p=0,0171$). Одновременно с этим на 60 день наблюдения в слизистой оболочке желудка крыс содержание сиаловых кислот максимально возрастало на 140,6% ($p=0,0008$). С 60 по 90 дни отмечалась низкая активность фермента в диапазоне с 4,85 ммоль/кг/час по 3,3 ммоль/кг/час, что соответственно ниже на 37,4% ($p=0,007$) и 57,4% ($p=0,0009$) от контрольного значения, тогда как в слизи тонкой кишки количество сиаловых кислот не изменялось, а сиалидазная активность (СА) достоверно снижалась на протяжении всего эксперимента. При этом количе-

ство ОСК и СА показали достоверную прямую корреляционную взаимосвязь на 21 и 90 дни опыта ($r=0,8$; $p=0,017$). В стенке желудка и тонкой кишки лабораторных грызунов количество сиаловых кислот значительно снижалось до 60 дня опыта с параллельным уменьшением СА, что визуализировало активацию процессов синтеза сиалогликопротеинов. В конце периода наблюдения на 90 день уровень СА в стенке желудка опытных крыс положительно коррелировал с содержанием ОСК ($r=0,8$; $p=0,017$). Однако показатель сиаловых кислот в стенке тонкой кишки практически не изменялся (табл. 3).

Рост уровня гликопротеинов в крови больных хроническим алкоголизмом представляет собой совокупность локальных и системных неспецифических реакций организма в ответ на тканевое повреждение, вызванное интоксикацией алкоголем. В свою очередь, одним из отражений острофазных реакций является интенсификация процессов деградации биополимеров межклеточного матрикса, что сопровождается повышением содержания гликопротеинов и гликозаминогликанов в крови. Выявленные изменения метаболизма углеводов-белковых комплексов в крови больных алкоголизмом есть следствие прямого токсического действия интоксикации этанолом [3]. Данный эффект связан с избирательным его действием на печень и поджелудочную железу, что может иногда сопровождаться холестазами [11]. По данным литературы известно, что основными факторами, повреждающими ге-

Таблица 3

Изменение показателей обмена сиалогликопротеинов в тканях желудка и тонкой кишки алкоголизованных крыс (Me [Qв;Qн], n=8)

Показатели	Контроль	Дни опыта			
		21	35	60	90
СЛИЗЬ ЖЕЛУДКА					
сиаловые кислоты, ммоль/кг	6,9 [5,4;8,4]	16,3 [14,5;18,1]* +136,2%	16,1 [15,3;16,8]* +132,6%	16,6 [15,9;17,3]* +140,6%	7,4 [5,7;9,1] +7,2%
сиалидаза, ммоль/л/ч	7,75 [6,2;9,3]	6,45 [6;6,9] -16,8%	3 [2,2;3,8]* -61,3%	4,85 [4,1;5,6]* -37,4%	3,3 [2,8;3,8]* -57,4%
СТЕНКА ЖЕЛУДКА					
сиаловые кислоты, ммоль/кг	3,83 [3,4;4,25]	2,45 [1,95;3,0]* -36%	3,6 [3,0;4,15]* -6,5%	2,2 [1,8;2,7]* -42,5%	3,1 [2,7;3,5] -20,3%
сиалидаза, ммоль/л/ч	2,93 [2,6;3,3]	1,7 [1,4;2,0] -41,9%	1,6 [1,25;1,95]* -45,3%	1,45 [0,7;2,2]* -50,4%	2,73 [2,45;3,0]* -6,8%
СЛИЗЬ ТОНКОЙ КИШКИ					
сиаловые кислоты, ммоль/кг	4,03 [3,4;4,7]	1,98 [1,6;2,4] -4,6%	2,8 [2,4;3,2] -6,9%	2,55 [2,1;3,1] -7,4%	2,9 [2,5;3,3] -6,3%
сиалидаза, ммоль/л/ч	8,2 [6,2;10,2]	5,9 [5,4;6,4]* -28,1%	2,7 [2,2;3,2]* -67,1%	4,1 [3,7;4,5]* -50%	3,95 [3,5;4,4]* -51,9%
СТЕНКА ТОНКОЙ КИШКИ					
сиаловые кислоты, ммоль/кг	4,4 [3,5;5,3]	4,2 [3,05;5,3] -54%	4,1 [2,9;5,3] -30,4%	4,05 [2,9;5,3] -36,6%	4,1 [3,55;4,7] -28%
сиалидаза, ммоль/л/ч	1,93 [1,55;2,3]	1,4 [1,1;1,7]* -27,3%	1,7 [1,4;1,95]* -13%	1,9 [1,3;2,4]* -3,9%	1,6 [1,15;1,95]* -19,5%

Примечание: достоверность различий между опытом и контролем: * - $p < 0,05$.

патоциты, являются гидрофобные желчные кислоты (литохолевая, дезоксихолевая), которые повреждают липидный бислой клеточных мембран гепатоцитов и запускают механизм оксидативного стресса, приводящий к некрозу или апоптозу [12]. Исходя из этого, биомолекулы-антиоксиданты глутатион, церулоплазмин и трансферрин являются мишенью для действия этанола [13].

В сыворотке крови лабораторных алкоголизованных животных в условиях введения адемтенина, количество сиаловых кислот достоверно возрастало в течение всех дней эксперимента, с максимумом на 21 день (на 681, 3%). При этом активность фермента разрушающего сиалогликопротеины повышала свою активность с 35 дня на 260,3% ($p=0,0008$). Анализируемый показатель положительно коррелировал с 21 по 35 день ($r=0,8$; $p=0,017$), а затем показал обратно пропорциональную связь ($r=-0,8$; $p=0,017$) (рис. 6).

В гомогенатах печени уровень сиаловых кислот имел тенденцию к снижению при всей динамике с более выраженными показателями на 35 и 60 дни в сравнении от значений интактных жи-

вотных. Одновременно с этим отмечалось самая низкая СА на 90 день эксперимента на 68,5% ($p=0,0009$) от контрольного значения.

В слизистом секрете желудка крыс достоверно возрастало содержание ОСК и СА в начальные сроки опыта, особенно на 21 и 35 дни, соответственно ОСК на 65,6% ($p=0,0009$) и 38,8% ($p=0,0008$); а СА – 175,8% ($p=0,0008$) и 115,5% ($p=0,0009$), а затем вновь приближались к значению интактных животных. В стенке желудка опытных грызунов динамика изменения общих сиаловых кислот и сиалидазной активности отмечала рост также как и в слизи в первой половине эксперимента с наибольшим значением на 21 день и приближение к контролю во второй (с 60 по 90 день) и достоверно обратно пропорционально коррелировали к 90 дню наблюдения ($r=-0,8$; $p=0,017$). В мукозном слое тонкой кишки лабораторных животных количество ОСК возросло к 21 дню на 36 % ($p=0,04$), а затем к 60 и 90 дню эксперимента достоверно снизилось на 32% ($p=0,04$) и 28% ($p=0,04$), соответственно от контрольного значения. Одновременно отмечался рост сиалидазной активности на

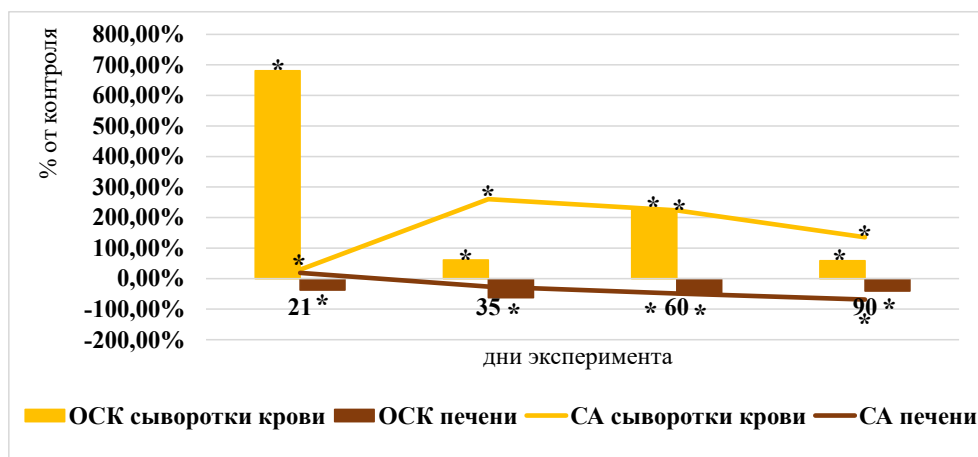


Рис.6. Изменение содержания общих сиаловых кислот (ОСК), сиалидазы (СА) в сыворотке крови и в печени животных с хронической алкогольной интоксикацией в условиях введения S-аденозилметионина (достоверность различий между опытом и контролем: * - $p < 0,05$).

протяжении всего опыта с наибольшими показателями на 21 и 35 дни, соответственно на 239% ($p=0,0009$) и 163,4% ($p=0,0009$). В стенке тонкой кишки крыс общие сиаловые кислоты и сиалидаза

с 35 дня по 90 день наблюдения снижались с однократным ростом на 21 день и на 60 сутки между ними визуализировалось достоверная прямая пропорциональная связь ($r=0,8$; $p=0,017$) (табл.4).

Таблица 4

Изменение обмена сиалогликопротеинов в тканях желудка и тонкой кишки животных с хронической алкогольной интоксикацией в условиях введения S-аденозилметионина крыс (Ме [Qв;Qн], n=8)

Показатели	Контроль	Дни опыта			
		21	35	60	90
СЛИЗЬ ЖЕЛУДКА					
сиаловые кислоты, ммоль/кг	7,2 [6;8,4]	11,93 [10,2;13,5]* +65,6%	10 [9,0;11]* +38,8%	7,48 [7,0;8,0]* +3,1%	6,7 [5,4;8,1] -6,9%
сиалидаза, ммоль/л/ч	7,75 [6,2;9,3]	21,38 [20;22]* +175,8%	16,7 [15,9;17,5]* +115,5%	11,6 [10,6;12,5]* +49%	9,6 [7,6;11,6] +23,8
СТЕНКА ЖЕЛУДКА					
сиаловые кислоты, ммоль/кг	3,9 [3,4;4,25]	7,8 [6,9;8,7]* +103,3%	5,4 [4,9;5,85]* +40,5%	3,6 [3,2;3,9]* -7,2%	3,7 [3,45;3,9] -3,9%
сиалидаза, ммоль/л/ч	2,9 [2,6;3,3]	5,15 [4,6;5,7]* +76,1%	4,2 [4,0;4,5]* +43,6%	3,0 [2,6;3,5]* +2,6%	2,75 [2,5;3,0] -6,0%
СЛИЗЬ ТОНКОЙ КИШКИ					
сиаловые кислоты, ммоль/кг	4,4 [3,5;5,3]	6 [5,4;6,5]* +36%	4,2 [3,7;4,6] -5,1%	3 [2,6;3,4]* -32%	3,2 [2,7;3,7]* -28%
сиалидаза, ммоль/л/ч	8,2 [6,2;10,2]	27,8 [24;31,6]* +239%	21,6 [19,4;23,8]* +163,4%	16,3 [15,2;17,4]* +98,8%	11,5 [10,6;12,4]* +40,2%
СТЕНКА ТОНКОЙ КИШКИ					
сиаловые кислоты, ммоль/кг	4,03 [3,4;4,65]	6,25 [5,9;6,7]* +55,3%	4,18 [3,9;4,5] +3,7%	2,8 [2,45;3,0]* -32,3%	3,3 [3,05;3,6]* -27,4%
сиалидаза, ммоль/л/ч	1,93 [1,55;2,3]	4,1 [3,8;4,35]* +111,7%	3,7 [2,8;4,6]* +92,2%	2,1 [1,8;2,4]* +7,8%	2,025 [1,9;2,2]* +5,1%

Примечание: достоверность различий между опытом и контролем: * - $p < 0,05$.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исходя из вышеописанных показателей сиаловых кислот и активности их катаболизирующих сиалидазных ферментов отмечается выраженная направленность изменений в сторону катаболизма в обмене сиалогликопротеинов тканей желудочно-кишечного тракта, в особенности в стенке желудка, которая прослеживалась в обеих опытных группах лабораторных животных. Однако у алкоголизованных животных без введения гепатопротектора (S-аденозилметионина) выше указанные изменения наблюдались ближе к концу эксперимента, а при его введении - в первой половине опыта. Данные изменения наиболее четко визуализировались в тканях желудка, что может свидетельствовать о наиболее выраженных метаболических изменениях в обмене изучаемых биополимеров и активации воспалительного процесса у алкоголизованных крыс в отличие от группы опытных грызунов, которым вводили гепатопротектор на фоне длительного введения этанола.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

ЛИТЕРАТУРА

1. Анисимова Е. В., Козлова И. В., Волков С. В., Мещеряков В. Л. Патология органов пищеварения при ожирении (обзор). Саратовский научно-медицинский журнал. 2011; 7(4):851-856.
2. Merga Y., Campbell B. J., Rhodes J. M. Mucosal barrier, bacteria and inflammatory bowel disease: possibilities for therapy. Dig Dis. 2014;32(4):475-83. doi:10.1159/000358156.
3. Булгакова В. С., Высокогорский В. Е., Притыкина Т. В., Титов С. С. Нарушение обмена углеводсодержащих соединений при алкогольной интоксикации. Наркология. 2008;5:50 -53.
4. Вольхина И. В., Бутолин Е. Г. Влияние липоевой кислоты на обмен сиаловых кислот в стенке тонкой кишки крыс с аллоксановым диабетом. Педиатр. 2020;(1):37-42.
5. Василевская А. С., Бутов М. А., Узбекова Д. Г., Мнихович М. В., Никифоров А. А. Гепатопротекторы в устранении алкогольных повреждений печени. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2013;79-82.
6. Кварацхелия А. Г., Алексеева Н. Т., Никитюк Д. Б., Чава С. В. Показатель белкового обмена в кортикостероцитах надпочечных желез крыс при алкоголизации. Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. 2014;7:62-66.

7. Оксюзян А. В., Гомоюнова А. А., Максимов И. Е. Особенности обмена сиалогликопротеинов в тканях печени, желудка и тонкой кишки в условиях экспериментальных моделей неалкогольной жировой и алкогольной болезней печени. Биомедицинский журнал Медлайн.ру. 2020;21(33):405 -413.

8. Шараев П. Н., Стрелков Н. С., Кильдиярова Р. Р., Бутолин Е. Г., Ожегов А. М. Соединительная ткань в детском возрасте. Ижевск: ИГМА; 2009.

9. Шилов В. В., Шикалова И. А., Васильев С. А., Батоцыренов Б. В., Андрианов А. Ю. Коррекция метаболических расстройств в лечении алкогольных поражений печени у больных с острыми отравлениями алкоголем. Клиническая медицина. 2013;2:45-48.

10. Яковенко Э. П., Агафонова Н. А., Яковенко А.В., Иванов А. Н., Ковтун А. В. Патогенетический подход к выбору гепатопротекторов в терапии лекарственно-индуцированных поражений печени. Лечебное дело. 2017;2:34 - 40.

11. Терехина Н. А., Жидко Е. В., Терехин Г. А., Горячева О. Г. Диагностическое значение определения содержания меди при заболеваниях гепатобилиарной системы. Здоровье, демография, экология финно-угорских народов. 2017;3:44-46.

12. Минушкин О.Н., Фролова А.А., Шиндина Т.С., Кропова О.Е., Михайлова Е.В. Урсодезоксихолевая кислота в гастроэнтерологической практике. РМЖ «Медицинское обозрение». 2018;1(1):18-22.

13. Терехина Н.А., Жидко Е.В., Терехин Г.А., Горячева О.Г. Окислительная модификация белков и показатели антиоксидантной защиты при острой алкогольной интоксикации. Медицинский алфавит. 2017;4(28):53-54.

REFERENCES

1. Anisimova E. V., Kozlova I. V., Volkov S. V., Meshcherjakov V. L. Pathology of digestive organs at adiposity (review). Saratov Journal of Medical Scientific Research. 2011;7(4):851-856. (In Russ.).
2. Merga Y., Campbell B. J., Rhodes J. M. Mucosal barrier, bacteria and inflammatory bowel disease: possibilities for therapy. Dig Dis. 2014; 32(4):475-83. (In Russ.). doi:10.1159/000358156.
3. Bulgakova V.S. Vysokogorski V.E., Pritykina T.V., Titov S.S. Change of glycol-containing compounds metabolism in alcohol intoxication. Narkologiya. 2008;5:50 -53. (In Russ.).
4. Volkhina I.V., Butolin E.G. Effect of lipoic acid on sialic acid metabolism in the wall of the small intestine of rats with alloxan diabetes. Pediatrician. 2020;1:37-42. (In Russ.).

5. Vasilevskaya A. S., Butov M. A., Uzbekova D. G., Mnikhovich M. V., Nikiforov A. A. Hepatoprotectors in eliminating alcoholic liver damage. *Experimental and clinical gastroenterology*. 2013;12:79-83. (In Russ.).
6. Kvaratskheliya A.G., Alexeeva N.T., Nikityuk D.B., Chava S.V. Indicator of protein metabolism in the cells of the adrenal cortex of rats under conditions of alcoholization. *International journal of applied and fundamental research*. 2014;7:62-66. (In Russ.).
7. Oksuzyan A.V., Gomoyunova A. A., Maksimov I. E. Features of the exchange of sialoglycoproteins in the tissues of the liver, stomach and small intestine in experimental nonalcoholic fatty and alcoholic liver diseases. *Biomedical Journal Medline.ru*. 2020; 21(33):405-413. (In Russ.).
8. Sharaev P.N., Strelkov N.S., Kildiyarova R.R., Butolin E.G., Ozhegov A.M. *Connective tissue in childhood*. Izhevsk: IGMA; 2009. (In Russ.).
9. V.V. Shilov, I.A. Shikalova, S.A. Vasiliev, B.V. Batotsyrenov, A.Yu. Andrianov. Correction of metabolic disorders during treatment of alcohol-induced liver injuries in patients with acute alcoholic intoxication. *Clinical medicine*. 2013;2:45–48. (In Russ.).
10. E.P. Yakovenko, N.A. Agafonova, A.V. Yakovenko, A.N. Ivanov, and A.V. Kovtun. Pathogenetic approach to hepatoprotective therapy of drug-induced liver injury. *Lechebnoye delo*. 2017;2:34–40. (In Russ.).
11. N.A. Terekhina, E. V. Zhidko, G. A. Terekhin, O. G. Goryacheva. Diagnostic value of determination of copper content in diseases of the hepatobiliary system. *Health, demography, ecology of finno-ugric peoples*. 2017;3:44 – 46. (In Russ.).
12. Minushkin O.N., Frolova A.A., Shindina T.S., Kropova O.E., Mikhailova E.V. Ursodeoxycholic acid in the gastroenterological practice. *RMZH «Meditinskoye obozreniye»*. 2018;1(1):18–22. (In Russ.).
13. N.A. Teryokhina, E.V. Zhidko, G.A. Teryokhin, O.G. Goryacheva. Oxidative modification of proteins and indicators of antioxidant protection in acute alcohol intoxication. *Medicinskij alfavit*. 2017; 4(28):53-54. (In Russ.).

КАЧЕСТВЕННЫЙ И КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ СОСТАВ МЕТАБОЛИТОВ ШТАММОВ МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ В СВЯЗИ С РАЗРАБОТКОЙ ПРЕПАРАТОВ ПРОБИОТИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ

Семенова Е. Ф.¹, Маркелова Н. Н.², Бибарсова А. А.³, Ржевская В. С.¹, Теплицкая Л. М.¹,

Сластья Е. А.⁴, Степанова А. П.⁵, Солодаренко О. В.¹

¹Институт «Медицинская академия имени С.И. Георгиевского», ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», 295051, бульвар Ленина, 5/7, Симферополь, Россия

²ФГБУ «Российский научный центр рентгенодиагностики», 117997, ул. Профсоюзная 86, Москва, Россия

³ФГБОУ ВО «Пензенский государственный университет», 440026, ул. Красная 40, Пенза, Россия

⁴Всероссийский национальный научно-исследовательский институт виноградарства и виноделия «Магарач» РАН, 298600, ул. Кирова 31, Ялта, Россия

⁵Всероссийский научно-исследовательский институт жиров, 191119, ул. Чернышевского 10, Санкт-Петербург, Россия

Для корреспонденции: Семенова Елена Федоровна, к.б.н., профессор кафедры фармации Медицинской академии имени С.И. Георгиевского ФГБОУ ВО «КФУ имени В.И. Вернадского», e-mail: sef1957@mail.ru

For correspondence: Elena F. Semenova, PhD (Biology), Professor of the Department of Pharmacy, Medical Academy named after S.I. Georgievsky of Vernadsky CFU, e-mail: sef1957@mail.ru

Information about authors:

Semenova E. F., <http://orcid.org/0000-0002-7987-6886>

Markelova N. N., <https://orcid.org/0000-0003-0759-721X>

Bibarsova A. A., <https://orcid.org/0000-0001-8530-377X>

Rjevskaya V. S., <https://orcid.org/0000-0003-4788-0407>

Teplitskaya L. M., <https://orcid.org/0000-0003-0452-6782>

Slastya E. A., <https://orcid.org/0000-0002-6750-9587>

Stepanova A. P., <https://orcid.org/0000-0001-6185-6660>

Solodarenko O. V., <https://orcid.org/0000-0002-3508-5185>

РЕЗЮМЕ

Молочнокислые бактерии синтезируют antimicrobные вещества различной природы: кислоты, спирты, диацетил, реутерин, перекись водорода, углекислый газ и др. Управление по контролю за продуктами питания и лекарствами (Food and Drug Administration, США) и Европейское агентство по безопасности пищевых продуктов (European Food Safety Agency) признало молочнокислые бактерии безопасными для здоровья человека и животных. В связи с этим важное значение они могут иметь и в качестве продуцентов аминокислот, в том числе и незаменимых. Цель – провести сравнительный анализ продукции органических и аминокислот штаммами пробиотических бактерий. Объектами исследования служили селекционированные нами и запатентованные штаммы: *Lactobacillus plantarum* IMV B-7344, *Lactobacillus casei* IMV B-7343, *Lactobacillus acidophilus* RCAM 01850, *Lactococcus lactis subsp. lactis* RCAM 02909, *Lactococcus lactis subsp. cremoris* RCAM 05396, *Streptococcus thermophilus* RCAM 02910. В работе использованы контент-анализ источников патентной и научной литературы, морфологические, биохимические, микробиологические, биотехнологические, математические методики. Выявлено, что у всех изучаемых штаммов метаболизм бродильного типа с образованием молочной, уксусной, масляной и капроновой кислот с уровнем суммарной продукции до 29,06 г/л. Следует отметить продукцию лактобациллами яблочной и янтарной кислот (0,06-0,59 г/л) в отличие от лактококков и стрептококка, которые не синтезируют эти кислоты даже в следовых количествах. Содержание свободных аминокислот в процессе глубокого культивирования составило 35,88-49,06 г/л, в том числе незаменимых 11,81-21,21 г/л. Существенные количества в культуральной жидкости были отмечены лейцина и изолейцина (8,63-17,20 г/л), глутамина (9,83-10,60 г/л) и пролина (5,42-7,48 г/л), причем первые две аминокислоты относятся к незаменимым. Полученные результаты необходимо учитывать при разработке поликомпонентных пробиотиков, так как эти факторы в большой степени определяют эффективность воздействия на патогенные микроорганизмы и человека.

Ключевые слова: биогенные органические кислоты, свободные аминокислоты, молочнокислые бактерии, биосинтез, препараты пробиотического действия.

QUALITATIVE AND QUANTITATIVE COMPOSITION OF LACTIC BACTERIA STRAINS' METABOLITES IN CONNECTION WITH THE DEVELOPMENT OF PROBIOTIC MEDICATIONS

Semenova E. F.¹, Markelova N. N.², Bibarsova A. A.³, Rjevskaya V. S.¹, Teplitskaya L. M.¹,
Slastya E. A.⁴, Stepanova A. P.⁵, Solodarenko O. M.¹

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

²Russian Scientific Center of Roentgenoradiology (RSCRR), Moscow, Russia

³Penza State University, Penza, Russia

⁴Russian National Research Institute of Viticulture and Winemaking "Magarach" RAS, Yalta, Russia

⁵All-Russian Research Institute of Fats, St. Petersburg, Russia

SUMMARY

Lactic acid bacteria synthesize antimicrobial substances of various natures: acids, alcohols, diacetyl, reuterin, hydrogen peroxide, carbon dioxide, etc. Food and Drug Administration (USA) and European Food Safety Agency recognized lactic acid bacteria as safe for human and animal health. In this regard, they can be of great importance as producers of amino acids, including irreplaceable ones. The aim is to conduct a comparative analysis of organic and amino acids' production by strains of probiotic bacteria. The objects of the study were selected and patented strains: *Lactobacillus plantarum* IMV B-7344, *Lactobacillus casei* IMV B-7343, *Lactobacillus acidophilus* RCAM 01850, *Lactococcus lactis subsp. lactis* RCAM 02909, *Lactococcus lactis subsp. cremoris* RCAM 05396, *Streptococcus thermophilus* RCAM 02910. Content analysis of patent and scientific literature sources, morphological, biochemical, microbiological, biotechnological, mathematical methods were used. Content analysis of patent and scientific literature sources, and morphological, biochemical, microbiological, biotechnological, mathematical methods were used. It was determined that all of the studied strains have fermentation-type metabolism with the formation of lactic, acetic, butyric and caproic acids with a total production level of up to 29.06 g/L. It should be noted that *Lactobacillus* produce malic and succinic acids (0.06-0.59 g/L), in contrast to *Lactococcus* and *Streptococcus*, which do not synthesize these acids even in trace amounts. The content of free-form amino acids in the process of submerged cultivation was 35.88-49.06 g/L, including irreplaceable 11.81-21.21 g/L. Significant amounts of leucine and isoleucine (8.63-17.20 g/L), glutamine (9.83-10.60 g/L) and proline (5.42-7.48 g/L) were revealed in the culture fluid, and the first two amino acids are essential. The results obtained must be taken into account when developing multicomponent probiotics, since these factors largely determine the effectiveness of the impact on pathogenic microorganisms and humans.

Key words: biogenic organic acids, free-form amino acids, lactic acid bacteria, biosynthesis, probiotic medications.

Молочнокислые бактерии синтезируют антимикробные вещества различной природы: органические кислоты, спирты, диацетил, реутерин, перекись водорода, углекислый газ и др. [1]. Известно, что снижение pH приводит к подавлению сопутствующей микрофлоры и даже патогенных микроорганизмов. Короткоцепочечные жирные кислоты (молочная, уксусная, пропионовая и масляная кислоты), пройдя через клеточные мембраны и оказавшись в более щелочной среде внутри клетки, диссоциируют в заряженные протоны и анионы, подкисляющие цитоплазму [2; 3]. Закисление цитоплазмы может вызывать осмотический стресс и ингибирование некоторых метаболических процессов (например, синтез АТФ), что приводит к гибели микроорганизма [4]. Однако, способность молочнокислых бактерий эффективно подавлять другие виды обусловлена не только их способностью снижать pH, но и зависит от природы органических кислот, которые они производят.

Снижение pH в результате гомоферментативного брожения происходит преимущественно за счет молочной кислоты. Отмечается, что L-лактат обладает большей ингибирующей активностью по сравнению с D-изомером [5]. Некоторые виды *Lactobacillus* продуцируют L(+)-изомер, и когда эти изомеры накапливаются, молочная кислота превращается в D(-)-изомер до тех пор, пока не будет достигнуто равновесие и не образуется рацемическая смесь [6]. Многие исследователи подтверждают способность неко-

торых молочнокислых бактерий (*L. plantarum*, *L. casei*, *L. lactis*) синтезировать фенолмолочную кислоту, хотя этот процесс является штаммо- и видоспецифичным [7]. Уксусная и пропионовая кислоты эффективно ингибируют рост бактерий, плесени и дрожжей [8]. Так, физиологически релевантные концентрации уксусной кислоты значительно подавляют рост *Candida*. При значении pH, которое способствует концентрации недиссоциированной формы уксусной кислоты, токсичность в отношении дрожжевых клеток привела к выраженному подавляющему их рост и развитие эффекту. При этом уксусная кислота обладает более широким спектром антимикробного действия по сравнению с молочной. В то же время для смеси уксусной и молочной кислот известно синергетическое действие: они задерживают рост патогенных грамотрицательных энтеробактерий *Salmonella typhi* и *Escherichia coli* [9]. Ингибирующая активность уксусной и молочной кислот повышается по мере снижения pH, обе кислоты действуют совместно в слабобуферных средах: молочная кислота снижает pH среды, тем самым повышая токсичность уксусной кислоты.

Ингибирующая способность молочнокислых бактерий отмечена не только в отношении роста спорообразующих бактерий, но и в отношении спор этих микроорганизмов. Так, *Bacillus cereus* сначала постепенно ингибируется, а затем погибает при совместном культивировании с различными молочнокислыми бактериями. Рост

полностью прекращается при значениях pH 6,1, 6,0 и 5,6 в случае ацетата, формиата и лактата, соответственно. Что касается прорастания спор, формиат, лактат и ацетат ингибировали прорастание спор на 50% при pH 4,4, 4,3 и 4,2, соответственно [10]. Для других спорообразующих бактерий *Clostridium tyrobutyricum* показано, что вегетативные клетки были подавлены при pH 4,65, в то время, как прорастание спор было нарушено при pH 4,60. Немногие микроорганизмы способны расти при значениях pH ниже порогового значения pH молочнокислых бактерий. Так, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia*, *Proteus vulgaris* имеют нижнее значение pH, позволяющее рост, 4,4, *Salmonella typhi* – 4,0 – 4,5, *Pseudomonas aeruginosa* – 5,6, *Staphylococcus aureus* – 4,0, *Listeria monocytogenes* – 5,5 [11].

Управление по контролю за продуктами питания и лекарствами FDA (Food and Drug Administration, США) признало молочнокислые бактерии безопасными для здоровья человека и животных GRAS (Generally Recognized as Safe), а Европейское агентство по безопасности пищевых продуктов EFSA (European Food Safety Agency) присвоило им статус “Квалифицированной презумпции безопасности” QPS (“Qualified Presumption of Safety”) [12]. Поэтому важное значение они могут иметь и в качестве продуцентов аминокислот, в том числе и незаменимых, например, лейцина и изолейцина. Лейцин защищает мышечные ткани и может являться источником энергии. Его наличие способствует восстановлению костей, кожи, мышечной ткани и снижает уровень холестерина. Изолейцин необходим для синтеза гемоглобина, увеличивает выносливость и способствует восстановлению мышц [13].

Цель данной работы – провести сравнительный анализ продукции органических и аминокислот селекционированными штаммами пробиотических бактерий.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Объектами исследования служили селекционированные нами и запатентованные штаммы молочнокислых бактерий: *Lactobacillus plantarum* IMV B-7344, *Lactobacillus casei* IMV B-7343, *Lactobacillus acidophilus* RCAM 01850, *Lactococcus lactis subsp. lactis* RCAM 02909, *Lactococcus lactis subsp. cremoris* RCAM 05396, *Streptococcus thermophilus* RCAM 02910 [14-17].

В работе использованы стандартные питательные среды, применяемые в микробиологических исследованиях, в соответствии с МУ 2.3.2.2789-10: питательные среды по ГОСТ 10444.1 и ГОСТ 10444.11; среды для выращивания молочнокислых бактерий (АГВ, MRS, лак-

тобакагар) по ТУ 10-02-02-789-192-95; молоко обезжиренное по ГОСТ 10444.1. Учеты показателей и наблюдения за изучаемыми культурами вели в течение 10-ти суток сквашивания по общепринятым методикам [18].

Хроматографический анализ культуральной жидкости осуществляли на жидкостном хроматографе Shimadzu LC20 Prominence (Япония). Режим разделения: тандемная хроматография. Первая колонка - силикагель с привитой обращенной фазой Supelcosi Nautilus RPC18 250*4.1 мм, зернение 3.1 мкм, детектирование на выходе из колонки спектрофотометрическим детектором с диодной матрицей (расчет капроновой кислоты). Вторая колонка последовательно потоку – гель-проникающая с сульфатированным бута-диенстирольным сополимером в кислой форме Supelcogel C610H 310*7.1 мм, детектирование на выходе сканирующим спектрофотометрическим детектором при 210 нм и рефрактометрическим детектором (глицерин и этанол). Подвижная фаза изократическая - 0,01% раствор хлорной кислоты в дистиллированной воде, скорость потока 0,5 мл/мин.

Изучение качественного и количественного состава свободных аминокислот в образцах культуральной жидкости было проведено с помощью системы капиллярного электрофореза «Капель 105» фирмы «Люмекс», который основан на миграции анионных форм ФТК-производных аминокислот под действием электрического поля в кварцевом капилляре в фосфатном или боратном электролите и регистрации электрофореграммы при длине волны 254 нм. Идентификацию и количественное определение анализируемых веществ проводили с помощью программного обеспечения «Мультитор». Методика предусматривает проведение двух вариантов анализа. При первом анализе определили концентрацию лизина, тирозина, фенилаланина, гистидина, сумму лейцина и изолейцина, аргинина, метионина, валина, пролина, треонина, серина, аланина и глицина при температуре 30 °С. Кислотный гидролиз проводили по ГОСТ 13496.21-87. На втором этапе анализа определили концентрации глутаминовой и аспарагиновой кислот, а также цистеина при температуре 30 °С в соответствии с ГОСТом 13496.22-90.

Математическую обработку экспериментальных данных осуществляли с использованием программ Excel (Microsoft, США) и пакета Statistica 6.0 при уровне значимости P 0,05 (на 95 %-ном уровне надежности или доверительной вероятности) [19]. Полученные в ходе исследования показатели изучаемых штаммов сравнивали между собой. О степени изменчивости

судили по вариационному размаху (пределам варьирования) значений и среднему квадратичному отклонению от средней арифметической.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Проведенные исследования показали, что селекционированные штаммы лактобацилл, лактококков и стрептококка обладают широ-

ким спектром потребления единственных источников углерода и энергии (табл. 1). К ним относятся моно-, ди-, олиго-, полисахариды и многоатомные спирты. Полученные результаты утилизации различных веществ свидетельствуют, что пищевые потребности сложны и варьируют с учетом видовой и штаммовой принадлежности.

Таблица 1

Утилизация источников углерода селекционированными штаммами молочнокислых бактерий

Источник углерода	Штаммы					
	<i>L. plantarum</i> IMV B-7344	<i>L. casei</i> IMV B-7343	<i>L. acidophilus</i> RCAM 01850	<i>L. lactis</i> subsp. <i>Lactis</i> RCAM 02909	<i>L. lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> RCAM 05396	<i>S. thermophilus</i> RCAM 02910
сорбит	+	+	-	-	-	-
ксилоза	+	-	-	+	-	-
галактоза	+	+	+	+	+	+
глюкоза	+	+	+	+	+	+
маннит	+	+	-	+	-	-
мальтоза	+	+	+	+	+	+
фруктоза	+	+	+	+	+	+
манноза	+	+	+	+	+	+
сахароза	+	+	+	+	+	+
рафиноза	+	-	+	-	+	+
мелибиоза	+	-	-	-	-	-
лактоза	+	+	+	+	+	+
арабиноза	-	-	-	+	-	-
рамноза	-	-	-	+	-	-
ксилоза	-	-	-	+	-	-
целлобиоза	+	+	+	-	-	-
декстрин	-	-	+	+	+	-

Примечание: + - источник углерода утилизируется культурой; - - источник углерода не утилизируется культурой.

У молочнокислых кокков метаболизм бро- дильный по гомоферментативному типу с образованием, в основном (не менее 85 % от общей продукции органических кислот), молочной кислоты. Лактобациллы являются факультативно-гетероферментативными и образуют также другие кислоты, этанол и углекислый газ. Различия у штаммов были выявлены по физиолого-биохимическим свойствам, в частности устойчивости к факторам среды: желчи, фенолам, солям и спиртам, а также биологической активности, в том числе амило-, липо- и протеолитической (табл. 2). Показано, что рост не на-

блюдается в присутствии растворов хлористого натрия у штаммов *L. lactis* subsp. *lactis* RCAM 02909 (не менее 6,5 %), *S. thermophilus* RCAM 02910 (не менее 4,0 %), *L. lactis* subsp. *cremoris* RCAM 05396 (не менее 4,0 %). Высокой липолитической активностью и отсутствием амилолитической активности характеризовались практически все изучаемые штаммы, за исключением *S. thermophilus* RCAM 02910. Указанные характеристики следует учитывать при составлении композиции микроорганизмов в лекарственных препаратах и продуктах функционального питания пробиотического действия.

Таблица 2

Физиолого-биохимические свойства изучаемых штаммов молочнокислых бактерий

Свойства	Штаммы					
	<i>L. plantarum</i> IMV B-7344	<i>L. casei</i> IMV B-7343	<i>L.</i> <i>acidophilus</i> RCAM 01850	<i>L. lactis</i> <i>subsp. Lactis</i> RCAM 02909	<i>L. lactis</i> <i>subsp.</i> <i>Cremoris</i> RCAM 05396	<i>S.</i> <i>thermophilus</i> RCAM 02910
устойчивость, %						
Феноло-	0,4	0,4	0,5	0,0	0,0	0,0
Желче-	50,0	50,0	нд	40,0	40,0	0,0
Соле-	16,0	16,0	2,0	4,0	2,5	0,0
Спирто-	24,0	24,0	15,0-20,0	нд	нд	нд
литическая активность						
Амило-	-	-	нд	-	-	+
Липо-	+	+	-	+	+	-
Протео-	+	+	-	-	-	-

Примечание: + - свойство проявляется культурой; - - свойство не проявляется культурой; + - свойство нестабильно; нд – нет данных.

Анализ культуральной жидкости молочнокислых бактерий показал наличие низкомолекулярных веществ, обеспечивающих ее физико-химические свойства (табл. 3, 4).

Суммарное количество органических кислот находилось в пределах 15,92-30,71, а свободных аминокислот – 35,88-49,06 г/л. При этом рН варьировал от 3,69 до 5,32 единиц, а кислотность - от 70 до 172 °Тернера. Ценные технологические показатели, определяемые совокупностью синтезированных соединений, составили: динамическая вязкость 1,000-1,293 мПа·с, а относительная вязкость 0,826-1,055 единиц. Существенный вклад в реологические характеристики глубинных культур внесло наличие гиалуроновых кислот в концентрации 0,15 – 0,68 %. Адгезивные свойства штаммов важны при разработке поликомпонентных пробиотиков, так как они повышают эффективность воздействия на организм человека.

Определение предела кислотообразования является комплексной оценкой, показывающей процесс молочнокислого брожения с количественной стороны. Предельная кислотность, которую изучаемые штаммы достигали в течение 10-суточного культивирования, варьирует в широких пределах: от 95 до 320 °Т. Наименьшими показателями характеризовался *L. lactis subsp. lactis* RCAM 02909, а наибольшими - *L. acidophilus* RCAM 01850.

Результаты анализа качественного состава и количественного определения свободных органических и аминокислот в образцах глубинных моно-

культур молочнокислых бактерий представлены в таблице 4. Преобладающей кислотой у всех изучаемых штаммов является молочная (9,09-23,01 г/л). К основным, продуцируемым штаммами лактобацилл, относятся уксусная, масляная и капроновая кислоты (3,21-8,08 г/л). Следует отметить продукцию лактобациллами яблочной и янтарной кислот (0,06-0,59 г/л) в отличие от лактококков и стрептококка, которые не синтезируют эти кислоты даже в следовых количествах.

Контент-анализ литературных источников и собственных данных показал, что культуры штаммов молочнокислых бактерий обладают выраженной биохимической активностью в отношении аминокислот. В процессе культивирования микроорганизмов в молочном субстрате при оптимальной температуре наблюдался глубокий гидролиз белков, что привело к увеличению количества свободных аминокислот по сравнению с их содержанием в исходной питательной среде. Существенные количества в культуральной жидкости были отмечены лейцина и изолейцина (8,63-17,20 г/л), глутамина (9,83-10,60 г/л) и пролина (5,42-7,48 г/л). Лейцин и изолейцин относятся к незаменимым аминокислотам, которые не синтезируются клетками животных и человека и поступают в организм в составе белков пищи. Их отсутствие или недостаток в пище приводит к отрицательному балансу азота в организме, нарушениям биосинтеза белков, нарушению обмена веществ, остановке роста и развития, нервным расстройствам, депрессии и другим негативным последствиям.

Таблица 3

Химический состав метаболитов (г/л КЖ), определяющих физико-химические показатели культуральной жидкости селекционированных штаммов молочнокислых бактерий

Показатель	Штаммы					
	<i>L. plantarum</i> IMV B-7344	<i>L. casei</i> IMV B-7343	<i>L.</i> <i>acidophilus</i> RCAM 01850	<i>L. lactis</i> <i>subsp. Lactis</i> RCAM 02909	<i>L. lactis</i> <i>subsp.</i> <i>Cremeris</i> RCAM 05396	<i>S.</i> <i>thermophilus</i> RCAM 02910
Органические кислоты	26,79	30,47	30,71	20,86	17,58	15,92
Аминокислоты	44,01	45,41	45,37	42,35	35,88	49,06
Спирты	1,63	1,98	1,86	нд	нд	нд
Кислотность, °Т	110-120	90-100	170-172	70-75	75-90	76-78
Предельная кислотность, °Т	130-189	110-169	238-320	95-120	110-182	106-146
рН, ед.	4,45-5,21	3,69-4,49	4,37-4,74	4,70-4,80	4,92-5,32	4,89-5,02
Динамическая вязкость, мПа·с	1,034-1,104	1,000-1,121	1,093-1,135	1,100-1,141	1,024-1,204	1,023-1,293
Относительная вязкость, ед.	0,826-0,942	0,837-0,951	0,880-0,926	0,897-0,931	0,836-0,982	0,834-1,055

Примечание: нд – нет данных.

Суммарное количество свободных аминокислот в процессе глубинного культивирования составило 35,88-49,06 г/л, в том числе незаменимых 11,81-21,21 г/л. Наибольшим количеством незаменимых аминокислот характеризовались культуры термофильного стрептококка и ацидофильной палочки.

ОБСУЖДЕНИЕ

Большинство пробиотических микроорганизмов относятся к молочнокислым бактериям, которые не только изменяют состав микробиоты, но и образуют метаболиты с противомикробными, иммуногенными и регенеративными свойствами [20].

Лактобактерии снижают рН содержимого кишечного тракта в результате выработки в высоких концентрациях ацетата, пропионата и бутирата, создавая благоприятные условия для собственного выживания и препятствуя адгезии и переносу патогенных микроорганизмов. Бутират действует как антиканцерогенный агент и образуется лактобациллами из лактата и ацетата [21]. Молочная кислота подавляет высвобождение провоспалительных цитокинов из эпителиальных клеток, стимулирует антимикробную активность нейтрофилов [22].

Живые лактобактерии обладают преимуществом при использовании их в качестве

противомикробных агентов, вырабатывающих бактериоцины, органические кислоты, перекись водорода, диацетил, реутерин, которые предотвращают адгезию и рост патогенов [23]. Кроме того, было выявлено подавление продукции сигнальных молекул QS (ацил-гомосерин-лактон) в биопленках, образованных *P. aeruginosa* [24].

В отличие от живых микробов пробиотические лизаты практически не имеют побочного действия и оказывают различные биологические эффекты. Было показано, что иммуногенные белковые компоненты бактериальных лизатов, предотвращают респираторные и кишечные инфекции, повышая уровень IgA, обусловленного Т-клетками и антиген-определяемой индукцией иммуноглобулина, лизаты *L. acidophilus* обладают эффектами иммунологического адъюванта для активации иммунного ответа [25, 26]. Наиболее предпочтительным применением пробиотических лизатов является лечение воспалительных заболеваний, так как воздействие живых бактерий связано с чрезмерной активацией иммунной системы. В экспериментах *in vitro* лизаты *L. casei* усиливали пролиферацию кератиноцитов, а лизаты *L. plantarum* способствовали миграции кератиноцитов, ускоряя реэпителизацию клеточного монослоя, имитирующего раневое повреждение [27].

Таблица 4

Продуктивность селекционированных штаммов молочнокислых бактерий по фармакологически ценным метаболитам, г/л КЖ

Соединения	Штаммы					
	<i>L. plantarum</i> IMV B-7344	<i>L. casei</i> IMV B-7343	<i>L.</i> <i>acidophilus</i> RCAM 01850	<i>L. lactis</i> <i>subsp. Lactis</i> RCAM 02909	<i>L. lactis</i> <i>subsp.</i> <i>Cremonis</i> RCAM 05396	<i>S.</i> <i>thermophilus</i> RCAM 02910
Органические кислоты						
молочная	9,0901	16,8892	23,0055	20,8599	17,5843	15,9521
уксусная	8,0784	3,6816	5,8855	следы	0,0000	0,0000
масляная	3,7514	3,2068	нд	нд	нд	нд
винная	0,0025	0,0121	нд	нд	нд	нд
яблочная	0,0602	0,2353	0,1478	0,0000	0,0000	0,0000
янтарная	0,4545	0,5949	0,5747	0,0000	0,0000	0,0000
пропионовая	0,3921	0,5678	нд	нд	нд	нд
капроновая	4,9579	5,2818	нд	нд	нд	нд
Аминокислоты						
лизин	0,77	0,80	0,87	0,78	0,74	0,72
тирозин	1,30	1,28	1,38	1,35	0,78	1,08
фенилаланин	1,72	1,81	1,82	1,08	1,22	1,75
гистидин	0,61	0,67	0,71	0,53	0,63	0,68
лейцин/изолейцин	17,00	16,20	17,20	16,90	8,63	17,00
метионин	0,48	0,56	0,52	0,42	0,49	0,58
валин	1,10	1,11	1,13	1,45	1,95	2,26
пролин	5,44	6,40	5,42	5,63	6,83	7,48
треонин	0,54	0,68	0,58	0,45	0,73	1,16
серин	1,66	1,69	1,65	1,03	1,19	1,68
аланин	1,04	1,21	1,41	1,03	1,05	0,98
глицин	0,48	0,65	0,45	0,43	0,69	0,71
аргинин	0,67	0,70	0,71	0,38	0,72	0,76
аспарагин	1,10	1,15	1,12	0,69	0,76	1,26
глутамин	10,10	10,50	10,40	10,20	9,83	10,60
сумма незаменимых	20,51	19,25	20,99	19,63	11,81	21,21

Примечание: нд – нет данных.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Выявлено, что у всех изучаемых штаммов метаболизм бродильного типа с образованием молочной, уксусной, масляной и капроновой кислот с уровнем суммарной продукции до 29,06 г/л. Содержание свободных аминокислот в процессе глубинного культивирования составило 35,88-49,06 г/л, в том числе незаменимых

11,81-21,21 г/л. Существенные количества в культуральной жидкости были отмечены лейцина и изолейцина (8,63-17,20 г/л), глутамина (9,83-10,60 г/л) и пролина (5,42-7,48 г/л), причем первые две аминокислоты относятся к незаменимым. Полученные результаты необходимо учитывать при разработке поликомпонентных пробиотиков, так как эти факторы могут в

большой степени определять взаимоотношения внутри консорциума бактериального препарата и эффективность его воздействия на патогенные микроорганизмы и человека.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

ЛИТЕРАТУРА

1. Halima B. A., Alkali Z. D., Shafiu N. A. Lactic acid bacteria: a review. *International Journal of Advanced Academic Research | Sciences, Technology and Engineering*. 2020;6(3):21-36.
2. Haller M., Mironov S., Karschin A., Richter D.W. Dynamic activation of K(ATP) channels in rhythmically active neurons. *The Journal of Physiology*. 2001;537(1):69-81. doi:10.1111/j.1469-7793.2001.0069k.x.
3. Gadotti C., Nelson L., Diez-Gonzalez F. Inhibitory effect of combinations of caprylic acid and nisin on *Listeria monocytogenes* in queso fresco. *Food Microbiology*. 2014;39:1-6. doi:10.1016/j.fm.2013.10.007.
4. Lavermicocca, P., Valerio, F., Evidente, A., Lazzaroni, S., Corsetti, A., Gobetti, M. Purification and characterization of novel antifungal compounds by sourdough *Lactobacillus plantarum* 21B. *Applied and Environmental Microbiology*. 2000;66:4084-4090. doi:10.1128/AEM.66.9.4084-4090.2000.
5. Stoyanova L., Ustiugova E., Netrusov A. Antibacterial metabolites of lactic acid bacteria: Their diversity and properties. *Appl. Biochem. Microbiol.* 2012;48:229-243 doi: 10.1134/S0003683812030143.
6. Alatar F., Bushell F., Sannasiddappa T., Herbert J., Falciani F., Lund P. Molecular approaches to understand the effect of acetic acid in uropathogenic *E. coli*. *Access Microbiology*. 2019;1(1A). doi.org/10.1099/acmi.ac2019.po0478.
7. Cortés-Zavaleta O., López-Malo A., Hernández-Mendoza A., García H.S. Antifungal activity of lactobacilli and its relationship with 3-phenyllactic acid production. *Intern. J. of Food Micro-biol.* 2014;173:30-35.
8. Florou-Paneri P., Christaki E., Bonos E. Lactic acid bacteria as source of functional ingredients (w) Lactic Acid Bacteria – R & D for Food, Health and Livestock Purposes, red. M. Kongo, InTech, Rijeka; 2013:589-614.
9. Lavermicocca P., Valerio F., Evidente A., Lazzaroni S., Corsetti A., Gobetti M. Purification and characterization of novel antifungal compounds by sourdough *Lactobacillus plantarum* 21B. *Applied and Environmental Microbiology*. 2000;66:4084-4090 doi:10.1128/AEM.66.9.4084-4090.2000.
10. Nuryana I., Andriani A., Lisdiyanti P., and Yopi. Analysis of organic acids produced by lactic acid bacteria. *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science* 2019;251. doi:10.1088/1755-1315/251/1/012054.
11. Бибарсова А. А., Семенова Е. Ф., Жученко Е. В. Изучение влияния современных препаратов антибиотиков на некоторые пробиотические штаммы и их ассоциативную культуру. *Вестник Воронежского университета. Серия «Химия. Биология. Фармация»*. 2015;2:101-105.
12. López-Seijas J., García-Fraga B., Abigail F. da Silva, Sieiro C. Wine Lactic Acid Bacteria with Antimicrobial Activity as Potential Biocontrol Agents against *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersici*. *Agronomy*. 2020;10(1):31. doi:10.3390/agronomy10010031
13. Nowak A., Śliżewska K., Libudzisz Z. Probiotyki – historia i mechanizmy działania. *Żywn. Nauka Technol. Jakość*. 2010;71:5-19.
14. Ржевская В. С., Теплицкая Л. М., Отурина И. П. Изучение биологических свойств штаммов молочнокислых бактерий. *Ученые записки Таврического национального университета им В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия»*. 2014;27(66),1:145-160.
15. Патент № 2524117. РФ. Штамм бактерии *Lactobacillus acidophilus* RCAM01850, используемый для приготовления кисломолочного продукта / Бибарсова А. А., Семенова Е. Ф., Моисеева И. Я., Степанова А. П., Ловцова Л. Б., (РФ) Заявка № 2013131302/10 (046807), 08.07.2013 г., опубл. 27.07.2014. Бюл. № 21.
16. Патент № 2588386. РФ. Штамм бактерии *Lactococcus lactis* - компонент молочнокислой закваски / Бибарсова А. А., Семенова Е. Ф., Моисеева И. Я., Степанова А. П., Ловцова Л. Б. (РФ) Заявка № 2015118880, 19.05.2015, опубл. 27.06.2016. Бюл. № 18.
17. Патент № 2590716. РФ. Штамм бактерии *Streptococcus thermophilus*, используемый для приготовления кисломолочного продукта / Бибарсова А. А., Семенова Е. Ф., Моисеева И. Я., Степанова А. П., Маркелова Н. Н. (РФ) Заявка № 2015119939, 26.05.15, опубл. 10.07.2016. Бюл. № 19.
18. Степанова А. П., Ловцова Л. Б., Бибарсова А.А., Золкина Н. Г., Семенова Е. Ф. Скрининговые исследования культурально-морфологических признаков и физиолого-биохимических свойств коллекционных штаммов молочнокислых бактерий. *Вестник ВНИИ жиров*. 2020;1-2:83-87. doi: 10.25812/VNIIG.2020.43.29.007.
19. Трухачёва Н. Математическая статистика в медико-биологических исследованиях с применением пакета Statistica. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2012.
20. Lukic J., Chen V., Strahinic I. et al. Probiotics or prohealers: the role of beneficial bacteria in

- tissue repair. *Wound Repair and Regeneration*. 2017;25(6):912-922. doi: 10.1111 / wr.12607
21. Cerdó T., García-Santos J. A., Bermúdez M., et al. The role of probiotics and prebiotics in the prevention and treatment of obesity. *Nutrients*. 2019;11(3):635. doi: 10.3390 / nu11030635
22. Sivamaruthi B. S., Kesika P., Chaiyasut C. The role of probiotics in colorectal cancer management. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2020;2020(40). doi: 10.1155/2020/3535982
23. Masood M. I., Qadir M. I., Shirazi J. H., et al. Beneficial effects of lactic acid bacteria on human beings. *Critical reviews in microbiology*. 2011;37(1):91-98. doi:10.3109 / 1040841X.2010.536522
24. Valdéz J. C., Peral M. C., Rachid M, Valdez J. C. et al. Interference of *Lactobacillus plantarum* with *Pseudomonas aeruginosa* in vitro and in infected burns: the potential use of probiotics in wound treatment. *Clinical microbiology and infection*. 2005;11(6):472-479. doi: 10.1111 / j.1469-0691.2005.01142.x
25. Pfeifferle P. I., Prescott S. L., Kopp M. Microbial influence on tolerance and opportunities for intervention with prebiotics/probiotics and bacterial lysates. *Journal of allergy and clinical immunology*. 2013;131(6):1453-1463. doi: 10.1016 / j.jaci.2013.03.020
26. Zhuo Q., Yu B., Zhou J. Lysates of *Lactobacillus acidophilus* combined with CTLA-4-blocking antibodies enhance antitumor immunity in a mouse colon cancer model. *Scientific reports*. 2019;9(1):1-12. doi: 20128(2019).
27. Brandi J., Cheri S., Manfredi M., et al. Exploring the wound healing, anti-inflammatory, anti-pathogenic and proteomic effects of lactic acid bacteria on keratinocytes. *Scientific reports*. 2020;10(1):1-14. doi: 11572(2020).
- and characterization of novel antifungal compounds by sourdough *Lactobacillus plantarum* 21B. *Applied and Environmental Microbiology*. 2000;66:4084-4090. doi:10.1128/AEM.66.9.4084-4090.2000
5. Stoyanova L., Ustiugova E., Netrusov A. Antibacterial metabolites of lactic acid bacteria: Their diversity and properties. *Appl. Biochem. Microbiol*. 2012;48:229–243 doi: 10.1134/S0003683812030143
6. Alatar F., Bushell F., Sannasiddappa T., Herbert J., Falciani F., Lund P. Molecular approaches to understand the effect of acetic acid in uropathogenic *E. coli*. *Access Microbiology*. 2019;1(1A). doi.org/10.1099/acmi.ac2019.po0478
7. Cortés-Zavaleta O., López-Malo A., Hernández-Mendoza A., García H.S. Antifungal activity of lactobacilli and its relationship with 3-phenyllactic acid production. *Intern. J. of Food Micro-biol*. 2014;173:30-35.
8. Florou-Paneri P., Christaki E., Bonos E. Lactic acid bacteria as source of functional ingredients (w) Lactic Acid Bacteria – R & D for Food, Health and Livestock Purposes, red. M. Kongo, InTech, Rijeka; 2013:589–614.
9. Lavermicocca P., Valerio F., Evidente A., Lazzaroni S., Corsetti A., Gobbetti M. Purification and characterization of novel antifungal compounds by sourdough *Lactobacillus plantarum* 21B. *Applied and Environmental Microbiology*. 2000;66:4084-4090 doi:10.1128/AEM.66.9.4084-4090.2000
10. Nuryana I., Andriani A., Lisdiyanti P., and Yopi. Analysis of organic acids produced by lactic acid bacteria. *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science* 2019;251. doi:10.1088/1755-1315/251/1/012054
11. Bibarsova A. A., Semenova E. F., Zhuchenko E. V. Study of the influence of modern antibiotic preparations on some probiotic strains and their associative culture. *Voronezh University Bulletin. Series «Chemistry. Biology. Pharmacy»*. 2015;2:101-105. (In Russ).
12. López-Seijas J., García-Fraga B., Abigail F. da Silva, Sieiro C. Wine Lactic Acid Bacteria with Antimicrobial Activity as Potential Biocontrol Agents against *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersici*. *Agronomy*. 2020;10(1):31. doi: 10.3390/agronomy10010031
13. Nowak A., Śliżewska K., Libudzisz Z. Probiotyki – historia i mechanizmy działania. *Żywn. Nauka Technol. Jakość*. 2010;71:5–19.
14. Rzhetskaya V. S., Teplitskaya L. M., Oturina I. P. Study of the biological properties of strains of lactic acid bacteria. *Scientific notes of the V.I. Vernadsky. Series «Biology, Chemistry»*. 2014;27(66),1:145-160. (In Russ).

REFERENCES

- Halima B. A., Alkali Z. D., Shafiu N. A. Lactic acid bacteria: a review. *International Journal of Advanced Academic Research | Sciences, Technology and Engineering*. 2020;6(3):21-36.
- Haller M., Mironov S., Karschin A., Richter D. W. Dynamic activation of K(ATP) channels in rhythmically active neurons. *The Journal of Physiology*. 2001;537(1):69-81. doi:10.1111/j.1469-7793.2001.0069k.x
- Gadotti C., Nelson L., Diez-Gonzalez F. Inhibitory effect of combinations of caprylic acid and nisin on *Listeria monocytogenes* in queso fresco. *Food Microbiology*. 2014;39:1–6. doi:10.1016/j.fm.2013.10.007
- Lavermicocca, P., Valerio, F., Evidente, A., Lazzaroni, S., Corsetti, A., Gobbetti, M. Purification

15. Patent 2524117. RU. The strain of the bacterium *Lactobacillus acidophilus* RCAM01850 used for the preparation of a fermented milk product / Bibarsova A. A., Semenova E. F., Moiseeva I. Ya., Stepanova A. P., Lovtsova L. B., (RU.) Application 2013131302/10 (046807), 08.07.2013, publ. 07/27/2014. Bul. No. 21. (In Russ.).
16. Patent 2588386. RU. The strain of the bacterium *Lactococcus lactis* is a component of lactic acid sauerkraut / Bibarsova A. A., Semenova E. F., Moiseeva I. Ya., Stepanova A. P., Lovtsova L. B. (RU.) Application No. 2015118880, 05/19/2015, publ. 06/27/2016. Bul. No. 18. (In Russ.).
17. Patent 2590716. RU. The strain of the bacterium *Streptococcus thermophilus* used for the preparation of a fermented milk product / Bibarsova A. A., Semenova E. F., Moiseeva I. Ya., Stepanova A. P., Markelova N. N. (RU.) Application No. 2015119939, 05/26/15, publ. 10.07.2016. Bul. No. 19. (In Russ.).
18. Stepanova A. P., Lovtsova L. B., Bibarsova A. A., Zolkina N. G., Semenova E. F. Screening studies of cultural and morphological characters and physiological and biochemical properties of collection strains of lactic acid bacteria. VNIIFat Bulletin. 2020;1-2:83-87. doi: 10.25812/VNIIG.2020.43.29.007 (In Russ.).
19. Trukhacheva N. Mathematical statistics in biomedical research using the Statistica package. M.: GEOTAR-Media; 2012. (In Russ.).
20. Lukic J., Chen V., Strahinic I. et al. Probiotics or prohealers: the role of beneficial bacteria in tissue repair. Wound Repair and Regeneration. 2017;25(6):912-922. doi: 10.1111/wrr.12607
21. Cerdó T., García-Santos J. A., Bermúdez M. The role of probiotics and prebiotics in the prevention and treatment of obesity. Nutrients. 2019;11(3):635. doi: 10.3390/nu11030635
22. Sivamaruthi B. S., Kesika P., Chaiyasut C. The role of probiotics in colorectal cancer management. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. 2020;2020(40). doi: 10.1155/2020/3535982
23. Masood M. I., Qadir M. I., Shirazi J. H., et al. Beneficial effects of lactic acid bacteria on human beings. Critical reviews in microbiology. 2011;37(1):91-98. doi: 10.3109/1040841X.2010.536522
24. Valdéz J. C., Peral M. C., Rachid M, Valdez J. C. et al. Interference of *Lactobacillus plantarum* with *Pseudomonas aeruginosa* in vitro and in infected burns: the potential use of probiotics in wound treatment. Clinical microbiology and infection. 2005;11(6):472-479. doi: 10.1111/j.1469-0691.2005.01142.x
25. Pfefferle P. I., Prescott S. L., Kopp M. Microbial influence on tolerance and opportunities for intervention with prebiotics/probiotics and bacterial lysates. Journal of allergy and clinical immunology. 2013;131(6):1453-1463. doi: 10.1016/j.jaci.2013.03.020
26. Zhuo Q., Yu B., Zhou J. Lysates of *Lactobacillus acidophilus* combined with CTLA-4-blocking antibodies enhance antitumor immunity in a mouse colon cancer model. Scientific re-ports. 2019;9(1):1-12. doi: 20128 (2019).
27. Brandi J., Cheri S., Manfredi M. Exploring the wound healing, anti-inflammatory, anti-pathogenic and proteomic effects of lactic acid bacteria on keratinocytes. Scientific reports. 2020;10(1):1-14. doi: 11572 (2020).

УДК: 616(006+009.7):[612,825:576.311.347:577.17.6]:616.092.9

СОДЕРЖАНИЕ НЕЙРОСТЕРОИДОВ В МИТОХОНДРИЯХ КЛЕТОК КОРЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА ПРИ РАЗВИТИИ МЕЛАНОМЫ В16/ F10 НА ФОНЕ ХРОНИЧЕСКОЙ НЕЙРОГЕННОЙ БОЛИ

Франциянц Е. М., Нескубина И. В., Каплиева И. В., Шихлярова А. И., Сурикова Е. И.,

Черярина Н. Д., Бандовкина В. А., Погорелова Ю. А., Шапошников А. И., Геворкян Ю. А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Россия, 344037, Ростовская обл., г. Ростов-на-Дону, ул. 14 линия, 63; Тел. раб.: 8(863)2001000-(482) или – (483), e-mail: super.gormon@yandex.ru

Для корреспонденции: Ирина Валерьевна Нескубина – к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. Адрес: 344037, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, ул. 14 линия, д. 63. E-mail: nes kubina.irina@mail.ru

For correspondence: Irina V. Neskubina, C Sc. (Biology), senior researcher at Laboratory of Malignant Tumor Pathogenesis Study, Federal State Budgetari Institution «National Medical Research Centre for Oncology» of Ministry of Health of the Russian Federation, 344037, Rostov-on-Don, 14 liniya, 63; E-mail: nes kubina.irina@mail.ru

Информация об авторах:

Frantsiyants E. M., <http://orcid.org/0000-0003-3618-6890>

Neskubina I. V., <https://orcid.org/0000-0002-7395-3086>

Kaplieva I. V., <http://orcid.org/0000-0002-3972-2452>

Shikhlyarova A. I., <https://orcid.org/0000-0003-2943-7655>

Surikova E. I., <http://orcid.org/0000-0002-4318-7587>

Cheryarina N. D., <http://orcid.org/0000-0002-3711-8155>

Bandovkina V. A., <http://orcid.org/0000-0002-2302-8271>

Pogorelova Yu. A., <http://orcid.org/0000-0002-2674-9832>

Shaposhnikov A. V., <http://orcid.org/0000-0001-6881-2281>

Gevorkyan Yu. A., <http://orcid.org/0000-0003-1957-7363>

РЕЗЮМЕ

Цель. Изучить уровень нейростероидных гормонов в митохондриях клеток коры головного мозга на этапах роста меланомы В16/F10, сопряженной с хронической нейрогенной болью, у мышей линии С57BL/6. Работа выполнена на мышах линии С57BL/6 обоего пола (n=336). Экспериментальные группы: интактная; контрольная - модель хронической нейрогенной боли (ХНБ); группа сравнения - мыши с меланомой (В16/F10); основная (ХНБ+В16/F10). В митохондриальных образцах методом ИФА определяли концентрацию: эстрадиола (пг/г белка), эстрона (пг/г белка), прогестерона (нг/г белка), общего тестостерона (нг/г белка), свободного тестостерона (пг/г белка). В норме в митохондриях коры головного мозга самок уровень эстрадиола превышал значения у самцов в 3,1 раза, а эстрон, прогестерон, общий и свободный тестостерон были снижены в 6,4 раза, в 2,7 раза, в 2,0 раза и в 2,5 раза. В митохондриях самок при ХНБ по сравнению с интактными показателями снижался уровень эстрадиола в 3,4 раза и повышались эстрон и тестостерон в 1,7 раза (p<0,05), в 3,9 раза. К 3 недели роста меланомы по сравнению с соответствующими интактными значениями у самок снижался эстрадиол в 3,1 раза и увеличивался прогестерон в 3,1 раза, у самцов снижался эстрадиол в 1,5 раза (p<0,05). К 3 недели развития меланомы на фоне ХНБ в митохондриях у самок относительно контроля был снижен уровень эстрадиола и эстрона в 1,4 раза (p<0,05) и уровень свободного тестостерона в 1,6 раза (p<0,05), а у самцов увеличивался эстрон в 1,5 раза (p<0,05) и снижался общий прогестерон в 2,9 раза. Опухолевый процесс способствует включению опосредованных механизмов своего влияния, что отражается на нейростероидном статусе митохондрий коры головного мозга и различной митохондриальной реакции сообразно полу животного.

Ключевые слова: митохондрии клеток, кора головного мозга, меланома В16/F10, хроническая нейрогенная боль, эстрадиол, эстрон, прогестерон, тестостерон, мыши.

LEVELS OF NEUROSTEROIDS IN MITOCHONDRIA OF THE BRAIN CORTEX CELLS DURING THE DEVELOPMENT OF B16/F10 MELANOMA IN PRESENCE OF CHRONIC NEUROGENIC PAIN

Frantsiyants E. M., Neskubina I. V., Kaplieva I. V., Shikhlyarova A. I., Surikova E. I.,

Cheryarina N. D., Bandovkina V. A., Pogorelova Yu. A., Shaposhnikov A. V., Gevorkyan Yu. A.

Federal State Budgetari Institution «National Medical Research Centre for Oncology» of Ministry of Health of the Russian Federation, 344037, Rostov-on-Don, 14 liniya, 63, building 8; Tel. work.: 8(863)2001000-(482) or – (483), e-mail: super.gormon@yandex.ru

SUMMARY

Aim. An analysis of levels of neurosteroids in mitochondria of the brain cortex cells during the development of B16/F10 melanoma in presence of chronic neurogenic pain in C57BL/6 mice. The study included male and female C57BL/6 mice (n=336). Experimental groups were: intact animals; the control group with a model of chronic neurogenic pain (CNP); the comparison group – mice with melanoma (B16/F10); the main group (CNP+B16/F10). Levels of estradiol (pg/g protein), estrone (pg/g protein), progesterone (ng/g protein), total testosterone (ng/g protein), and free testosterone (pg/g protein) were determined by ELISA in mitochondrial samples. Normal levels of estradiol in mitochondria of the brain cortex cells in females were 3.1 times higher than in males, while estrone, progesterone, and total and free testosterone were decreased by 6.4, 2.7, 2.0 and 2.5 times. In females with CNP, estradiol levels were 3.4 times lower than in intact females, and levels of estrone and testosterone were 1.7 (p<0.05) and 3.9 times higher. By the third week of melanoma growth, females demonstrated lower estradiol (by 3.1 times) and higher progesterone (by 3.1 times), compared intact values; estradiol in males decreased by 1.5 times (p<0.05). By the third week of melanoma growth in presence of CNP, levels of estradiol in females were 1.4 times lower than in controls (p<0.05), estrone 1.4 times lower (p<0.05), and free testosterone 1.6 times lower (p<0.05). In males, estrone increased by 1.5 times (p<0.05), and total progesterone decreased by 2.9 times. The tumor growth triggers mediated mechanisms of its influence, which is reflected in the neurosteroid status in the cerebral cortex mitochondria and different reactions depending on the animal gender.

Key words: cell mitochondria, brain cortex cells, B16/F10 melanoma, chronic neurogenic pain, estradiol, estrone, progesterone, testosterone, mice.

Половые различия в физиологии мозга и, как следствие, половые различия при патологии обычно признаются, однако часто игнорируются в эпидемиологических и экспериментальных исследованиях, что приводит к многочисленным пробелам в интерпретации данных [1]. Глубокое понимание эффектов влияния половых стероидов на организм при различных патологиях может дать теоретическое обоснование для разработки терапевтического сопровождения с учетом пола и возраста. Половые стероиды - это гормоны, полученные из холестерина, которые вырабатываются гонадами, надпочечниками и плацентой. Они могут достигать и преодолевать гематоэнцефалический барьер, попадая в центральную нервную систему, где в свою очередь модулируют несколько физиологических функций [2]. Кроме того, некоторые нейроны и глиальные клетки также способны синтезировать половые гормоны *de novo* независимо от периферических тканей, которые обычно называют нейростероидами. Эти нейростероиды химически и биологически идентичны циркулирующим стероидам [2].

Митохондрии участвуют в стероидогенезе, поскольку первый и лимитирующий этап заключается в переносе холестерина внутрь этих органелл. В некоторых исследованиях выдвигается предположение о том, что ферменты, участвующие в нейростероидогенезе, имеют половую зависимость, внося свой вклад в гормональный половой фон, наблюдаемый у мужчин и женщин. Этот факт был доказан на животных моделях, но все еще требует рассмотрения на людях [3]. Женские половые гормоны и прогестерон в физиологических концентрациях обладают нейропротекторным действием *in vivo* и *in vitro* [4,5]. Однако мужские стероиды - андрогены обычно проявляют нейротоксичность [6]. Нейропротекторные эффекты половых гормонов

могут быть реализованы через геномные и негеномные механизмы [1]. Геномные механизмы запускаются через взаимодействие гормонов с их рецептором: рецептором эстрогенов (ER) α или β , рецептором прогестерона или рецептором андрогенов [1]. Негеномный механизм реализуется через каскады протеинкиназ, которые приводят к фосфорилированию и последующему изменению цитоплазматических белков - это путь гормональной активации эндотелиальной синтазы оксида азота (eNOS) [1].

Хроническая нейропатическая боль определяется как «боль, возникающая в следствие прямого поражения или заболевания, влияющая на соматосенсорную систему» [7]. Известно, что повреждение нервов вызывает сложные молекулярные и биохимические изменения в первичных афферентах, контурах дорзального рога (нейроны и особенно микроглия), а также на более высоких уровнях нейраксиса [8]. Ряд исследователей рассматривают половые гормоны как факторы, влияющие на болевую чувствительность. Однако конкретное модулирующее воздействие половых гормонов на боль у мужчин и женщин требует дальнейшего изучения [9]. Болевой синдром зачастую сопровождается злокачественным процессом. Причины боли у онкологических больных, как правило, многофакторные: прямые и косвенные эффекты рака, побочное действие противоопухолевой терапии, сопутствующие заболевания [10].

На основании известных фактов, приведенных выше, возникает необходимость в изучении половых гормонов в митохондриях клеток с учетом пола при патологических процессах. Кроме того, актуальным является вопрос о степени влияния патологии и в частности злокачественного процесса на функциональные особенности митохондрий в немалигнизированных органах в зависимости от пола. Но еще больший научный

интерес возникает, в том случае, когда речь идет о сочетанном влиянии двух патологических процессов на организм и какие при этом происходят перестройки в органах на субклеточном уровне с учетом половой принадлежности.

Цель. Изучить уровень нейростероидных гормонов в митохондриях клеток коры головного мозга на этапах роста меланомы B16/F10, сопряженной с хронической нейрогенной болью, у мышей линии C57BL/6.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа выполнена на мышах самцах и самках линии C57BL/6 (n=336) 8 недельного возраста с начальной массой 21-22 г. Животные были получены из ФГБУ МНИЦ Научный центр биомедицинских технологий «Андреевка» ФМБА (Московская область). В работе использовали клеточную линию мышинной меланомы B16/F10, метастазирующую в легкие. Опухолевый штамм получен из ФГБУ «МНИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России. Работа с животными проводилась в соответствии с правилами «Европейской конвенции о защите животных, используемых в экспериментах» (Директива 86/609/ЕЕС) и Хельсинкской декларации, а также в соответствии с «Международными рекомендациями по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» и приказом Минздрава России от 19 июня 2003 г. № 267 «Об утверждении правил лабораторной практики». Животные содержались при естественном режиме освещения со свободным доступом к воде и пище. Комиссией по биоэтике ФГБУ «МНИЦ онкологии» Минздрава России от 19. 12. 2019, был одобрен протокол исследования (протокол этического комитета №14/74). Манипуляции с животными производили в боксе с соблюдением общепринятых правил асептики и антисептики.

Животные (n=336) каждого пола были распределены методом случайной выборки на следующие экспериментальные группы: интактную группу (♂ n=21; ♀ n=21); контрольную группу (♂ n=21; ♀ n=21) – воспроизведение модели хронической нейрогенной боли (ХНБ) [11]; группу сравнения (♂ n=63; ♀ n=63) – мыши со стандартной подкожной перевивкой меланомы (B16/F10); основную группу (♂ n=63; ♀ n=63) (ХНБ+B16/F10) – мыши, которым меланому перевивали через 3 недели после создания модели ХНБ.

Мышам основной группы (ХНБ+B16/F10) осуществляли перевязку седалищных нервов с 2-х сторон под ксила-золетилловым наркозом: ксилазин (препарат Ксила) внутримышечно, в дозе 0,05 мл/кг (по инструкции), через 10 ми-

нут вводили Золетил-50 в дозе 10 мг/100г. Через 3 недели после заживления операционной раны подкожно под правую лопатку вводили 0,5 мл взвеси опухолевых клеток меланомы B16/F10 в физиологическом растворе в разведении 1:10. Животным из группы сравнения трансплантировали меланому B16/F10 подкожно в той же дозе и объеме, что и в основной группе, но без воспроизведения модели хронической боли. Животных из основной группы и группы сравнения декапитировали в следующие сроки роста экспериментальной меланомы B16/F10: 1-я неделя – 7 день роста, 2-я неделя – 14 день роста и 3-я неделя – 21 день роста.

После декапитации животных на гильотине быстро извлекали мозг и выделяли из коры головного мозга митохондрии по методу Егоровой М.В., Афанасьева С.А. (2011) [12] с применением дифференциального центрифугирования на высокоскоростной рефрижераторной центрифуге Avanti J-E, BECTAN COULTER, USA. Полученные митохондриальные образцы (концентрация белка 4-6 г/л) до анализа хранили при -80°C в среде выделения. В митохондриальных образцах с помощью тест-систем на ИФА-анализаторе (Infinite F50 Tecan, Austria) определяли концентрацию: эстрадиола (пг/г белка), эстрогена (пг/г белка) (DBC, Канада); прогестерона (нг/г белка), общего тестостерона (нг/г белка), свободного тестостерона (пг/г белка) (ХЕМА, Россия) и концентрацию белка в мг/мл - биуретовым методом (Ольвекс Диагностикум, Россия) на автоматическом анализаторе ChemWell (Awareness Technology INC, USA).

Статистический анализ результатов проводили с помощью пакета программ Statistica 10.0. Полученные данные подвергали анализу на соответствие распределения признаков нормальному закону распределения с использованием критерия Шапиро-Уилка (для малых выборок). Сравнение количественных данных в группах (независимые выборки) проводили с использованием критерия Краскела-Уоллиса (множественные сравнения). Данные таблиц представлены в виде $M \pm m$, где M - среднее арифметическое значение, m - стандартная ошибка среднего, за уровень статистической значимости принимали $p < 0,05$. Полученные результаты статистически обрабатывали с соблюдением общих рекомендаций для медицинских исследований.

РЕЗУЛЬТАТЫ

При изучении половых гормонов в митохондриях клеток коры головного мозга у животных обоего пола было определено, что в норме у самок уровень эстрадиола был выше в 3,1 раза по сравнению со значением у самцов (таблица).

В то же время уровни эстрогена, прогестерона, общего и свободного тестостерона в митохондриях коры головного мозга были снижены со-

ответственно в 6,4 раза, в 2,7 раза, в 2,0 раза и в 2,5 раза по сравнению с соответствующими показателями у самцов (таблица 1).

Таблица 1

Содержание нейростероидов в митохондриях клеток коры головного мозга самок и самцов мышей линии C57BL/6 в динамике роста меланомы B16/F10, сопряженной с хронической нейрогенной болью

	Эстрадиол пг/г белка	Эстрон пг/мг белка	Прогестерон нг/мг белка	Тестостерон общий нг/мг белка	Тестостерон свободный пг/мг белка
Интактные группы					
Самки	208,65±10,139	6,067±0,629	0,286±0,037	0,203±0,022	0,378±0,049
Самцы	67,314±4,003 p=0,0000	39,101±3,288 p=0,0000	0,785±0,074 p=0,0000	0,411±0,036 p=0,0000	0,946±0,087 p=0,0000
Контрольные группы (ХНБ)					
Самки	61,697±3,668 p ¹ =0,0000	10,106±0,634 p ¹ =0,0007	0,171±0,023	0,196±0,017	1,484±0,186 p ¹ =0,0000
Самцы	63,999±3,829	30,046±3,834 p=0,0000	0,737±0,075 p=0,0000	0,358±0,028 p=0,0000	0,840±0,062 p=0,0000
Рост меланомы B16/F10 (группы сравнения)					
1 неделя Самки	48,917±3,483 p ¹ =0,0000	7,022±0,605	0,13±0,016 p ¹ =0,0025	0,145±0,015	0,842±0,068 p ¹ =0,0001
1 неделя Самцы	80,935±5,236 p=0,0000	13,91±0,881 p=0,0000 p ¹ =0,0000	0,945±0,094 p=0,0000	0,296±0,032 p=0,0000	0,994±0,122
2 неделя Самки	60,835±2,729 p ¹ =0,0000	7,867±0,599	0,239±0,031	0,166±0,013	1,226±0,173 p ¹ =0,0005
2 неделя Самцы	66,239±3,217	23,56±3,008 p=0,0000 p ¹ =0,0044	0,405±0,032 p=0,0000 p ¹ =0,0005	0,303±0,038 p=0,0000	0,847±0,065 p=0,0000
3 неделя Самки	67,468±3,858 p ¹ =0,0000	6,467±0,596	0,885±0,102 p ¹ =0,0001	0,224±0,023	0,768±0,049 p ¹ =0,0001
3 неделя Самцы	43,724±3,574 p=0,0000 p ¹ =0,0008	29,215±3,632 p=0,0000	0,713±0,045	0,315±0,035	0,861±0,063
ХНБ + рост меланомы B16/F10 (основные группы)					
1 неделя Самки	65,558±3,463	9,8±0,750	0,233±0,030	0,177±0,018	0,712±0,047 p ² =0,0016
1 неделя Самцы	42,649±3,632 p=0,0006 p ² =0,0016	31,916±3,896 p=0,0000	0,531±0,045 p=0,0001	0,288±0,034 p=0,0000	0,702±0,059
2 неделя Самки	81,108±5,243 p ² =0,0104	13,908±0,804 p ² =0,0029	0,405±0,033 p ² =0,0000	0,368±0,045 p ² =0,0038	0,861±0,089 p ² =0,0106
2 неделя Самцы	62,834±3,953 p=0,0165	22,462±2,399 p=0,0054	0,638±0,061 p=0,0063	0,345±0,031	1,088±0,125
3 неделя Самки	44,919±4,233 p ² =0,0111	7,311±0,643 p ² =0,0093	0,223±0,023	0,156±0,017	0,898±0,098 p ² =0,0164
3 неделя Самцы	62,274±3,772 p=0,0098	44,191±3,332 p=0,0000 p ² =0,0165	0,253±0,032 p ² =0,0000	0,316±0,030 p=0,0000	0,910±0,095

Примечание: статистически значимые различия p - между значениями у самок и самцов; p¹ - по отношению к уровню в интактной группе; p² - по отношению к уровню в группе ХНБ (контроль); ХНБ – хроническая нейрогенная боль.

Воспроизведенная ХНБ у мышей обоего пола способствовала различному проявлению изменений в уровне изучаемых нейростероидов в митохондриях клеток коры головного мозга. Так у самок по сравнению с интактными показателями уровень эстрадиола в митохондриях коры головного мозга был снижен в 3,4 раза, а уровни эстрогена и тестостерона повышены в 1,7 раза ($p < 0,05$) и 3,9 раза (таблица). В то же время у самцов с ХНБ по сравнению с интактной группой каких-либо изменений в гормональном фоне митохондрий коры головного мозга выявлено не было. При этом у самок по сравнению с самцами уровни эстрогена, прогестерона и общего тестостерона были ниже в 2,9 раза, 4,3 раза и 1,8 раза ($p < 0,05$) соответственно, а уровень свободного тестостерона был повышен в 1,8 раза ($p < 0,05$).

Различные изменения в гормональном фоне нейростероидов митохондрий коры головного мозга в зависимости от пола животных были определены на этапах роста меланомы В16/ F10 (таблица). Через 1 неделю роста меланомы у самок в митохондриях по сравнению с интактными значениями оказалось, что уровень эстрадиола был снижен в 4,3 раза, прогестерона в 2,2 раза, а уровень свободного тестостерона повышен в 2,2 раза. В митохондриях самцов были отмечены изменения лишь в уровне эстрогена, который был снижен в 2,8 раза. Установлено, что в митохондриях коры головного мозга самок на этом же сроке эксперимента уровни эстрадиола, эстрогена, прогестерона и общего тестостерона были ниже, чем у самцов в 1,7 раза ($p < 0,05$), в 2,0 раза и 2,0 раза соответственно. Через 2 недели роста меланомы по сравнению с соответствующими интактными значениями в митохондриях коры головного мозга самок фиксировалось снижение уровня эстрадиола в 3,4 раза и повышение уровня свободного тестостерона в 3,2 раза, а у самцов снижение уровня эстрогена в 1,6 раза ($p < 0,05$) и уровня прогестерона в 1,9 раза ($p < 0,05$). На этом же сроке роста опухоли, статистически значимые различия между самками и самцами в изучаемом гормональном профиле митохондрий коры головного мозга определялись по следующим нейростероидам: эстрон, прогестерон, общий тестостерон были ниже у самок в 3 раза, в 1,7 раза ($p < 0,05$), в 1,9 раза ($p < 0,05$) и свободный тестостерон выше в 1,4 раза ($p < 0,05$). Через 3 недели роста меланомы установлено, что по сравнению с интактным уровнем нейростероидов в митохондриях коры головного мозга самок статистически значимо изменился уровень эстрадиола – снижение в 3,1 раза и уровень прогестерона – повышение в 3,1

раза. В митохондриях самцов на данном этапе роста меланомы определялось снижение уровня эстрадиола в 1,5 раза ($p < 0,05$). В этот же срок недели роста меланомы различия в гормональном статусе митохондрий коры головного мозга между самками и самцами определялись в уровне эстрадиола – повышен в 1,5 раза ($p < 0,05$) и эстрогена – снижен в 4,5 раза.

Сочетание двух патологических процессов – ХНБ и меланомы В16/F10 в организме животных привело к тому, что в митохондриях коры головного мозга самок через 1 неделю роста меланомы по сравнению с контрольными величинами фиксировали статистически значимые изменения в уровне свободного тестостерона – повышение в 1,9 раза ($p < 0,05$), а у самцов в уровне эстрадиола – снижение в 1,6 раза ($p < 0,05$) (таблица). При этом у самок в митохондриях клеток коры головного мозга через 1 неделю сочетанного роста меланомы с ХНБ выявлен более высокий уровень эстрадиола по сравнению с самцами в 1,5 раза ($p < 0,05$) и низкие уровни эстрогена и прогестерона в 3,2 раза и 2,3 раза соответственно. Через 2 недели сочетанного роста меланомы с ХНБ лишь в митохондриях коры головного мозга самок были установлены статистически значимые изменения по сравнению с контрольными величинами. Выявлено, что четыре показателя находились в области высоких значений и один в низких значениях, а именно: эстрадиол, эстрон, прогестерон, общий тестостерон были повышены в 1,3 раза ($p < 0,05$), в 1,4 раза ($p < 0,05$), 2,4 раза, в 1,9 раза ($p < 0,05$) и снижен свободный тестостерон в 1,7 раза ($p < 0,05$). По сравнению с самцами у самок в митохондриях коры головного мозга продолжала сохраняться направленность изменений в уровне нейростероидов. Так уровень эстрадиола был повышен в 1,3 раза ($p < 0,05$), а уровни эстрогена и прогестерона снижены в 1,6 раза ($p < 0,05$). Финальный этап (3 недели) развития меланомы на фоне ХНБ приводил к тому, что в митохондриях коры головного мозга самок по сравнению с контрольными значениями уровень эстрадиола был снижен в 1,4 раза ($p < 0,05$), уровень эстрогена в 1,4 раза ($p < 0,05$) и уровень свободного тестостерона в 1,6 раза ($p < 0,05$). При этом у самцов в митохондриях коры головного мозга фиксировали повышение уровня эстрогена в 1,5 раза ($p < 0,05$) и снижение прогестерона в 2,9 раза. Сравнивая обнаруженные изменения уровней нейростероидов в митохондриях коры головного мозга между самками и самцами обнаружили, что у самок уровень эстрадиола был ниже в 1,4 раза ($p < 0,05$), уровень эстрогена в 6,0 раз и уровень общего тестостерона в 2,0 раза, чем у самцов.

ОБСУЖДЕНИЕ

Различия между мужчинами и женщинами обнаруживаются почти в каждой области мозга и имеют фундаментальное значение при половом диморфизме [1]. Когда один пол защищен или более склонен к возникновению и прогрессированию заболевания, исследование факторов соотносительно признаку пола, лежащих в основе патологических механизмов заболевания, является ключом к определению потенциальных терапевтических целей. Следовательно, выявление половых различий необходимо для полного понимания заболеваний, которое возможно с привлечением экспериментальных моделей и приемов [13, 14], что является фундаментом для адаптированных клинических исследований на людях.

Результатами представленного эксперимента было подтверждено существование полового диморфизма нормального нейростероидного статуса в митохондриях клеток коры головного мозга мышей линии C57BL/6. Это не могло не отразиться на разной ответной реакции, согласно полу животных, на возникновение патологического процесса, через изменение нейростероидного статуса в митохондриях коры головного мозга. Показано, что при ХНБ происходит снижение нейростероидов именно у самок, в то время как у самцов ХНБ не оказывает никакого влияния на нейростероидный фон митохондрий коры головного мозга. Учитывая нейропротекторные свойства эстрогена, эстрадиола и прогестерона [4, 5], можно предположить, что головной мозг самок наиболее подвержен отрицательному влиянию нейрогенной боли вследствие снижения нейростероидной защиты митохондрий.

Была очевидной разница реакций митохондрий клеток коры головного мозга самок и самцов на этапах роста меланомы B16/F10. В митохондриях коры головного мозга самок доминирующим фактом на протяжении всего роста опухоли проходит низкий уровень эстрадиола. Следовательно, мы полагаем, что сбой в защитном механизме нейростероидов происходит через звено эстрадиола. В митохондриях коры головного мозга самцов такой доминанты нет, все регистрируемые изменения единичны и зачастую имеют разнонаправленную динамику.

Сочетание двух патологических процессов в организме изменяет нейростероидный фон митохондрий головного мозга у животных совершенно иначе, нежели наличие одного патологического процесса. Особое внимание привлек факт повышения всех изучаемых эстрогенов в митохондриях коры головного мозга на второй неделе сочетанного роста меланомы у самок. Вторая неделя

роста опухоли является логарифмическим или экспоненциальным этапом, который характеризуется появлением в организме большого количества опухолевых клеток с увеличением объема и массы опухоли [15]. На данном этапе роста опухоли накопление общего тестостерона, способного вызывать нейротоксичность [6], сопровождается активацией защитных механизмов, через наработку эстрогенов. По всей видимости, организм пытается противостоять сочетанной патологии, через синтез женских стероидов, в ответ на активный рост опухоли, сопровождаемый накоплением нейротоксического компонента. В результате к терминальному этапу развития опухоли у самок в митохондриях клеток коры головного мозга все защитные механизмы оказываются подавлены. Митохондрии клеток коры головного мозга самцов более устойчивы к влиянию двух патологических процессов, поскольку были зафиксированы лишь единичные изменения компонентов нейростероидного фона на всем протяжении злокачественного роста на фоне ХНБ.

Половой диморфизм какого-либо заболевания обычно связывают со специфическими эффектами половых гормонов [16, 17, 18, 19]. Хотя из-за многих несоответствий сложные отношения между половыми гормонами и заболеваниями еще предстоит полностью оценить и понять. Половые различия в мозге могут быть результатом гормональной регуляции, а также генетических и эпигенетических факторов, которые действуют параллельно и в комбинации [20]. Многочисленные митохондриальные функции имеют половой диморфизм - митохондрии мозга обладают специфическими для пола различиями в морфологии, путях биогенеза, аутофагии, гибели клеток, уровне кальция и окислительно-восстановительном гомеостазе [21].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Не вызывает сомнений тот факт, что ХНБ, злокачественный процесс и их сочетание в организме животного вызывают перестройки на субклеточном уровне в клетках коры головного мозга. Опухолевый процесс напрямую не затрагивает головной мозг, однако способствует включению опосредованных механизмов своего влияния, что отражается в синтезе нейростероидов. Сочетание коморбидной патологии - ХНБ и злокачественного процесса изменяет характер ответной реакции митохондрий коры головного мозга. Полагаем, что обнаруженные половые различия в содержании нейростероидов в митохондриях клеток коры головного мозга животных важны для понимания патогенеза заболеваний и возможно дальнейшей разработки терапевтического сопровождения с учетом пола.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

ЛИТЕРАТУРА

1. Ruszkiewicz J.A., Miranda-Vizuete A., Tinkov A.A., Skalnaya M.G., Skalny A.V., Tsatsakis A., Aschner M. Sex-specific differences in redox homeostasis in brain norm and disease. *J. Mol. Neurosci.* 2019;67:312–342. doi: 10.1007/s12031-018-1241-9.
2. Reddy D.S., Bakshi K. Horm. Neurosteroids: biosynthesis, molecular mechanisms, and neurophysiological functions in the human brain. *Signal. Biol. Med. Elsevier Inc.* 2020: 69–82.
3. Mendell A.L., MacLusky N.J. Neurosteroid metabolites of gonadal steroid hormones in neuroprotection: implications for sex differences in neurodegenerative disease. *Front. Mol. Neurosci.* 2018;11:1–18. doi: 10.3389/fnmol.2018.00359.
4. Engler-Chiurazzi E.B., Brown C.M., Povroznik J.M., Simpkins J.W. Estrogens as neuroprotectants: estrogenic actions in the context of cognitive aging and brain injury. *Prog. Neurobiol.* 2017;157:188–211. doi: 10.1016/j.PNEUROBIO.2015.12.008.
5. Spychala M.S., Honarpisheh P., McCullough L.D. Sex differences in neuroinflammation and neuroprotection in ischemic stroke. *J. Neurosci. Res.* 2017;95:462–471. doi: 10.1002/jnr.23962.
6. Quillinan N., Deng G., Grewal H., Herson P.S. Androgens and stroke: good, bad or indifferent? *Exp. Neurol.* 2014;259:10–15. doi: 10.1016/J.EXPNEUROL.2014.02.004.
7. Treede RD, Jensen TS, Campbell J et al. Neuropathic pain Redefinition and classification system for clinical and research purposes. *Neurology.* 2008;70:1630-1635. doi: 10.1212 / 01.wnl.0000282763.29778.59.
8. Kuner R. Spinal excitatory mechanisms of pathological pain. *Pain.* 2015;156(Suppl 1):11–17. doi: 10.1097/j.pain.000000000000118.
9. Bartley E. J., Fillingham R. B. Sexual Differences in Pain: A Brief Overview of Clinical and Experimental Results. *Br. J Anaesth.* 2013;111(1):52-58. doi: 10.1093 / BrM / aet127.
10. Leppert W., Zajackowska R., Wordliczek J., Dobrogowski J., Woron J., Krzakowski M. Pathophysiology and clinical characteristics of pain in most common locations in cancer patients. *J. Physiology and Pharmacology.* 2016; 67(6):787-799.
11. Кит О.И., Франциянц Е.М., Каплиева И.В., Трепитаки Л.К., Котиева И.М. Способ модификации хронической болью злокачественного роста меланомы В16 у мышей. Патент на изобретение RU 2650587 С1, 16.04.2018. Заявка № 2017114818 от 26.04.2017.
12. Егорова М.В., Афанасьев С.А. Выделение митохондрий из клеток и тканей животных и человека: Современные методические приемы. *Сибирский медицинский журнал.* 2011; 26(1-1): 22-28.
13. Козлова М.Б., Франциянц Е.М., Салатова А.М., Комарова Е.Ф., Погорелова Ю.А. Первичные опухоли и их метастазы в головной мозг: особенности влияния на системный статус тиреоидных гормонов и кортизола. *Фундаментальные исследования.* 2014;7-1:81-86.
14. Жукова Г.И., Шихлярова А.И., Логинова Л.Н., Протасова Т.П. Эффекты комбинированного воздействия низкоинтенсивного электромагнитного излучения миллиметрового диапазона и комплексов незаменимых аминокислот у крыс-опухоленосителей старческого возраста. *Южно-российский онкологический журнал.* 2020;1(4):38-46.
15. Эмануэль Н.М. Кинетика экспериментальных опухолевых процессов. М.: Наука. 1977.
16. Margalida Torrens-Mas, Daniel-Gabriel Pons, Jorge Sastre-Serra, Jordi Oliver, Pilar Rocaа. Sexual hormones regulate the redox status and mitochondrial function in the brain. *Pathological implications.* *Redox Biol.* 2020; 31: 101505. doi: 10.1016/j.redox.2020.101505.
17. Hausmann M. Why sex hormones matter for neuroscience: a very short review on sex, sex hormones, and functional brain asymmetries. *J Neurosci Res.* 2017;95:40–49. <https://doi.org/10.1002/jnr.23857>.
18. Кит О.И., Котиева И.М., Франциянц Е.М., Каплиева И.В., Трепитаки Л.К., Бандовкина В.А., Черярина Н.Д., Погорелова Ю.А., Бликьян М.В. Нейромедиаторные системы головного мозга самок мышей в динамике роста злокачественной меланомы, воспроизведенной на фоне хронической боли. *Патогенез.* 2017;15(4):49-55.
19. Франциянц Е.М., Бандовкина В.А., Каплиева И.В., Черярина Н.Д., Нескубина И.В., Сурикова Е.И., Котиева И.М., Трепитаки Л.К. Влияние злокачественного роста и хронической нейрогенной боли на уровень нейротрофинов в мозге крыс. *Бюллетень сибирской медицины.* 2021; 20 (1):112–118. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-1-112-118>.
20. Ratnu VS, Emami MR, Bredy TW. Genetic and epigenetic factors underlying sex differences in the regulation of gene expression in the brain. *J Neurosci Res.* 2017; 95:301–310. <https://doi.org/10.1002/jnr.23886>.
21. Demarest T.G., McCarthy M.M. Sex differences in mitochondrial (dys)function: implications for neuroprotection. *J. Bioenerg.*

Biomembr. 2015;47:173–188. doi: 10.1007/s10863-014-9583-7.

REFERENCES

- Ruszkiewicz J.A., Miranda-Vizuete A., Tinkov A.A., Skalnaya M.G., Skalny A.V., Tsatsakis A., Aschner M. Sex-specific differences in redox homeostasis in brain norm and disease. *J. Mol. Neurosci.* 2019;67:312–342. doi: 10.1007/s12031-018-1241-9.
- Reddy D.S., Bakshi K. Horm. Neurosteroids: biosynthesis, molecular mechanisms, and neurophysiological functions in the human brain. *Signal. Biol. Med.* Elsevier Inc. 2020: 69–82.
- Mendell A.L., MacLusky N.J. Neurosteroid metabolites of gonadal steroid hormones in neuroprotection: implications for sex differences in neurodegenerative disease. *Front. Mol. Neurosci.* 2018;11:1–18. doi: 10.3389/fnmol.2018.00359.
- Engler-Chiurazzi E.B., Brown C.M., Povroznik J.M., Simpkins J.W. Estrogens as neuroprotectants: estrogenic actions in the context of cognitive aging and brain injury. *Prog. Neurobiol.* 2017;157:188–211. doi: 10.1016/j.PNEUROBIO.2015.12.008.
- Spychala M.S., Honarpisheh P., McCullough L.D. Sex differences in neuroinflammation and neuroprotection in ischemic stroke. *J. Neurosci. Res.* 2017;95:462–471. doi: 10.1002/jnr.23962.
- Quillinan N., Deng G., Grewal H., Herson P.S. Androgens and stroke: good, bad or indifferent? *Exp. Neurol.* 2014;259:10–15. doi: 10.1016/J.EXPNEUROL.2014.02.004.
- Treede RD, Jensen TS, Campbell J et al. Neuropathic pain Redefinition and classification system for clinical and research purposes. *Neurology* 2008;70:1630-1635. doi: 10.1212 / 01.wnl.0000282763.29778.59.
- Kuner R. Spinal excitatory mechanisms of pathological pain. *Pain.* 2015;156 (Suppl 1):11–17. doi: 10.1097/j.pain.0000000000000118.
- Bartley E. J., Fillingham R. B. Sexual Differences in Pain: A Brief Overview of Clinical and Experimental Results. *Br. J Anaesth.* 2013;111(1):52-58. doi: 10.1093 / BpM / aet127.
- Leppert W., Zajackowska R., Wordliczek J., Dobrogowski J., Woron J., Krzakowski M. Pathophysiology and clinical characteristics of pain in most common locations in cancer patients. *J. Physiology and Pharmacology.* 2016;67(6): 787-799.
- Kit O. I., Franciyanc E. M., Kaplieva I. V., Trepitaki L. K., Kotieva I. M. A method for modifying the malignant growth of melanoma B16 in mice by chronic pain. Patent for the invention RU 2650587 C1, 16.04.2018. Application № 2017114818 dated 26.04.2017. (In Russ.).
- Egorova M. V., Afanas'ev S. A. Isolation of mitochondria from cells and tissues of animals and human: modern methodical approaches. *Siberian Medical Journal.* 2011;26(1-1):22-28. (In Russ.).
- Kozlova M. B., Franciyanc E. M., Salatova A. M., Komarova E. F., Pogorelova YU. A. Primary tumors and their metastases to the brain: particularities of influence on the systemic status of thyroid hormones and cortisol. *Fundamental research.* 2014;7-1:81-86. (In Russ.).
- Zhukova G. I., Shihlyarova A. I., Loginova L. N., Protasova T. P. The effects of combined action of low-intensity electromagnetic radiation of the millimeter range and complexes of essential amino acids in tumorbearing rats of old age. *South Russian Journal of Cancer.* 2020;1(4):38-46. (In Russ.).
- Emanuel' N. M. Kinetics of experimental tumor processes. M.: Science. 1977. (In Russ.).
- Margalida Torrens-Mas, Daniel-Gabriel Pons, Jorge Sastre-Serra, Jordi Oliver, Pilar Roca. Sexual hormones regulate the redox status and mitochondrial function in the brain. *Pathological implications.* *Redox Biol.* 2020;31:101505. doi: 10.1016/j.redox.2020.101505.
- Hausmann M. Why sex hormones matter for neuroscience: a very short review on sex, sex hormones, and functional brain asymmetries. *J Neurosci Res.* 2017;95:40–49. <https://doi.org/10.1002/jnr.23857>.
- Kit O. I., Kotieva I. M., Franciyanc E. M., Kaplieva I. V., Trepitaki L. K., Bandovkina V. A., CHeryarina N. D., Pogorelova YU. A., Blikyan M. V. Neurotransmitter systems of female mouse brain during growth of malignant melanoma modeled on the background of chronic pain. *Pathogenesis.* 2017;15(4):49-55. (In Russ.).
- Franciyanc E. M., Bandovkina V. A., Kaplieva I. V., CHeryarina N. D., Neskubina I. V., Surikova E. I., Kotieva I. M., Trepitaki L. K. Effect of malignant growth and chronic neurogenic pain on neurotrophin levels in rat brain. *Bulletin of Siberian Medicine.* 2021; 20 (1):112–118. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-1-112-118> (In Russ.).
- Ratnu V. S, Emami M. R, Bredy T. W. Genetic and epigenetic factors underlying sex differences in the regulation of gene expression in the brain. *J Neurosci Res.* 2017; 95:301–310. <https://doi.org/10.1002/jnr.23886>.
- Demarest T. G., McCarthy M. M. Sex differences in mitochondrial (dys)function: implications for neuroprotection. *J. Bioenerg. Biomembr.* 2015;47:173–188. doi: 10.1007/s10863-014-9583-7.

ВКЛАД ДОЦЕНТА КАФЕДРЫ БИОЛОГИИ И.В. НЕУЙМИНА В ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ КЛЕЩЕЙ В ПЕРЕДАЧЕ КЛЕЩЕВОГО ВОЗВРАТНОГО ТИФА**Агеева Е. С.¹, Демиденко Л. А.¹, Гафарова М. Т.², Жукова А. А.¹, Казакова В. В.¹**

¹Кафедра биологии медицинской, ²кафедра инфекционных болезней, 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: Агеева Елизавета Сергеевна, доктор медицинских наук, доцент, 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:

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

Demidenko L. A., <http://orcid.org/0000-0002-8430-8648>

Gafarova M. T., <http://orcid.org/0000-0002-4067-5825>

Zhukova A. A., <http://orcid.org/0000-0002-0725-2089>

Kazakova V. V., <http://orcid.org/0000-0001-5443-2181>

РЕЗЮМЕ

В статье приводятся основные события жизни и работы Ивана Васильевича Неуймина, доцента кафедры биологии Крымского медицинского института. Закончил обучение и адъюнктуру в Военно-медицинской академии, в военные годы был начальником лазарета в действующей армии. В послевоенное время продолжил свою службу в Военно-медицинской академии им С.М. Кирова, где выполнил и защитил кандидатскую диссертацию под руководством академика Е.Н. Павловского. После отставки Иван Васильевич работал доцентом кафедры общей биологии Крымского медицинского института. В статье приводятся основные положения научно-исследовательской работы, которую выполнял И.В. Неуймин под руководством академика Е.Н. Павловского, а также та, которую продолжил уже позже на кафедре Крымского медицинского института (г. Симферополь). Интересным на взгляд авторов представляются оригинальные фото, демонстрирующие этапы осуществления экспедиционных работ в г. Куляб Таджикской ССР, где непосредственно был собран материал для диссертационной работы Ивана Васильевича. И, конечно же, выводы и заключения, которые были сделаны по результатам этих экспедиций, легли в основу учения о паразитизме, клещевом возвратном тифе и непосредственно описания роли клещей и основных принципов борьбы с ними.

Ключевые слова: И.В. Неуймин, кафедра биологии медицинской, Медицинская академия им. С.И. Георгиевского, паразитология, клещи

CONTRIBUTION OF ASSOCIATE PROFESSOR OF THE DEPARTMENT OF BIOLOGY I. V. NEUIMIN TO THE STUDY OF THE ROLE OF TICKS IN THE TRANSMISSION OF TICK-BORNE RECURRENT FEVER**Ageeva E. S., Demidenko L. A., Gafarova M. T., Zhukova A. A., Kazakova V. V.**

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

SUMMARY

The article describes the main events in the life and work of Ivan Vasilievich Neumin, associate professor of the Department of Biology of the Crimean Medical Institute. He completed his studies and postgraduate studies at the Military Medical Academy, during the war years he was the head of the hospital in the army. In the post-war period, he continued his service at the Military Medical Academy named S.M. Kirov, where he completed and defended his M.D. thesis under the guidance of Academician E.N. Pavlovsky. After his resignation, Ivan Vasilievich worked as an assistant professor at the Department of General Biology at the Crimean Medical Institute. The article presents the main provisions of the research work carried out by I.V. Neumin under the leadership of Academician E.N. Pavlovsky, as well as the one that he continued later at the department of the Crimean Medical Institute (Simferopol). Interesting, in the opinion of the authors, are the original photos showing the stages of the expeditionary work in the city of Kulyab Tajik SSR. The place where the material for the dissertation work of Ivan Vasilievich was directly produced. The conclusions and conclusions that were made based on the results of these expeditions and formed the basis of the doctrine of parasitism, tick-borne relapsing fever and directly describing the role of ticks and the basic principles of combating them.

Key words: I.V. Neumin, Department of Medical Biology, Medical Academy. S.I. Georgievsky, parasitology, ticks

*«Кто посвятит свою жизнь служению
науки, того имя и после смерти будет
бессмертным»*

Алишер Навои

Иван Васильевич Неуймин родился в 1913 г. в Свердловской области. В 1939 г. окончил Военно-медицинскую академию им. С.М. Кирова в Ленинграде, затем проходил адъюнктуру под руководством академика Е.Н. Павловского. Во время войны Иван Васильевич был откомандирован в действующую армию в качестве начальника лазарета, в период с 1941 по 1946 г.г. (рис. 1).



Рис. 1. Медсанбат Львовская область (10.12.1944 г.) И.В. Неуймин во втором ряду четвертый слева

В 1946 г. И. В. Неуймин вернулся на кафедру биологии и медицинской паразитологии для преподавательской деятельности, в этот период он был ученым секретарем Совета одного из факультетов Военно-медицинской академии (рис. 2).

С 1952 до 1959 годы был назначен на должность старшего научного сотрудника начальника отдела НИИ № 32 МО СССР (рис. 3).



Рис. 2. Военно-медицинская академия, г. Ленинград (1949 г.) На фото слева направо: 5-й – академик Е.Н. Павловский, 7-й - И.В. Неуймин



Рис. 3. Полковник медицинской службы И.В. Неуймин (1956 г.)

С 1961 по 1967 годы Иван Васильевич – доцент кафедры общей биологии Крымского медицинского института, завуч кафедры (рис. 4). Кроме того, ежегодно Неуймин И.В. назначался министерством просвещения УССР председателем государственной экзаменационной комиссии на факультете естествознания Крымского педагогического института. За весь период работы Иван Васильевич был награжден 2 орденами и 8 медалями, и был автором и соавтором более 50 научных работ.



Рис. 4. Доцент И. В. Неуймин на кафедре биологии в рабочем кабинете (1965 г.)

Научная деятельность. Иван Васильевич занимался вопросами паразитизма, в своей научной работе проводил много полевых работ, а также экспериментальной работы. Изучал вопросы описания морфологии, этапов жизненного цикла, роли паразитов в развитии заболеваний и связанных с ними клещевым возвратным

тифом. Участвовал в экспедициях в Среднюю Азию. Наблюдения проводились в одном из древних очагов клещевого возвратного тифа, в г. Кулябе Таджикской ССР. Работа была начата в 1941 году с июля по август, а продолжить ее смогли только после войны, в июле и августе 1947 г., а потом в феврале и марте 1948 г (рис. 5).



А



Б

Рис. 5. Местные жители и участники экспедиции в г. Куляб (А), профессор Е.Н.Павловский среди участников Среднеазиатской паразитологической экспедиции. Туркменская ССР (Б)

Таким образом, начав еще в довоенное время и закончив после Великой Отечественной войны, в 1949 году И. В. Неуймин защитил кандидатскую диссертацию по теме: «Домовая очаговость клещевого возвратного тифа и факторы ее определяющие» [1]. Руководителем научной работы был Е.Н. Павловский (рис. 6).

Известно, что клещевой возвратный тиф является эндемичным трансмиссивным заболеванием с выраженной природной очаговостью, распространенном в среднеазиатских Советских Республиках и на Кавказе. Эпидемиологической особенностью региона является образование антропоургических очагов (очагов, связанных



А



Б

Рис. 6. Коллектив под руководством Е. Н. Павловского (А). сбор клещей (Б)

с жизнедеятельностью человека). К факторам, обуславливающим существование антропоургических очагов, относятся 2 группы: биотические и абиотические. Биотические связаны с возбудителями; позвоночными животными, которые восприимчивы к возбудителю, а также переносчиком. В то время как другая группа – абиотические – это условия климата, почвы, места расположения очагов. В своей работе Иван Васильевич изучал режим микроклиматических и эдафических факторов в биотопах и реакций клещей на изменяющиеся условия среды. Для чего и были проведены наблюдения по экологии клещей переносчиков.

Было показано, что важнейшее эпидемиологическое значение имеют переносчики – клещи из рода *Ornithodoros*, которые одновременно являются и основными резервуарами спирохет. Род *Ornithodoros* объединяет более 60 видов; биологически разнообразных паразитов млекопитающих, птиц и рептилий. Характерным является короткий период питания, при этом личинки некоторых видов могут питаться несколько суток, а ряд личинок и нимф I стадии

не питаются вообще. По данным ряда авторов количество нимфальных стадий варьирует от 1 до 8, чаще от 2 до 5 [2].

На территории бывшего СССР клещи этого рода были зарегистрированы в Киргизии, Казахстане, Таджикистане, Узбекистане, Туркмении, Азербайджане, Армении, Грузии, а также на Северном Кавказе. В Крыму *O. capensis* заселяет гнезда хохлатого баклана, а на побережье Аральского моря – гнезда большого баклана и черноголового хохотуна. *O. coniceps* и *O. capensis* пред-

ставлены отдельными небольшими очагами с низкой численностью особей. Северо-Восточная граница ареала – горы Каратау и острова Барса-Кельмес [2; 3; 4; 5].

В качестве локации для проведения полевых работ И.В. Неуймина был выбран город Куляб. Очаговыми биотопами для клещей из рода *Ornithodoros*, являлись хозяйственные биотопы (кибитки, хозяйственные – помещения для скота и другие строения) и природные биотопы (норы различных животных, рис. 7).



А



Б



Рис. 7. Иллюстрации, изображающие очаговые биотопы для клещей из рода *Ornithodoros*: кибитки (А, Б), хозяйственные (В) и норы животных (Г) (фото из рукописи диссертации И.В. Неуймина) [1]

Для того, чтобы определить степень заселенности клещами-переносчиками, в период экспедиции было обследовано 416 нор диких живот-

ных (197 грызунов, 166 черепах, 42 ежей и 11 сизоворонок). Помимо этого, были обследованы и норы крыс. В данном случае крысы представ-

ляют собой особую категорию источников возбудителя, так как они быстро передвигаются, тем самым создают связь между природными и хозяйственными очагами, для них характерно большая инфицированность. В норах крыс и жилье человека обнаруживали *O. tartakovskiy* и *O. papillipes* [6; 7; 8]. Исследованиями Латышева, Кешишьяна и Змеева (Сталинабад, Хорог на Западном Памире) было показано, что около

20% крыс заражены спирохетами рекурренса [9,10,11].

В результате проведенной работы с помощью круглосуточных измерений (рис. 8) была описана роль микроклимата биотопов, в частности температура, влажность и освещенность. Кроме того, были проанализированы эффекты влияния на жизнеспособность клещей комбинаций факторов.

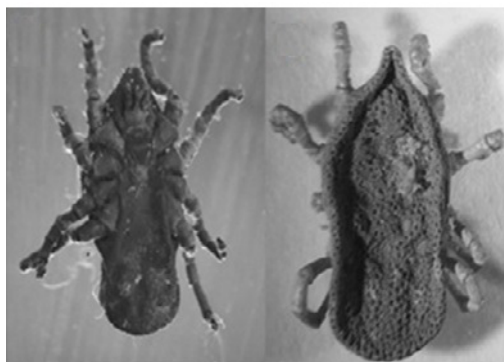


Рис. 8. И. В. Неуймин проводит исследование (А, фото из диссертации), современный внешний вид клеща *O. papillipes*, отловленного на территории Узбекистана в 1942 г. (стерео увеличение) и пробирки с клещами - лоты (Б).

Особенность климатической зоны, в которой проводилось исследование - это жаркий климат с большими суточными температурными перепадами. В летнее время (июль-август) температура составляла 40-43°C в тени, и 60°C, а иногда и даже 70°C на солнце. При этом суточные колебания составляли порядка 50°C. В глинобитных кибитках (суточные колебания не превышали 3,5°C), характеризуюсь колебаниями от 24 до 30°C. На полу и нижних частях стен температура была более стабильной и холодной. Именно эти места характеризовались наибольшим гнездованием клещей. В зимнее время (февраль) температура колебалась от 0 до минус 16°C на улице. В то время как на полу и нижних частях стен кибиток средняя температура соответствовала 13°C, а колебания - от 9,5 до 17,5°C. Влажность в местах проживания людей составляла от 41-50 % (июль-август) до 66-73 % (февраль). На улице 26 и 80 %, соответственно. Освещенность в кибитках с июля по август составила 110 люксов, в феврале - 56 люксов. На полу освещенность была минимальной и соответствовала 0 люксов [1].

Опыты, проведенные с использованием специально сконструированного для этих задач прибора Крумбигеля, позволили сделать вывод, что *O. papillipes* обнаруживают отрицательное отношение к свету (фототропизм). В камере с нулевой освещенностью сосредоточивалось

46 % нимф и 36 % имаго. В то время как нимфы и имаго *O. tartakovskiy* положительно реагировали на слабую освещенность порядка 50-80 люксов. В камерах с таким уровнем освещенности концентрировалось 69 % нимф и 69 % имаго. На основании полученных данных был сделан вывод, что свет является одним из факторов, определяющих распределение клещей внутри биотопа [1].

В экспериментах на морских свинках было показано, что нимфы и имаго клещей *O. papillipes* активно нападают на хозяина при температурах от 14-15°C до 35-36°C. При температурах выше и ниже этих границ клещи на морскую свинку не нападали. Относительная влажность от 0 до 31 % является неблагоприятной для выживания клещей и вызывает их довольно быструю гибель. В то время как влажность от 34 до 55 % была мало благоприятной и при длительном сохранении таких условий гибель клещей ускорялась. Наиболее комфортной являлась влажность свыше 55 %. Гибель клещей определялась еще и комбинацией влажности и температуры.

Обследования жилищ показали, что станциями *O. papillipes* оказались помещения для скота с глинобитными стенами, примитивное жилье человека - глинобитное или сложенное из камня с промазкой глиной, в трещинах и норах которого гнездились клещи. В стенах человеческого

жилища и жилья животных стены минируются крысами, в их норах живут клещи, питаются кровью крыс [9].

Выходя из нор, клещи нападают на спящих людей и передают им при кровососании спирохеты, полученные от зараженных крыс. Нападение может происходить и днем, например, во время пребывания в помещениях для скота и других местах. Укус клеща совершенно безболезнен, а нападающие на человека клещи вовсе его не беспокоят. Длительность сосания крови человека клещом-переносчиком обычно составляет около 40 минут, хотя, как показали эксперименты на морских свинках для эффективного заражения достаточно первых полутора минут, при укусе 1-2 клещами [7; 12].

Опыты и экспедиции. С 1932 года Е. Н. Павловский возглавлял сначала базу, а с 1941 года филиал Академии наук СССР, был организатором института зоологии и паразитологии АН Таджикской ССР. Позже институт зоологии и паразитологии был назван его именем. Работа под руководством академика Е. Н. Павловского, Иван Васильевич неоднократно участвовал в экспедициях в Таджикской ССР. В последующем все эти исследования явились основой научного направления в области арахноэнтомологии, а также учения о природной очаговости болезней человека и животных. За период руководства Е. Н. Павловского (рис. 9) были проведены десятки научных экспедиций, опубликованы результаты важнейших научных трудов, подготовлены молодые научные кадры [13].



Рис. 9. Иллюстрация из книги «Русские в Таджикистане». Е. Н. Павловский был лауреатом Ленинской премии, награжден шестью орденами Ленина, золотой медалью имени И.И. Мечникова, являлся почетным доктором университета Сорбонны. В академическом городке г. Душанбе воздвигнут памятник с надписью: «Павловскому от таджикского народа» [14]

И именно в этой научной команде И.В. Неуймин участвовал в исследовании роли паразитов, опасных для здоровья человека – переносчиков клещевого возвратного тифа.

В настоящее время богатейшая коллекция клещей хранится на кафедре биологии Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова. Коллекция насчитывает более 15 тыс. экземпляров членистоногих. Среди них *O. papillipes*, *O. tartakovsky*, *O. lahorensis*, *O. verrucosusa*, *A. persicus*, а также некоторые другие виды переносчиков-возбудителей инфекционных заболеваний человека. Необходимо отметить, что клещи, собранные во время всех экспедиций на территории Закавказья, Средней и Центральной Азии, не только представляют собой коллекционную ценность, но и являются уникальным собранием Аргасовых клещей – хранилищем живых объектов. Так как на протяжении всего периода (1934-1955 г.г.) образцы не консервировались и не обрабатывались фиксаторами, то и сегодня они используются для биологических экспериментов с целью изучения риккетсиозов и других актуальных инфекции [15,16]. Историческая коллекция клещей рассматривается как уникальный ресурс для изучения инфекционных патогенов и их переносчиков с помощью молекулярно-генетических методик [15].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Современные проблемы, связанные с распространенностью и зараженностью клещей, их способностью передавать заболевание человеку не теряют актуальности. Выявление ареала обитания этих клещей для их последующего устранения в синантропных условиях способствует профилактике и борьбе с заболеваниями, которые они передают. Важность этой проблемы интенсивно разрабатывается и является основой для противоэпидемических мероприятий в борьбе с переносчиками.

В Симферополе работая на кафедре медицинской биологии в Крымском медицинском институте Иван Васильевич Неуймин продолжил заниматься научно-исследовательской деятельностью, его интересы и его работы были связаны с изучением способов применения инсектицидов [17; 18; 19; 20].

Благодарности. Авторы статьи выражают огромную благодарность дочери Ивана Васильевича – Галине Ивановне Неуйминой за любезно предоставленные научные материалы и фотографии.

Особую благодарность авторы статьи выражают заведующему сектором научной библиотеки КФУ им. В.И. Вернадского – Светлане

Васильевне Козленко за помощь в подготовке научных материалов.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

ЛИТЕРАТУРА

1. Неуймин И. В. Домовая очаговость клещевого возвратного тифа и факторы ее определяющие: автореф. дис... канд. мед. наук. Ленинград; 1949.

2. Чеботаревич Н. Д. К изучению эпидемического (клещевого) рекуррэнса и клещей *Ornithodoros* в Ставропольском крае. Мед. паразитол. и паразит. бол. 1950;6:519–521.

3. Кусов В. Н., Савинов Е. Ф., Мельчакова Е. Д. Азиатские муфлоны – хозяева клещей *Ornithodoros lahorensis* на Устюрте. Известия АН КазССР, сер. биол. 1966;4:39–41.

4. Первомайский Г. С., Чагин К. П., Дятлов А. Г. Материалы по биологии *Ornithodoros coniceps* Can. (Acarina, Ixodoidea). Энтотом. обзор. 1958;37(4):889–896.

5. Петрищева П. А., Скрынник А. Н. Клещевой возвратный тиф. Сб. тр. «География природно-очаговых болезней человека в связи с задачами и профилактики». М.: Медицина, 1968;95–119.

6. Неуймин И. В. Эпидемиологическое значение природных биотопов клещей *Ornithodoros papillipes* на территории эндемического очага клещевого возвратного тифа. Тр. Воен.-мед. акад. им. С. М. Кирова, 1951;46:57–63.

7. Павловский Е. Н., Скрынник А. Н. О переносчиках клещевого возвратного тифа в Кулябе (Таджикская ССР). Тр. Военно-мед. акад. им. С. М. Кирова, 1951;46: 29–48.

8. Васильева И. С., Ершова А. С. Условия поддержания природного очага клещевого спирохетоза в южном Таджикистане. Паразитология, 1976;1:67–71.

9. Павловский Е. Н. О природной очаговости инфекционных и паразитарных болезней. О природной очаговости инфекционных и паразитарных болезней. Доклад на Общем Собрании Академии Наук 29 мая 1939 г.

10. Павловский Е. Н. О норовых *Ornithodoros* Туркмении и об отношении к передаче клещевого рекуррэнса. Тр. СОПС, сер. Туркм. 1934;6:29.

11. Павловский Е. Н., Змеев Г. Я. Распространение *Ornithodoros papillipes* в связи с эпидемиологией клещевого рекуррэнса в юго-восточном Таджикистане. Тр. Тадж. базы АН СССР. 1939;11.

12. Шмальгаузен И. И. Проблема соотношений между индивидуальным и историческим

развитием животных. Доклад на Общем Собрании Академии Наук 29 мая 1939 г.

13. Академия наук Республики Таджикистан. Душанбе, 2001;13.

14. Николаева Л. Ю., Абдулатипов Р. Г., Ярахмедов А. А., Кабаев Д. А., Копченова Е. А., Савлуков В. Н. Русские в Таджикистане Редакционная коллегия: Худжанд. 2008.

15. Соловьев А. И., Бондаренко Е. И., Тимофеев Д. И., Ракин А. И., Кравцов В. Ю. Коллекция клещей академика Е.Н. Павловского и современные перспективы молекулярно-генетических исследований Вестник Российской военно-медицинской академии. 2019;2(66):140–148.

16. Díaz-Martín V., Manzano-Román R., Obolo-Mvoulouga P. Development of vaccines against *Ornithodoros* soft ticks: An update. Ticks Tick-borne Dis. 2015;6(3):211–220.

17. Неуймин И. В. Реакция комнатных мух (*Musca domestica* L) на гексахлоран. Медицинская паразитология и паразитарные болезни. 1960;29(6):731–733.

18. Неуймин И. В. Действие ДДТ и гексахлорана на личинок комнатных мух (*Musca domestica* L). Медицинская паразитология и паразитарные болезни. 1961;30(2):214–218.

19. Неуймин И. В. Влияние инсектицидов на мух в процессе морфофаза. Проблемы паразитологии: тр. 4 науч. конф. паразитологов Украинской ССР. Киев, 1963:379–380.

20. Неуймин И. В. Перспективы использования контактных инсектицидов против резистентных комнатных мух. Проблемы паразитологии: тез. докл. 5 науч. конф. Укр. Респ. науч. о-ва паразитологов. Киев, 1967:537–538.

REFERENCES

1. Neuymin I. V. Household focality of tick-borne relapsing fever and its determining factors: author. dis ... cand. honey. sciences. Leningrad, 1949. (In Russ.).

2. Chebotarevich N. D. To the study of epidemic (tick-borne) recourse and *Ornithodoros* ticks in the Stavropol Territory. Med. parazit. i parazit. bol. 1950; 6:519–521. (In Russ.).

3. Kusov V. N., Savinov E. F., Melchakova E. D. Asian mouflons are hosts of *Ornithodoros lahorensis* ticks in Ustyurt. Izvestija AN KazSSR, ser. biol. 1966;4:39–41. (In Russ.).

4. Pervomaisky G. S., Chagin K. P., Dyatlov A. G. Biological materials *Ornithodoros coniceps* Can. (Acarina, Ixodoidea). Jentomol. obzor. 1958;37(4):889–896. (In Russ.).

5. Petrishcheva P. A., Skrynnik A. N. Tick-borne relapsing fever. Sat. tr. «Geography of natural focal human diseases in connection with the tasks and prevention.» M.: Medicine, 1968;95–119. (In Russ.).

6. Neuymin I. V. Epidemiological significance of natural biotopes of *Ornithodoros papillipes* ticks on the territory of the endemic focus of tick-borne relapsing fever. Tr. Voenno-med. akad. im. S. M. Kirova, 1951;46:57-63. (In Russ.).
7. Pavlovsky E. N., Skrynnik A. N. About the vectors of tick-borne relapsing fever in Kulyab (Tajik SSR). Tr. Voenno-med. akad. im. S. M. Kirova, 1951;46: 29-48. (In Russ.).
8. Vasilyeva I. S., Ershova A. S. Conditions for maintaining the natural focus of tick-borne spirochetosis in southern Tajikistan. Parazitologija, 1976;1:67-71. (In Russ.).
9. Pavlovsky E. N. On the natural focus of infectious and parasitic diseases. On the natural focus of infectious and parasitic diseases. Report at the General Meeting of the Academy of Sciences on May 29, 1939. (In Russ.).
10. Pavlovsky E. N. About burrowing *Ornithodoros* of Turkmenistan and about the attitude to the transmission of tick-borne recurrence. Tr. SOPS, ser. Turkm. 1934;6:29. (In Russ.).
11. Pavlovsky E. N., Zmeev G. Ya. Distribution of *Ornithodoros papillipes* due to the epidemiology of tick-borne recurrence in southeastern Tajikistan. Tr. Tadzh. bazy AN SSSR. 1939;11. (In Russ.).
12. Shmalgauzen II The problem of relationships between individual and historical development of animals. Report at the General Meeting of the Academy of Sciences on May 29, 1939. (In Russ.).
13. Academy of Sciences of the Republic of Tajikistan. Dushanbe, 2001;13. (In Russ.).
14. Nikolaeva L. Yu., Abdulatipov R.G., Yarakhmedov A.A., Kabaev D.A., Kopchenova E.A., Savlukov V.N. Russians in Tajikistan Editorial Board: Khujand. 2008. 237. (In Russ.).
15. Soloviev A. I., Bondarenko E. I., Timofeev D. I., Rakin A. I., Kravtsov V. Yu. Collection of ticks by academician E.N. Pavlovsky and modern perspectives of molecular genetic research. Vestnik Rossijskoj voenno-medicinskoj akademii. 2019;2(66):140-148. (In Russ.).
16. Díaz-Martín V., Manzano-Román R., Obolo-Mvoulouga P. Development of vaccines against *Ornithodoros* soft ticks: An update. Ticks Tick-borne Dis. 2015;6(3):211–220.
17. Neuymin I. V. Reaction of houseflies (*Musca domestica* L) to hexachloran. Medicinskaja parazitologija i parazitarnye bolezni. 1960;29(6):731–733. (In Russ.).
18. Neuymin I. V. Effect of DDT and hexachlorane on housefly larvae (*Musca domestica* L). Medicinskaja parazitologija i parazitarnye bolezni. 1961;30(2):214–218. (In Russ.).
19. Neuymin I. V. Effect of insecticides on flies during morphosis. Problemy parazitologii: tr. 4 nauch. konf. parazitologov Ukrainskoj SSR. Kiev, 1963:379–380. (In Russ.).
20. Neuymin I. V. Prospects for the use of contact insecticides against resistant houseflies. Problemy parazitologii: tez. dokl. 5 nauch. konf. Ukr. Resp. nauch. o-va parazitologov. Kiev Problemy parazitologii: tez. dokl. 5 nauch. konf. Ukr. Resp. nauch. o-va parazitologov. Kiev, 1967:537–538. (In Russ.).

НАУЧНОЕ НАСЛЕДИЕ ПРОФЕССОРА Б. П. ХВАТОВА В ЭМБРИОЛОГИИ

(К 90-летию образования Крымского государственного медицинского института и 120-летию со дня рождения Б.П. Хватова)

Барсуков Н. П., Шаповалова Е. Ю., Юнси Г. А., Остапенко О. В.

Кафедра гистологии и эмбриологии (зав. — проф. Е. Ю. Шаповалова), Институт «Медицинская академия им. С. И. Георгиевского» (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В. И. Вернадского», 295051, бульвар Ленина 5/7, Симферополь, Россия

Для корреспонденции: Барсуков Николай Петрович – доктор медицинских наук, профессор кафедры гистологии и эмбриологии института «Медицинская академия имени С.И.Георгиевского» ФГАОУ ВО «КФУ им.В. И. Вернадского», e-mail: barzager@mail.ru

For correspondence: Barsukov Nikolai Petrovich, MD, Department of Histology and Embryology of the Institute «Medical Academy named after S. I. Georgievsky» of Vernadsky CFU, e-mail: barzager@mail.ru

Information about authors:

Barsukov N. P., <http://orcid.org/0000-0002-0963-9180>

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

Yunsi G. A., <http://orcid.org/0000-0003-2965-4975>

Ostapenko O. V., <http://orcid.org/0000-0002-2935-1985>

РЕЗЮМЕ

В статье рассказывается о видном отечественном ученом профессоре Борисе Павловиче Хватове - создателе Крымской научной эмбриологической школы, пионере экстракорпорального оплодотворения, осуществленного под его руководством в 60-е годы прошлого столетия. Им описаны самые ранние стадии эмбрионального развития человека *in situ*, начиная с оплодотворения и в течение следующих шести дней эмбриогенеза, включенные в мировую коллекцию зародышей человека института Карнеги в Вашингтоне, которые представлены в данной статье в хронологическом порядке развития зародышей.

Ключевые слова: ранний эмбриогенез человека, зародыш человека, наследие Б. П. Хватова

SCIENTIFIC HERITAGE OF PROFESSOR B. P. KHVATOV IN EMBRYOLOGY

(To the 90th anniversary of the formation of the Crimean State Medical Institute and the 120th anniversary of the birth of B.P. Khvatov)

Barsukov N. P., Shapovalova E. Yu., Yunsi G. A., Ostapenko O. V.

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

SUMMARY

The article tells about the prominent Russian scientist Professor Boris Pavlovich Khvatov - the founder of the Crimean scientific embryological school, the pioneer of *in vitro* fertilization carried out under his leadership in the 60s of the last century. He described the earliest stages of human embryonic development *in situ*, beginning with fertilization and over the next six days of embryogenesis, included in the world collection of human embryos at the Carnegie Institute in Washington, which are presented in this article in chronological order of fetal development.

Key words: early human embryogenesis, human embryo, B. P. Khvatov's legacy



Б. П. Хватова

Когда мы говорим о знаменитом писателе, мы вспоминаем его произведения. Когда мы говорим о знаменитом художнике, мы вспоминаем его картины. Когда мы говорим о знаменитом ученом, мы вспоминаем его научное наследие. Данная статья посвящена научному наследию видного отечественного учёного-эмбриолога, профессора Бориса Павловича Хватова, которому в апреле 2022 года исполняется 120-лет со дня рождения. Борис Павлович Хватов внес весомую лепту в мировую науку по изучению самых ранних стадий внутриутробного развития человека *in situ* и сравнительную эмбриологию. Он является основателем Крымской научной эмбриологической школы, пионером экстра-

корпорального оплодотворения человеческих яйцеклеток, впервые в мире успешно осуществленного под его руководством одним из его талантливых учеников Григорием Николаевичем Петровым.

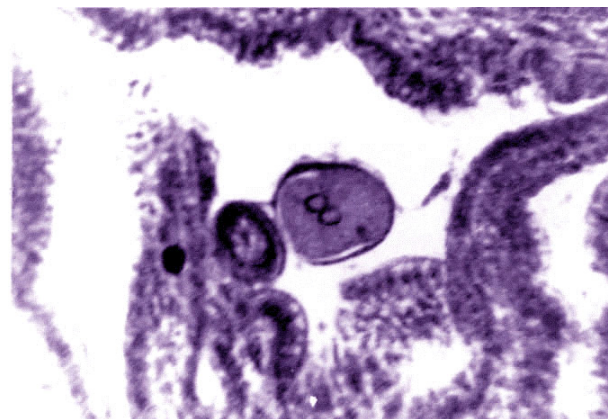
В литературных источниках есть немало сведений из биографии Б. П. Хватова [1, 2, 3]. Отдавая дань памяти учёного с мировым именем, учёного-новатора в области репродуктивной медицины, авторы статьи решили собрать воедино опубликованные им в разных источниках данные о начальных стадиях эмбриогенеза человека, которые позволяют проследить динамику этого процесса, протекающего в тесном взаимодействии зародыша с материнским организмом в первые 6 сут. после оплодотворения. Недостающие в первоисточниках сведения о морфологии зародышей и окружающих их структур маточных труб дополнены собственными исследованиями авторов этих уникальных объектов. При этом последовательное описание зародышей в этой статье сделано нами в соответствии с возрастной динамикой их развития.

В шестидесятые годы прошлого столетия Б. П. Хватовым впервые в мировой научной литературе описаны 2 зародыша человека, развивавшиеся *in situ*, возраст, которых был менее 1 сут. В публикациях наглядно был представлен тот внутренний мир, скрытый от глаз и понимания людей, а именно, зарождение жизни...

Зародыши человека № 1 и 2 на стадии контакта пронуклеусов, возраст которых по анамнестическим данным составляет около 20 ч, были обнаружены проф. Б. П. Хватовым в маточных трубах женщин (удаленных по медицинским показаниям). Зародыш № 1 был описан в нескольких изданиях [4, 5, 6]. Другой же уникальный объект (зародыш № 2) представлен лишь микрофотографиями [6, 7]. При этом в том и ином случае совершенно отсутствуют сведения о морфологии структурных компонентов маточных труб. Анализ микропрепаратов этих зародышей, свидетельствует о том, что оба они свободно находятся в просветах маточных труб (рис. 1, 2), слизистая оболочка которых образует складки, выстланные однослойным призматическим эпителием, мерцательные клетки которого проявляют умеренную базофилию цитоплазмы, цитоплазма же железистых клеток характеризуется более светлой окраской. Судя по разнице в окрашивании эпителия и собственной пластинки слизистой оболочки маточных труб, можно констатировать, что базальная мембрана между ними хорошо сформирована. В собственной пластинке обнаруживаются многочисленные гемокapилляры, заполненные форменными элементами крови. Многие из них расширены из-за

стаза, что свидетельствует о естественной реакции слизистой оболочки маточных труб на состояние гормонального фона, соответствующего данной фазе овариально-менструального цикла. В просвете яйцевода на всем его протяжении имеют место тяжистые слабо базофильные аморфные образования, которые представляют собой секрет glanduloцитов. Сами зародыши окружены такими же бесструктурными компонентами, за счёт которых, как следует полагать, осуществляется их гистиотрофное питание.

Зародыш № 1 (рис. 1, а, б) имеет округлую форму. Он окружён слабо оксифильной блестящей зоной. Между ней и ооплазмой местами отмечается довольно широкое перивителлиновое пространство. Фолликулярные клетки вокруг блестящей зоны отсутствуют. В ооплазме определяется базофильная зернистость, концентрация которой на одном из полюсов, по-видимому, вегетативном, преобладает по сравнению с другим (анимальным) полюсом.



а



б

Рис. 1. Зародыш человека № 1 в просвете маточной трубы. Г.-э. а. — Ув.: об. 8, ок. 15.

б. — об. 90. ок. 15.

В центре ооциты находится один из пронуклеусов (большой), а рядом с ним и несколько эксцентрично — второй (меньший). Нуклеолема обоих пронуклеусов чётко контурируется (см. рис. 1, б). В большем (по данным автора, женском) пронуклеусе глыбки хроматина контрастируются более отчётливо, чем в меньшем.

Морфологическая характеристика второго объекта (зародыш № 2) в оригинальных сообщениях весьма скудная. В отличие от зародыша № 1 он имеет овоидную форму. Толщина блестящей зоны неравномерная и колеблется в пределах 4–7 мкм. Под ней на одном из полюсов располагаются 2 полярных тельца, интенсивно окрашенные ядра, которых занимают практически всю клетку (рис. 2).

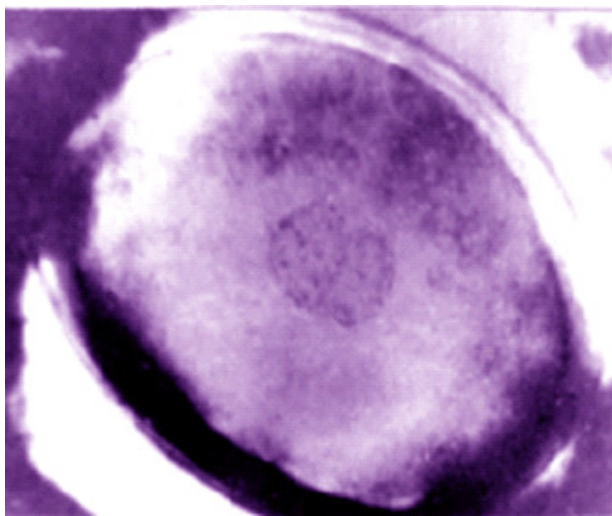


Рис. 2. Зародыш человека № 2 на стадии контакта пронуклеусов (по Б.П. Хватову). В правом нижнем углу – два полярных тельца. Г.-э. Ув.: об. 90, ок. 15.

Ооциты зародыша слабо базофильны и неоднородны. В ней выявляется зернистость, которая распределена неравномерно. В центральной части зародыша, где расположены пронуклеусы, базофилия ооциты менее выражена, чем на периферии. Величина пронуклеусов неодинакова. Бóльший из них находится глубже в плоскости среза и почти шарообразный. Второй пронуклеус имеет овальную форму, при этом своим большим диаметром он расположен перпендикулярно по отношению к продольной оси зародыша.

Оба зародыша находятся на стадии, предшествующей слиянию пронуклеусов, что соответствует стадии Ia Карнеги — ооцида [8].

По истечении определенного срока после оплодотворения и образования зиготы происходит дробление и образование бластоцисты. Именно на такой стадии проф. Б.П. Хватовым

описан зародыш человека, обозначенный нами под № 3.

Эта ранняя бластоциста человека обнаружена в маточной трубе, удаленной при гистерэктомии по случаю фибромиомы матки. Морфометрические исследования и описание особенностей строения данного объекта опубликованы [6].

Бластоциста имеет овальную форму, ограничена толстой блестящей зоной (рис. 3). Внутренняя ее часть почти вся заполнена различными по величине и степени окрашиваемости бластомерами, четыре из которых отличаются более крупными размерами и довольно выраженной базофилией цитоплазмы. Они располагаются несколько эксцентрично и, по всей вероятности, являются эмбриобластическими. Полярно от них локализируются плотно прилежащие друг к другу меньших размеров трофобластические бластомеры, цитоплазма которых окрашена менее интенсивно.

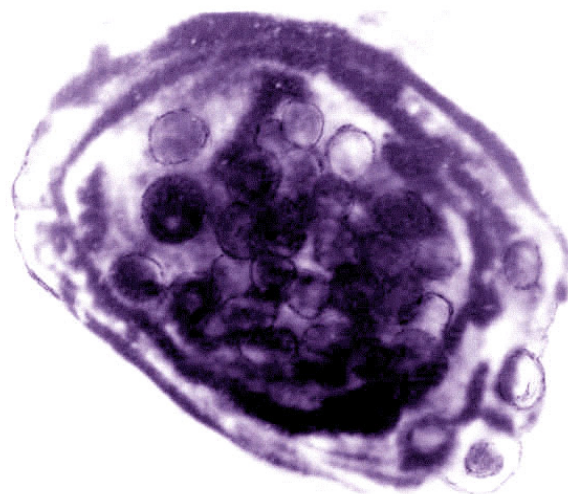


Рис. 3. Ранняя бластоциста человека (по Б.П. Хватову). Г.-э. Ув.: об. 20, ок. 10.

Из-за плотного прилегания бластомеров друг к другу границы между отдельными из них плохо просматриваются, поэтому нам удалось измерить лишь те бластомеры, которые контурируются достаточно четко. Средний диаметр малых (трофобластических) бластомеров составил около 15 мкм, а больших (эмбриобластических) — 20,6 мкм. На одном из полюсов зародыша, непосредственно под блестящей оболочкой, располагаются 3 полярных тельца, степень контрастности которых неодинакова. На противоположном полюсе намечается образование полости, которая имеет форму полулунья. Ее выпуклая часть обращена в сторону блестящей зоны. Помимо этого отмечается наличие и других небольших полостных образований, в ко-

торых определяются следы аморфной базофильно окрашенной массы, представляющей собой коагуляты жидкого содержимого бластоцисты.

Таким образом, наличие небольших полостей у данного зародыша и обособление больших (эмбриобластических) бластомеров даёт основание констатировать переход морулы в бластоцисту, что даёт основание отнести данный зародыш к стадии III Карнеги [8].

По мере развития зародыша количество образующих его клеток увеличивается, нарастает их секреторная активность, вследствие чего маленькие полостные образования сливаются между собой, и образуется общая полость бластоцисты. Наряду с этим, разница в размерах между трофобластическими и эмбриобластическими бластомерами становится более выраженной.

Зародыш № 4 — 100-клеточная 4,5-суточная бластоциста человека (рис. 4) детально описана проф. Б. П. Хватовым [9]. Зародыш, по данным автора, находится в проксимальном отделе маточной трубы. Блестящая зона отсутствует. Трофобласт состоит из одного слоя овальных неравноценных по величине и форме клеток, отличающихся объемом ядер и тинкториальными свойствами цитоплазмы. Поглощение светового потока ядрами трофобласта примерно в 1,8 раза выше, чем ядрами бластомеров внутренней клеточной массы. Отдельные бластомеры выбухают над поверхностью трофобластической стенки зародышевого пузырька.

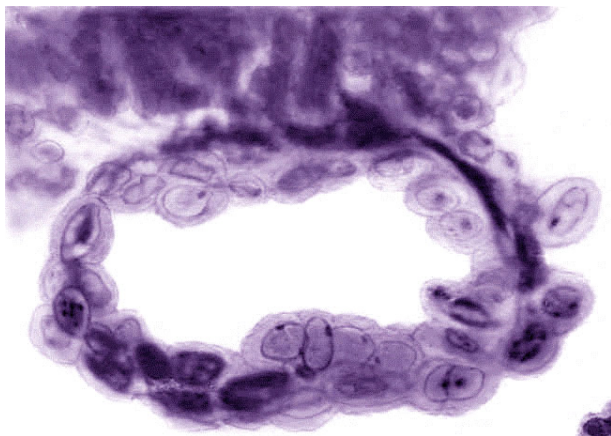


Рис. 4. 100-клеточная бластоциста человека «Крымская девочка». Г.-э. Ув.: об. 90, ок. 15.

Наличие в ядрах трофобласта и эмбриобласта телец Барра послужило Б. П. Хватову основанием констатировать пол зародыша и назвать его «Крымская девочка». Это, как указывается [8], был первый случай обнаружения X-полового хроматина на столь ранней стадии развития человека [10, 11].

Несмотря на то, что у зародыша констатировано отсутствие блестящей зоны, он ещё свобод-

но располагается в просвете маточной трубы, а в месте контакта его со слизистой оболочкой не определяется признаков литических процессов.

Гландулоциты эпителия слизистой оболочки маточной трубы отличаются повышенной секреторной активностью, а ее сосудистое русло характеризуется полнокровием. Следствием этого является повышенная проницаемость стенки гемокapилляров, что приводит к набуханию собственной пластинки слизистой оболочки. Данный факт свидетельствует о том, что в период продвижения зародыша по маточной трубе между ним и материнским организмом уже на самом раннем этапе эмбриогенеза устанавливаются тесные взаимоотношения, обеспечивающие усиление секреторных процессов эпителиоцитов яйцевода [12].

По морфометрическим параметрам данный объект заметно отличается от предыдущего наличием одной большой полости бластоцисты, заметным уменьшением величины ядер клеток эмбриобласта, в то время как показатели размеров ядер трофобластических бластомеров остаются примерно в аналогичных пределах.

Дальнейшее увеличение количества клеток зародыша сопровождается морфофункциональными изменениями как со стороны самого зародыша, так и со стороны материнского организма.

Зародыш № 5 — 110–115-клеточная бластоциста человека (рис. 5). Ее возраст оценивается автором в 4,5–5 сут. О данном объекте опубликованы весьма краткие сведения [13], согласно которым наружные размеры бластоцисты составляют 102×66 мкм, а ее полости — 60×45 мкм. Величина эмбриобласта — 35 мкм. Указывается, что внешне данный зародыш схож с известной 107-клеточной бластоцистой человека, обнаруженной в матке [14].

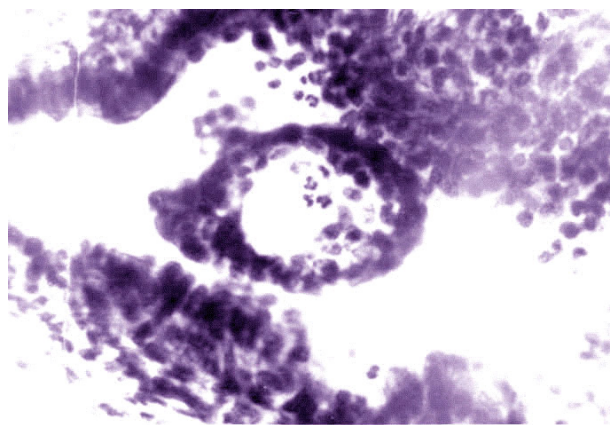


Рис. 5. 110-115-клеточная бластоциста человека, свободно находящаяся в просвете маточной трубы. Г.-э. Ув.: об. 8, ок. 10.

Анализ гистограмм свидетельствует о том, что бластоциста свободно располагается в просвете маточной трубы, имеет овальную форму. Ее стенка образована одним слоем клеток овоидной формы с базофильной цитоплазмой и округлыми интенсивно окрашенными ядрами. Полость бластоцисты — также овальной формы. На одном из полюсов бластоцисты локализуется зародышевый узелок (эмбриобласт), ширина которого составляет 38 мкм, а высота — 35 мкм. Цитоплазма клеток эмбриобласта более базофильна, чем в бластомерах трофобласта, а их ядра также интенсивно окрашены. У этого объекта, как и у предыдущего, отсутствует блестящая зона, при этом по сравнению с предыдущим зародышем размеры его бластомеров, согласно данным автора, заметно меньше, в то время как разница между бластомерами внутренней клеточной массы и трофобласта, а также их ядер не столь заметна.

Заслуживает внимания состояние стенки маточной трубы. Среди эпителиоцитов ее слизистой оболочки реснитчатые клетки характеризуются более выраженной базофилией цитоплазмы, в то время как набухшая цитоплазма железистых клеток весьма слабо окрашена. В цитоплазме последних определяются вакуолизированные образования, что является свидетельством о пребывании этих эпителиоцитов в состоянии секреции. Собственная пластинка слизистой оболочки отечная, а сосуды ее микроциркуляторного русла полнокровные.

По степени развития зародыши № 4 и 5 следует отнести к стадии III Карнеги.

Согласно литературным источникам [8, 15], на 6-е сутки эмбриогенеза в трофобласте бластоцисты происходят довольно заметные качественные и количественные изменения, которые связаны с предстоящей ее имплантацией. На эмбриональном полюсе бластодермического пузырька происходит усиленное размножение клеток трофобласта. В дальнейшем именно этим полюсом бластоциста будет погружаться в материнское ложе. При определенных ситуациях им может оказаться слизистая оболочка маточной трубы [16].

Зародыш № 6 — бластоциста человека на начальной стадии имплантации (рис. 6) обнаружена в перешейке маточной трубы, удаленной по медицинским показаниям. Микрофотография одного из срезов этого уникального объекта опубликована [6], но описательная часть не представлена. По анамнестическим данным и степени развития, возраст зародыша составляет около 5–6 сут (стадия IV Карнеги).

Как уже отмечено, у данного объекта, как и у двух предыдущих, отсутствует блестящая зона,

в связи с этим многие бластомеры трофобласта выбухают над общей поверхностью бластодермического пузырька. Судя по микроскопической картине, бластоциста находится в глубине складок слизистой оболочки маточной трубы. В ней отчетливо различаются эмбриональный (на рис. 5 — справа) и внезародышевый (слева) полюса. На эмбриональном полюсе зародыша выявляется внутренняя клеточная масса (эмбриобласт), которая тесно прилежит к трофобласту. Граница между эмбриональными и трофобластическими бластомерами сглажена. Бластомеры внутренней клеточной массы довольно плотно прилежат друг к другу, отчетливо контурируются, их ядра более хроматофильны и отличаются большими размерами, чем в трофобластических бластомерах.

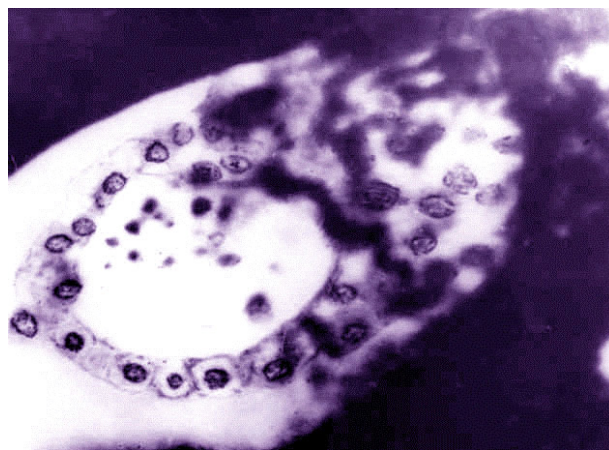


Рис. 6. Бластоциста человека, имплантирующаяся в стенку маточной трубы (по Б.П Хватову [13]). Видны гистолитические процессы в области имплантации зародыша (на рисунке — справа). Окраска гематолксилином — эозином.
Ув.: об. 40, ок. 10.

Стенка бластоцисты внезародышевого полюса образована одним слоем клеток, а имплантационный полюс имеет отчетливые признаки двухслойности. На периферии этого полюса местами границы между отдельными клетками стираются, что, как следует понимать, свидетельствует об образовании имплантационного симплатотрофобласта. Имеет место отделение некоторых трофобластических бластомеров от общей массы трофобласта эмбрионального полюса бластоцисты.

Величина и форма трофобластических бластомеров внеэмбрионального полюса варьируют. Большинство из них овальные с округлыми или овальными ядрами, локализующимися в центре клеток. Некоторые клетки приобретают уплощенную форму.

Морфология бластомеров трофобласта эмбрионального полюса в период, предшествую-

щий имплантации, и в начале этого процесса усложняется. Это сопровождается усилением базофилии их цитоплазмы и дисперсией хроматина в ядрах, что по сравнению с таковыми в трофобластических клетках внезародышевого полюса бластоцисты свидетельствует о нарастании функциональной активности таких клеток, которые связаны, как мы полагаем, с выработкой гистолитических ферментов, обеспечивающих имплантацию зародыша.

Характерной особенностью имплантационного ложа является то, что в нём в зоне непосредственного контакта (адгезии) трофобласта со слизистой оболочкой яйцевода местами уже имеются явные признаки лизиса материнских тканей. В таких местах обнаруживаются растворение апикальных полюсов клеток эпителиальной выстилки маточной трубы и образование небольших полостных образований, в которых видны фрагменты разрушенных эпителиоцитов. Однако на большем протяжении слизистой оболочки яйцевода в зоне ее контакта с трофобластом зародыша эпителиальная выстилка все еще сохраняет свою целостность, но в цитоплазме железистых эпителиоцитов обнаруживается повышенная секреторная активность, о чем свидетельствуют слабо выраженные ее тинкториальные свойства и наличие вакуолизированных образований.

Соединительнотканые элементы собственной пластинки слизистой оболочки яйцевода в зоне имплантационного ложа проявляют повышенную сосудистую реакцию в виде расширения гемокapилляров, стаза в них форменных элементов и повышенной проницаемости сосудистой стенки, вследствие чего в данной зоне наблюдаются явления отека стромы и выход в нее лейкоцитарных элементов.

Борис Павлович Хватов был генератором оригинальных идей и экспериментальных подходов. Его научные интересы были широки и разноплановы, однако в центре внимания всегда оставались проблемы эмбриогенеза.

Неизменным остается и тот факт, что Б. П. Хватов является основоположником экстракорпорального оплодотворения в Советском Союзе. Аспирант Г. Н. Петров под руководством проф. Б. П. Хватова впервые успешно осуществил экстракорпоральное оплодотворение человеческой яйцеклетки *in vitro* и проследил начальные этапы дробления зиготы [10, 11].

Борис Павлович Хватов был талантливым педагогом, удивительным ученым, многогранной личностью. Он всегда собирал вокруг себя увлеченную эмбриологией молодежь: студентов, аспирантов, молодых ученых. Их «увлечения» в последующем становились полноценными,

завершались достойными научными трудами и диссертационными работами [3]. Ученики Бориса Павловича продолжили дело, начатое Учителем, изучая в последующем развитие различных органов и систем: гисто- и органогенез в первые 2 мес эмбриогенеза (Ю. Н. Шаповалов.), красного костного мозга (З. И. Бродовская, В. Э. Торбек), женской и мужской половых систем (Л. С. Георгиевская, В. А. Королев, Б. В. Троценко, Л. К. Черняева), пищеварительной (Н. П. Барсуков, А. П. Гвоздухин, Н. С. Прохорова, Б. В. Савчук, Т. И. Шматова), дыхательной (Е. Д. Кипишневна) систем, органов чувств (Ю. С. Тихончук, Е. Ю. Шаповалова), морфологическое и функциональное становление плаценты (А. И. Брусиловский) и др.

Но это уже иная история...

ЛИТЕРАТУРА

1. Барсуков А. Н., Барсуков Н. П. Экстракорпоральное оплодотворение — экскурс в историю вопроса. Проблемы, достижения и перспективы развития медико-биологических наук и практического здравоохранения: Тр. ГУ «Крымский гос. мед. ун-т им. С. И. Георгиевского». 2010;146(VI):7-11.
2. Королёв В. А., Ромашова М. Р., Тарасюк Ю. А. Этапы столетия крымской морфологии. Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины. 2018;8(2):64-68.
3. Крымская эмбриологическая школа: 70 лет. Под ред. проф. В. А. Королева. Симферополь; 2011.
4. Хватов Б. П. Оплодотворение и ранние (трубные) стадии развития человека. Архив анат. 1960;39(12):3-17.
5. Хватов Б. П., Шаповалов Ю. Н. Ранняя эмбриология. Альбом. Симферополь, 1970 (рис. 111).
6. Хватов Б. П., Петров Г. Н., Королёв В. А. Оплодотворение и ранние стадии развития млекопитающих животных и человека. Эмбриология и морфология. Труды Крымск. мед. ин-та. 1961;30:3-12.
7. Хватов Б. П. Материалы к изучению процесса оплодотворения у млекопитающих животных и человека. Эмбриология и морфология. Труды Крымск. мед. ин-та. 1968;35 (2):7-9.
8. O'Rahilly R. Developmental stages in human embryos. Part A. Embryos of the first three weeks (stage 1 to 9). Contrib. Embryol. Carnegie Inst. Washington. 1973;631:1-169.
9. Хватов Б. П. Зародыш человека на стадии бластодермического пузырька. Арх. анат. 1967;53(7):51-56.
10. Литвинов В. В. Исследования оплодотворения яйцеклетки человека *IN VITRO* в 1955 г.

Таврический медико-биологический вестник. 2011; 13(3, ч.1):287–290.

11. Литвинов В. В., Сулима А. Н., Яковенко С. А. Отдельные главы истории экстракорпорального оплодотворения в мире и в Крыму. Репродуктивное здоровье: проблемы, пути, решения и достижения: Сборник научных трудов и материалов Международного мед. форума (г. Судак, 6–8 мая 2014 г.). Отв. ред. Е. Н. Прохан. Симферополь: Оджакъ, 2014:75–88.

12. Королёв В. А., Хватов Б. П. Гистофизиология маточных труб во время менструального цикла и беременности. Эмбриология и морфология. Труды Крымск. мед. ин-та. 1968. 35(2):17–22.

13. Хватов Б. П. Бластоциста человека. Морфогенез и регенерация. Труды Крымск. мед. ин-та. 1973;49:67–68.

14. Hertig F., Rock J., Adams C. A description of 34 human ova within first 17 days of development. Amer. J. Anat. 1956;98(3):435–493.

15. Mazanec K. Blastogenese des Menschen. Jena: VEB Gustav Fischer Verlag, 1959. 180.

16. Кириченко А. К., Базина М. И., Зыкова Л. Д., Али-Риза А. Э. Сравнительная характеристика ранних этапов развития эктопической и маточной беременности. Сибирский медицинский журнал. 2003;40(5):10–14.

REFERENCES

1. Barsukov A. N., Barsukov N. P. In vitro fertilization – an excursion into the history of the issue. Problems, achievements and prospects for the development of biomedical sciences and practical health care: Tr. State institution «Crimean state. med. un-t after. S.I. St. Georgievsky». 2010;146(VI):7-11. (In Russ.).

2. Korolev V. A., Romashova M. R., Tarasyuk Yu. A. Stages of the Crimean morphology century. Crimean journal of experimental and clinical medicine. 2018;8(2):64-68. (In Russ.).

3. Crimean embryological school: 70 years. Red. Professor V. A. Korolev. Simferopol', 2011. (In Russ.).

4. Khvatov B. P. Fertilization and the early (tubular) stage of human development. Arkhiv anatomii, gistologii, embriologii. 1960;39(12):3–17. (In Russ.).

5. Khvatov B. P., Shapovalov Yu. N. Early embryology. Album. Simferopol', 1970 (ris. 111):108. (In Russ.).

6. Khvatov B. P., Petrov G. N., Korolev V. A. Fertilization and the early development of mammals and man. Embriologiya i morfologiya. Trudy Krymskogo meditsinskogo instituta. 1961. Vol.30:3–12. (In Russ.).

7. Khvatov B. P. Materials for the study of the fertilization process in mammals and human // Embriologiya i morfologiya. Trudy Krymskogo meditsinskogo instituta. 1968. Vol. 35 (2):7–9. (In Russ.).

8. O'Rahilly R. Developmental stages in human embryos. Part A. Embryos of the first three weeks (stage 1 to 9). Contrib. Embryol. Carnegie Inst. Washington. 1973. Publ. 631:1–169.

9. Khvatov B. P. The human embryo at the stage blastodermal bubble. Arkhiv anatomii, gistologii, embriologii. 1967. Vol. 53(7):51–56. (In Russ.).

10. Litvinov V. V. Study of fertilization of human eggs IN VITRO in 1955. Tavricheskii mediko-biologicheskii vestnik. 2011. Vol. 13 (3, ch.1) (55):287–290. (In Russ.).

11. Litvinov V. V., Sulima A. N., Yakovenko S. A. Individual chapters of the history of in vitro fertilization in the world and in the Crimea. Reproductive health: problems, ways, solutions and achievements: Sbornik nauchnykh trudov i materialov Mezhdunarodnogo med. foruma (Sudak, 6–8 maya 2014 g.). Simferopol'. Otв. red. E. N. Prochan. Simferopol': Odzhak, 2014: 75–88. (In Russ.).

12. Korolev V. A., Khvatov B. P. Histophysiology fallopian tubes during the menstrual cycle and pregnancy. Embriologiya i morfologiya. Trudy Krymskogo meditsinskogo instituta. 1968. Vol. 35(2):17–22. (In Russ.).

13. Khvatov B. P. The blastocyst is human. Morfogenez i regeneraciya. Trudy Krymskogo meditsinskogo instituta. 1973. Vol. 49:67–68. (In Russ.).

14. Hertig F., Rock J., Adams C. A description of 34 human ova within first 17 days of development // Amer. J. Anat. 1956. Vol. 98 (3):435–493.

15. Mazanec K. Blastogenese des Menschen. Jena: VEB Gustav Fischer Verlag, 1959. 180.

16. Kirichenko A. K., Bazina M. I., Zykova L. D., Ali-Riza A. E. Comparative characteristics of early stages in the development of ectopic and intrauterine pregnancy. Sibirskii meditsinskii zhurnal. 2003. Vol. 40 (5):10–14. (In Russ.).

УДК: 616.995.1(09)470

DOI: 10.29039/2224-6444-2021-11-4-76-81

К 90 ЛЕТИЮ КАФЕДРЫ МИКРОБИОЛОГИИ, ВИРУСОЛОГИИ И ИММУНОЛОГИИ. ПРОФЕССОРА КАФЕДРЫ: ЗАВЕДУЮЩИЙ КАФЕДРОЙ В ПРЕДВОЕННЫЕ ГОДЫ ВЛАДИМИР ДАВЫДОВИЧ ШТИБЕН

Хайтович А. Б.

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: Хайтович Александр Борисович, доктор медицинских наук, профессор кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии, Институт «Медицинская академия имени С.И. Георгиевского», ФГАОУ ВО «КФУ имю В. И. Вернадского», e-mail: khaitovych@rambler.ru

For correspondence: Aleksandr B. Khaitovich, MD, Professor of the Department of Microbiology, Virusology and Immunology, Medical Academy named after S. I. Georgievsky of Vernadsky CFU, Simferopol, Russia. E-mail: khaitovych@rambler.ru

Information about author:

Khaitovich A. B., <http://orcid.org/0000-0001-9126-1182>

РЕЗЮМЕ

Владимир Давыдович Штибен, известный советский микробиолог, родился в 1895 г., в 1919 г. окончил медицинский факультет Саратовского университета. После окончания был призван на службу в Красную Армию, а затем через 4 месяца направлен на работу в Саратовский институт микробиологии и эпидемиологии (ныне ФКУЗ России НИПЧИ «Микроб» Роспотребнадзора), где принимал участие в борьбе с чумой. В своей профессиональной жизни Штибен В.Д. принимал участие в организации и работе нескольких научно-практических структур: в г. Оренбурге - Химико-бактериологической лаборатории (назначен директором); в г. Кызыл-Орда - Казахского Краевого санитарно-бактериологического института (становится его первым директором). Затем Штибен В.Д. переехал в г. Ташкент, где работал заведующим микробиологическим отделом Узбекского санитарно-бактериологического института, а затем заместителем директора по производству. С 1930 г. Штибен В.Д. одновременно начал преподавать на кафедре микробиологии в должности приват-доцента, штатного доцента, заведующим кафедрой микробиологии в Среднеазиатском университете, а затем в Ташкентском медицинском институте, где занимал должность заведующего кафедрой микробиологии, декана санитарного факультета и позднее был назначен директором Ташкентского медицинского института. В этот период профессору Штибену В.Д. было присуждено ученое звание доктор медицинских наук (без защиты диссертации). В 1938 г. профессор Штибен В.Д. был переведен на должность заведующего кафедрой микробиологии Крымского медицинского института, где проработал до осени 1941 г. и был эвакуирован вместе с институтом в восточные регионы СССР. С августа 1946 по март 1949 гг. и с 1956 по 1960 гг. Штибен В.Д. работал заведующим кафедрой микробиологии Красноярского медицинского института. В 1949 г. Штибен В.Д. был репрессирован и выехал из г. Красноярска. С 1953 по 1956 гг. работал врачом-бактериологом Боготольской городской СЭС (ныне СЭС города Ачинска и Ачинского района) Красноярского края. У Штибена В.Д. огромный опыт неоднократного участия в работе различных экспедиций по борьбе с опасными инфекционными заболеваниями (чумой, холерой). Научно-исследовательский интерес Штибена В.Д. разнообразный – это работы по изучению тифо-паратифозных и дизентерийных бактерий, палочки мягкого шанкра, возбудителей бактериозов тутового шелкопряда, в области серологии. Под его руководством подготовлено 12 докторских и кандидатских диссертаций, его перу принадлежит 76 научных работ, в том числе монография «Определитель бактерий патогенных для человека», ставшая настольной книгой практических врачей бактериологов в стране. В 1966 г. профессор Штибен Владимир Давыдович умер в г. Красноярске.

Ключевые слова: биография, кафедра, микробиология, институт, медицинский, научно-исследовательский, основатель

TO THE 90TH ANNIVERSARY OF THE DEPARTMENT OF MICROBIOLOGY, VIRUSOLOGY AND IMMUNOLOGY. PROFESSOR OF DEPARTMENT: HEAD OF DEPARTMENT IN THE PRE-WAR YEARS VLADIMIR DAVYDOVICH STIBEN

Khaitovich A. B.

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

SUMMARY

Vladimir Davydovich Stiben, a famous Soviet microbiologist, was born in 1895. In 1919 he graduated from the medical faculty of Saratov University. After graduation, he was called up to serve in the Red Army, and then after 4 months he was sent to work at the Saratov Institute of Microbiology and Epidemiology (now FKUZ of Russia NIPCHI «Microbe» of Rospotrebnadzor), where he took part in the fight against plague. In his life Shtiben V.D. took part in the organization and work of several scientific and practical structures: in the city of Orenburg - the Chemical and Bacteriological Laboratory (then he was appointed director); in the city of Kyzyl-Orda - the Kazakh Regional Sanitary-

Bacteriological Institute (and becomes its first director). Then he moved to Tashkent, where he worked as the head of the microbiological department of the Uzbek Sanitary-Bacteriological Institute, deputy director for production. Since 1930 Shtiben V.D. at the same time he began teaching at the Department of Microbiology as a privat-docent, staff assistant professor, head of the Department of Microbiology at the Central Asian University, and then at the Tashkent Medical Institute, where he held the position of head of the Department of Microbiology, dean of the Faculty of Sanitation and was later appointed director of the Tashkent Medical Institute. During this period, Professor Shtiben V.D. was awarded the academic title of Doctor of Medical Sciences (without defending a thesis). In 1938, Professor Shtiben V.D. was transferred to the post of head of the Department of Microbiology of the Crimean Medical Institute, where he worked until the fall of 1941 and was evacuated together with the institute to the eastern regions of the USSR. From August 1946 to March 1949 and from 1956 to 1960. Shtiben V.D. worked as the head of the Department of Microbiology of the Krasnoyarsk Medical Institute. In 1949 he was repressed and left the city of Krasnoyarsk. From 1953 to 1956 worked as a bacteriologist at the Bogotolsk city SES (now SES of the city of Achinsk and the Achinsk region) of the Krasnoyarsk Territory. Stieben V.D. had a vast experience of repeated participation in the work of various expeditions to combat dangerous infectious diseases (plague, cholera). Scientific research interest of Shtiben V.D. varied - this is work on the study of typhoid-paratyphoid and dysentery bacteria, soft chancre sticks, causative agents of silkworm bacteriosis, in the field of serology. Under his leadership, 12 doctoral and candidate dissertations were prepared, he penned 76 scientific works, including the monograph «Identifier of pathogenic bacteria for humans», which has become the reference book of practical bacteriologists in the country. In 1966, Professor Vladimir Davydovich Shtiben died in Krasnoyarsk.

Keywords: biography, department, microbiology, institute, medical, research, founder

Штибен Владимир Давыдович известный советский микробиолог, родился в 1895 г. Окончил медицинский факультет Саратовского университета в декабре 1919 г. Учась в университете, зарабатывал себе на жизнь уроками. Являлся учеником профессоров Златогорова С.И., Горовиц-Власовой Л.М. В 1917 г. поступил на работу сначала к профессору Златогорову С.И. в г. Пятигорске, затем препаратором в Саратовский институт микробиологии и эпидемиологии, где впоследствии получил должность лаборанта.

После окончания медицинского факультета Саратовского университета был мобилизован в Красную Армию и через 4 месяца откомандирован в распоряжение Саратовского института микробиологии и эпидемиологии (ныне Федеральное казенное учреждения здравоохранения России научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора) для работы по борьбе с чумой.

В 1922 г. Штибен В.Д. принимал участие в организации и работе в г. Оренбурге в краевой химико-бактериологической лаборатории, а в 1923 г. назначен директором Казахской Краевой химико-бактериологической лабораторией в г. Оренбург. В связи с переводом столицы Казахстана в г. Кызыл-Орду в 1925 г. Штибен В.Д. организывает Казахский Краевой санитарно-бактериологический институт и становится его первым директором, где проработал до 1928 г., и одновременно являлся консультантом Наркомздрава КАССР,

В 1926 г. был направлен в заграничную командировку, в период которой ознакомился с работой сывороточной и серологической лабораториями в Франкфуртском (Германия) и Копенгагенском (Дания) институтах.

Практическую работу Штибен В.Д. всегда сочетал с широкими научными исследованиями

и педагогической деятельностью, готовя кадры бактериологов для практического здравоохранения.

Стремясь повысить свои знания и расширить профессиональный кругозор, Штибен В.Д. в мае 1926 г. переезжает на работу в Ташкентский санитарно-бактериологический институт (Узбекская ССР). В должности заведующего микробиологического отдела, проработал до 1932 г. В этот период времени, он неоднократно был командирован на борьбу с эпидемиями, вел научную работу по актуальным проблемам инфекционной патологии [1 - 6] и готовил специалистов.

С 1931 по 1934 гг. был заместителем директора по производству Узбекского санитарно-бактериологического института. Одновременно на базе Среднеазиатского научно-исследовательского института шелководства Штибеном В.Д. проведен цикл исследований по изучению бактериальной болезни шелковичных червей и получен приоритет открытия бактерий – возбудителей заразного заболевания шелковичных червей [7 - 13].

С 1930 г. Штибен В.Д. одновременно начал преподавать на кафедре микробиологии в должности приват-доцента, а затем в 1932 г. штатного доцента, в 1933 г. избран заведующим кафедрой микробиологии Средне-Азиатского университета и в этом же году ему присвоено звание профессора.

В 1935 г. в Ташкентском медицинском институте, занимая должность заведующего кафедрой микробиологии, профессору Штибену В.Д. было присуждено ученое звание доктор медицинских наук (без защиты диссертации). В 1937 г. профессор Штибен В.Д. назначен деканом санитарного факультета Ташкентского медицинского института, а затем - директором Ташкентского медицинского института.

В 1938 г. профессор Штибен В.Д. был переведен на должность заведующего кафедрой микробиологии Крымского медицинского института, и переехал в Крым (рис.1). В этой должности проработал до осени 1941 г. и был эвакуирован вместе с Крымским медицинским институтом в восточные регионы СССР (г. Арзамас), а оттуда направлен в город Джеты-Тару (Кустанайская область, Казахстан), где работал до мая 1946 г.



Рис. 1. Фото. Владимир Давидович Штибен (1895-1966), ученый, микробиолог, организатор здравоохранения, профессор (1933), доктор медицинских наук (1935)

После прохождения конкурса с августа 1946 г. по март 1949 г. Штибен В.Д. работал заведующим кафедрой микробиологии Красноярского медицинского института (рис.2). Штибен В.Д. приехал в г. Красноярск уже известным организатором здравоохранения, крупным ученым, имея большой опыт работы заведующего кафедрой и директора института. Известность ему принесли работы по изучению тифо-паратифозных и дизентерийных бактерий, палочки мягкого шанкра, возбудителей бактериозов тутового шелкопряда, в области серологии, работы, посвященные характеристике стрептококков и стафилококка. К этому времени уже дважды была издана монография «Определитель бактерий, патогенных для человека», основанная в значительной степени на оригинальных материалах автора [14]. Он имел опыт неоднократного уча-

ствия в работе различных экспедиций по борьбе с опасными инфекционными заболеваниями (чумой, холерой). Профессор Штибен В.Д. продолжил в Красноярском медицинском институте работу над изучением возбудителя туберкулеза, начатую еще в Ташкентском медицинском институте и был руководителем диссертационной работы по данной теме диссертации ассистента кафедры Трофимовой Л.И.

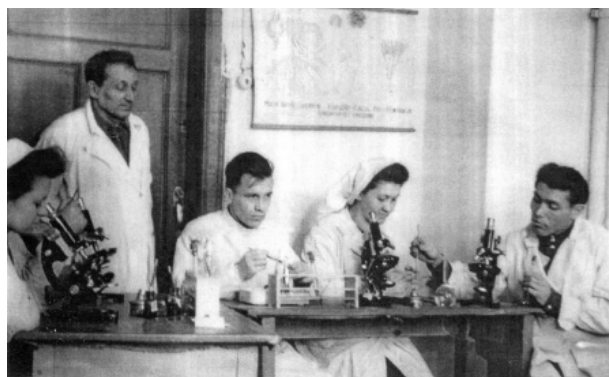


Рис. 2. Фото. 1946 год. Заведующий кафедрой микробиологии, доктор медицинских наук, профессор Штибен В.Д. проводит практические занятия со студентами

Затем в 1949 г. был репрессирован и вынужден был уехать из г. Красноярск.

С 1953 по 1956 гг. доктор медицинских наук, профессор Штибен В.Д. работал врачом-бактериологом Боготольской городской СЭС (ныне СЭС города Ачинска и Ачинского района) Красноярского края.

С 1956 г. Штибен В.Д. возвращается работать в Красноярский медицинский институт, где вновь становится заведующим кафедрой микробиологии и одновременно являлся консультантом Краевой санитарно-эпидемиологической станции.

22 февраля 1960 г. Штибен В.Д. вышел на пенсию по состоянию здоровья.

Многие годы профессор Штибен В.Д. был председателем Объединенного Красноярского краевого научного общества микробиологов, эпидемиологов и санитарных врачей и способствовал улучшению санитарной организации и проведению оздоровительных мероприятий в Красноярском крае.

Под руководством Штибена В.Д. подготовлено 12 докторских и кандидатских диссертаций. Его перу принадлежит 76 научных работ, в том числе монография «Определитель бактерий патогенных для человека» стала настольной книгой практических врачей бактериологов в стране (рис. 3).

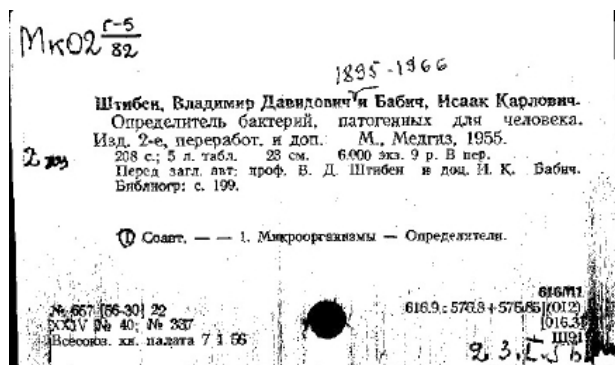


Рис. 3 Фото. Формуляр монографии «Определитель бактерий, патогенных для человека»

В 1966 г. профессор Штибен Владимир Давидович умер в г. Красноярске. В ведущем научном журнале микробиологии, эпидемиологии и иммунологии Советского Союза была опубликована статья, посвященная памяти профессора Владимир Давидовича Штибена [15].

В последующие годы памяти профессора Штибена В.Д. посвящено несколько публикаций, изданных в Крыму и Красноярском крае [16 - 19], посвященные жизненному пути, научному вкладу одному из крупнейших и выдающихся микробиологов Советского Союза.

ЛИТЕРАТУРА

1. Штибен В. Д. Бешенство / Кызыл-Орда. НаркомздравКаз.ЦСНХ. 1928;(1):13.
2. Штибен В. Д. Отчет о деятельности Краевого санитарно-бактериологического института Казахского Наркомздрава имени КазУика. Кызыл-Орда. 1928.
3. Штибен В.Д. К вопросу о культуральных и серологических признаках паратифа / Штибен В.Д., Максимович М. Узбекский санитарно-бактериологический институт им. 10 лет Советской медицины. Журнал Вестник микробиология, эпидемиология и паразитология. 1929;8(3):20. (отдельный оттиск).
4. Штибен В. Д. К вопросу о формализированной вакцине. Штибен В. Д., Максимович М. Узбекский санитарно-бактериологический институт им. 10 лет Советской медицины. Журнал Вестник микробиология, эпидемиология и паразитология. 1929;8(2):6 (отдельный оттиск).
5. Штибен В. Д. R и S формы паратифа С. / Из микробиологического отдела Узбекский санитарно-бактериологический институт им. 10 лет Советской медицины. Саратов. 1930:8.
6. Штибен В. Д., Максианович М. О типовой принадлежности паратифа № 1 и № 2. / Из микробиологического отделения санитарно-

бактериологического института имени 10-летия советской медицины. Саратов, 1930:6.

7. Штибен В. Д. Болезни шелковичных червей. / М.; Ташкент, 1932:16.
8. Штибен В. Д. Болезни шелковичных червей и борьба с ними / М.; Ташкент, 1933.60 с.
9. Штибен В. Д. Бактериозы гусениц тутового шелкопряда / Народный комитет земледелия СССР Всесоюзной академии сельскохозяйственных наук им. В.И. Ленина. Труды Среднеазиатского научно-исследовательского института шелкопрядства. 1933. вып.6. М.-Ташкент САОГИЗ.1933.

10. Штибен В. Д. Болезни шелковичных червей и борьба с ними / В. Д. Штибен ; НКЗ СССР. Всесоюзной академии сельскохозяйственных наук им. В.И. Ленина. - Москва; Ташкент : Объединение гос. изд-ва. Средне-аз. отд., 1933:59. (Серия А (научно-популярная)/ Среднеазиатский научно-исследовательский институт шелкопрядства; Выпуск 5).

11. Штибен В. Д., Казарова Е. И., Циклаури Е. В. Труды Среднеазиатского научно-исследовательского института шелководства. 1933. Вып.3.
12. Штибен В. Д. Материалы к вопросу о бактериальной флоре тутового шелкопряда в связи с этиологией мертвенности к разным дезинфекционным веществам М. Ташкент САОГИЗ 1933:26.

13. Штибен В. Д. Определитель бактерий, патогенных для человека. Schizomycetales и семейство Proactinomycetaceae / Ташкент: Государственное издательство Узбекской ССР; 1935.

14. Штибен В. Д., Бабич И. К. Определитель бактерий, патогенных для человека. / М.: Медгиз; 1955.
15. Памяти профессора Владимир Давидовича Штибена / Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. М. 1966;9:144.
16. Попов Р. Мир ученых в Крыму. Исторический очерк / Симферополь. Доля 2007.
17. Скоркин К. В. Они носили твою фамилию. Биографический справочник. Земская и советская медицина 1900-1941. Часть 1, Москва, 2012:1240.

18. В книге: Профессора Красноярской государственной медицинской академии.1942-2002 гг. Красноярск. 2017.

19. Непомнящий А. А., Кравчук А. С., Ломакин Д. А., Грушецкая В. А., Ислямов Э. М. Штибен Владимир Давидович / Профессора Крымского федерального университета им. В.И. Вернадского: в 3-х томах. Белгород: Константа. 2018;3:330-331.

REFERENCES

1. Shtiben V. D. Rabies / Kyzyl-Horde. Narkomzdrav Kaz. TsSNKh. 1928;(1):13. (In Russ.).

2. Shtiben V. D. Report on the activities of the Regional Sanitary-Bacteriological Institute of the Kazakh People's Commissariat for Health named after KazUik. Kyzyl-Orda. 1928. (In Russ.).

3. Shtiben V. D. On the question of the cultural and serological signs of paratyphoid fever / Shtiben V. D., Maksimovich M. Uzbek Sanitary-Bacteriological Institute named after V.D. 10 years of Soviet medicine. Journal Vestnik microbiology, epidemiology and parasitology. 1929; 8(3):20. (separate print). (In Russ.).

4. Shtiben V. D. On the question of a formalized vaccine. Shtiben V.D., Maksimovich M. Uzbek Sanitary-Bacteriological Institute named after V.D. 10 years of Soviet medicine. Journal Vestnik microbiology, epidemiology and parasitology. 1929;8(2):6. (separate print). (In Russ.).

5. Shtiben V. D. R and S forms of paratyphoid C. / From the microbiological department Uzbek Sanitary-Bacteriological Institute named after S. 10 years of Soviet medicine. Saratov. 1930.8 pp. (In Russ.).

6.. Shtiben V. D., Maksianovich M. About the type of paratyphoid fever No. 1 and No. 2. / From the microbiological department of the sanitary-bacteriological institute named after the 10th anniversary of Soviet medicine. Saratov, 1930:6. (In Russ.).

7. Shtiben V. D. Diseases of silkworms. M. ; Tashkent, 1932:16. (In Russ.).

8. Shtiben V. D. Diseases of silkworms and the fight against them. M.; Tashkent, 1933:60. (In Russ.).

9. Shtiben V. D. Bacteriosis of silkworm caterpillars. People's Committee of Agriculture of the USSR of the All-Union Academy of Agricultural Sciences named after V.I. IN AND. Lenin. Proceedings of the Central Asian Research Institute of Silk Weaving. 1933, issue 6. M.-Tashkent SAOGIZ. 1933:48. (In Russ.).

10. Shtiben V. Diseases of silkworms and the fight against them. V. D. Shtiben; NKZ USSR. All-Union Academy of Agricultural Sciences named after IN AND. Lenin. Moscow; Tashkent: Association of state. publishing house. Middle-az. otdel., 1933:59. (Series A (popular science). Central Asian Research Institute of Silk Weaving; Issue 5). (In Russ.).

11. Shtiben V. D., Kazarova E. I., Tsiklauri E.V. Proceedings of the Central Asian Research Institute of Sericulture. 1933. Issue 3. (In Russ.).

12. Shtiben V. D. Materials on the question of the bacterial flora of the silkworm in connection with the etiology of death to various disinfectants M. Tashkent SAOGIZ 1933:26. (In Russ.).

13. Shtiben V. D. Keys to bacteria pathogenic for humans. Schizomycetales and the Proactinomycetaceae family. Tashkent: State Publishing House of the Uzbek SSR, 1935. (In Russ.).

14. Shtiben V. D., Babich I. K. Keys to bacteria pathogenic for humans. M.: Medgiz, 1955. (In Russ.).

15. In memory of Professor Vladimir Davidovich Shtiben / Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunology. M. 1966;9:144. (In Russ.).

16. Popov R. The world of scientists in the Crimea. Historical sketch / Simferopol. Share 2007. (In Russ.).

17. Skorkin K. V. They bore your last name. Biographical reference book. Zemsky and Soviet medicine 1900-1941. Part 1, Moscow. 2012:1240. (In Russ.).

18. In the book: Professors of the Krasnoyarsk State Medical Academy. 1942-2002. Krasnoyarsk. 2017. (In Russ.).

19. Nepomnyashchy A. A., Kravchuk A. S., Lomakin D. A., Grushetskaya V. A., Islyamov E. M. Shtiben Vladimir Davidovich / Professors of the Crimean Federal University. IN AND. Vernadsky: in 3 volumes. Belgorod: Constant. 2018;3:330-331. (In Russ.).

ВЛИЯНИЕ МЕТОТРЕКСАТА И БИОЛОГИЧЕСКОЙ БАЗИСНОЙ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ ТЕРАПИИ НА КОНЦЕНТРАЦИЮ NT-PROBNP У ПАЦИЕНТОВ С РЕВМАТОИДНЫМ АРТРИТОМ

Горлов А. А., Петров А. В., Яцков И. А.

Кафедра внутренней медицины №2, 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: Горлов Александр Александрович, кафедра внутренней медицины №2, Институт «Медицинская академия имени С.И. Георгиевского», ФГАОУ ВО «КФУ им. В. И. Вернадского», e-mail: alexander_gorloff@mail.ru

For correspondence: Gorlov Alexander, Department of Internal Medicine №2, Institute «Medical Academy named after S. I. Georgievsky» of Vernadsky CFU, e-mail: alexander_gorloff@mail.ru

Information about author:

Gorlov A. A., <https://orcid.org/0000-0003-3429-0686>

Petrov A. V., <https://orcid.org/0000-0002-6398-2545>

Yatskov I. A., <https://orcid.org/0000-0002-5486-7262>

РЕЗЮМЕ

Натрийуретические пептиды являются естественными антагонистами ренин-ангиотензин-альдостероновой системы и симпатической нервной системы. NT-proBNP - это нейрогормон, секретируемый обоими желудочками в ответ на перегрузку объемом и давлением. Определение N-концевого фрагмента натрийуретического пептида типа В (NT-proBNP) имеет ценность для диагностики и прогноза сердечной недостаточности. Высокое значение NT-proBNP связано с повышенным риском сердечно-сосудистых заболеваний и смертностью от сердечно-сосудистых заболеваний. Пациенты с ревматоидным артритом (РА) представляют собой особый контингент больных, характеризующихся повышенными показателями сердечно-сосудистого риска по сравнению с общей популяцией. Целесообразность исследования уровней NT-proBNP среди пациентов с РА для ранней диагностики сердечно-сосудистых заболеваний и установления прогноза больных остается на данный момент недостаточно освещенным и перспективным направлением.

Ключевые слова: ревматоидный артрит, N-концевой фрагмент натрий-уретического пептида, базисная противовоспалительная терапия

IMPACT OF METHOTREXATE AND BIOLOGICAL DISEASE-MODIFYING DRUGS ON NT-PROBNP LEVELS IN RA PATIENTS

Gorlov A. A., Petrov A. V., Yatskov I. A

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

SUMMARY

Natriuretic peptides are considered natural antagonists of renin-aldosterone system and sympathetic nervous system. NT-proBNP is a neurohormone derived from both ventricles as a part of response to a functional overload. NT-proBNP testing seems to be beneficial in establishing diagnosis of congestive heart failure and in evaluating prognosis of these patients. Increased values of NT-proBNP pose a serious risk of cardiovascular events and all-cause mortality. Patients with rheumatoid arthritis (RA) represent a distinct group featured by elevated cardiovascular risk in comparison with general population. Practicability of NT-proBNP testing in RA patients should be further investigated in order to ensure early diagnosis of cardiovascular diseases and to adjust monitoring based on prognostic considerations.

Key words: rheumatoid arthritis, N-terminal pro-brain natriuretic peptide, disease modifying antirheumatic drugs

Натрийуретические пептиды являются естественными антагонистами ренин-ангиотензин-альдостероновой системы и симпатической нервной системы. Определение N-концевого фрагмента натрийуретического пептида типа В (NT-proBNP) полезно для диагностики и прогноза сердечной недостаточности. NT-proBNP - это нейрогормон, секретируемый обоими желудочками в ответ на перегрузку объемом и давлени-

ем. Напряжение стенки желудочка в поздней диастоле и ее жесткость являются основными триггерами высвобождения NT-proBNP.

NT-proBNP позволяет прогнозировать смертность у пожилых людей без сердечно-сосудистых заболеваний в анамнезе и у взрослых с диагнозом хронической сердечной недостаточности (ХСН) или ишемической болезни сердца. Высокое значение NT-proBNP связано с повы-

шенным риском сердечно-сосудистых заболеваний и смертностью от сердечно-сосудистых заболеваний.

Более высокие уровни NT-proBNP в плазме были связаны в исследовании с более высокой частотой сердечно-сосудистых событий. При корректировке на возраст, пол и другие соответствующие коварианты каждое удвоение NT-proBNP оставалось значимо связанным с повышением риска общей смертности на 22% ($P < 0,001$) и на 16% повышением риска сердечно-сосудистых событий ($P < 0,001$) [1].

В исследовании [2] пациенты с уровнем NT-pro-BNP в наивысшем квартиле были старше, имели более низкую фракцию выброса левого желудочка и более низкий уровень клиренса креатинина и с большей вероятностью имели в анамнезе инфаркт миокарда, клинически значимую ишемическую болезнь сердца и характеризовались повышенной встречаемостью диабета, чем пациенты с уровнем NT-pro-BNP в самом низком квартиле.

Согласно результатам многих исследований, уровень NT-proBNP в среднем значительно выше у пациентов с ревматоидным артритом (РА), чем среди участников контрольной группы. У пациентов с ранним РА диагностически значимая концентрация NT-proBNP для выявления ХСН была выше (237 пг/мл), чем у пациентов без РА (125 пг/мл) [3].

Сообщается, что концентрация NT-proBNP увеличена у пациентов с РА, независимо от факторов риска сердечно-сосудистых заболеваний [4].

Уровень NT-proBNP был значительно выше у пациентов с РА, чем в контроле (среднее значение 109,0 пг/мл против 42,5 пг/мл, $p < 0,001$) [5].

Концентрации NT-proBNP у пациентов с ранним РА оказались выше, чем в контрольной группе ($p < 0,0001$) [3].

Crowson и др. изучали пациентов с РА без сердечно-сосудистых заболеваний в анамнезе и сравнили 231 пациента с РА и 1730 пациентов без РА. Они и другие обнаружили, что пациенты с РА могут иметь более высокий уровень NT-pro-BNP, чем контрольная группа [6].

До сих пор ведутся споры о влиянии NT-proBNP на прогнозирование сердечной недостаточности у пациентов с РА. Некоторые авторы считают его чувствительным неинвазивным предиктором субклинического сердечно-сосудистого заболевания у данной группы пациентов, а также предиктором общей смертности независимо от традиционных факторов риска сердечно-сосудистых заболеваний. Однако корреляция с параметрами сердечной функции была подтверждена не во всех проводившихся исследованиях.

Аналогично, на данный момент в литературе нет единой широко принятой точки зрения насчет роли NT-proBNP в усилении общего сердечно-сосудистого риска. Имеются данные, подтверждающие синтез NT-proBNP после высвобождения воспалительных цитокинов. Однако в исследовании [4] не удалось идентифицировать связь NT-proBNP с воспалением и активностью заболевания (за исключением HAQ-DI); это контрастирует с несколькими другими исследованиями, в которых участвовали пациенты с более длительной продолжительностью заболевания.

У пациентов с ранним воспалительным артритом повышенный уровень NT-pro-BNP связан с HAQ и СРБ и позволяет прогнозировать смертность от всех причин и сердечно-сосудистых заболеваний независимо от обычных факторов риска сердечно-сосудистых заболеваний [6].

В одном исследовании среди пациентов с ранним РА NT-proBNP коррелировал с исходным уровнем СРБ, предсказывая NT-proBNP с повторными измерениями через 10 лет [4], однако данные о сопутствующих сердечно-сосудистых заболеваниях не собирались, ограничивая их применение только пациентами без клинических сердечно-сосудистых заболеваний.

В настоящее время нет рекомендаций, призывающих к использованию BNP- или NT-proBNP-скрининга среди населения в целом. Скрининг BNP или NT-proBNP лишен какой-либо диагностической значимости для бессимптомных пациентов группы с низким кардиоваскулярным риском. Скрининг может иметь значение для определенных групп риска, например, для пациентов с воспалительными заболеваниями (РА), особенно, в категории больных с длительным стажем [6].

Уровни натрийуретических пептидов изучались у пациентов с ранним воспалительным артритом в Норфолкском регистре пациентов с РА [6]. Исследование предположило, что NT-pro-BNP может играть роль в стратегии скрининга для выявления пациентов с ранним воспалительным артритом, прежде всего ревматоидным, которым может быть полезна более агрессивная стратегия контроля сердечно-сосудистого риска. Тем не менее, в заключение авторы признали необходимость дальнейших исследований для уточнения взаимосвязи между уровнями NT-pro-BNP и сердечно-сосудистыми исходами у пациентов с воспалительными заболеваниями, в первую очередь, ревматологического профиля, чтобы установить прогностическую ценность NT-pro-BNP [6].

В исследовании [7] анализировались уровни NT-proBNP среди пациентов, длительное

время принимающих нестероидные противовоспалительные препараты (НПВП) по поводу артрита. NT-proBNP продемонстрировал сильную связь с частотой сердечно-сосудистых событий, включая смерть от сердечно-сосудистых заболеваний, инфаркт миокарда, сердечную недостаточность и совокупность тромботических событий (смерть от сердечно-сосудистых заболеваний, инфаркт миокарда, инсульт) или сердечной недостаточности. Исходные уровни высокочувствительного СРБ не были связаны с сердечно-сосудистыми событиями (смерть от сердечно-сосудистых заболеваний / инфаркт миокарда / инсульт / сердечная недостаточность). NT-proBNP оставался надежным прогностическим фактором сердечно-сосудистых событий после корректировки на возраст, пол, диабет, гипертензию, гиперлипидемию, курение, тип артрита, индекс массы тела, клиренс креатинина, сердечно-сосудистые заболевания в анамнезе и высокочувствительный СРБ. У пациентов с уровнем NT-proBNP ниже 100 пг / мл частота тромботических событий или сердечной недостаточности через 2 года составляла 0,94%. Согласно результатам исследования, NT-proBNP может рассматриваться как простой и надежный неинвазивный индикатор риска сердечно-сосудистых заболеваний у пациентов с активным артритом [7], однако в исследовании не анализировалась взаимосвязь между NT-proBNP и длительностью и активностью воспалительного заболевания суставов.

Результаты исследования [4], напротив, не нашли доказательств в пользу значительной диагностической ценности более высоких уровней NT-proBNP при раннем РА. Учитывая, что NT-proBNP отражает заключительные стадии патогенеза сердечно-сосудистых заболеваний, его диагностическая ценность при раннем РА может быть ограничена. С другой стороны более высокие титры NT-proBNP при РА могут требовать установления более высоких пороговых значений в качестве определения входного критерия для диагностирования хронической сердечной недостаточности.

Неудивительно, пациенты с ранним РА и с одновременным повышением уровней NT-proBNP демонстрировали те же черты, присущие и пациентам с высоким NT-proBNP в общей популяции. В исследовании [3] уровни NT-proBNP выше нормы наблюдались у 36 (49%) пациентов. Пациенты с ранним РА и повышенными значениями NT-proBNP были старше и имели более высокий индекс массы тела (ИМТ), чем пациенты с нормальным уровнем NT-proBNP. У лиц с повышенными концентрациями NT-proBNP чаще обнаруживался атеросклероз сонных артерий,

коронарный кальциноз и ишемическая болезнь сердца; толщина комплекса интима-медиа также была больше, а уровни СРБ выше, чем у пациентов с нормальными значениями NT-proBNP. Были обнаружены корреляции между уровнями NT-proBNP и скоростью оседания эритроцитов, СРБ, упрощенным индексом активности болезни SDAI и индексом клинической активности болезни DAS-28. Многофакторный анализ показал, что частота сопутствующих хронической сердечной недостаточности и атеросклероза сонных артерий, уровни СРБ и липопротеинов низкой плотности, а также ИМТ коррелируют с концентрациями NT-proBNP [3]. Однако в выборке участвовали пациенты с ранним РА безотносительно к их стратификации по уровню кардиоваскулярного риска и влияние сопутствующего сердечно-сосудистого коморбидного фона не анализировалось, который вероятнее всего предшествовал во времени формированию раннего РА, поэтому результаты исследования могут обладать меньшей применимостью в отношении пациентов с ранним РА и повышенным NT-pro-BNP с низким сердечно-сосудистым риском.

С другой стороны, из 960 пациентов с ранней стадией воспалительного артрита [6] только 17% имели в анамнезе сердечно-сосудистые заболевания, в то время как 39% пациентов имели исходный уровень NT-pro-BNP ≥ 100 пг/мл. При этом NT-pro-BNP коррелировал с возрастом, женским полом, оценкой HAQ, СРБ, курением, гипертонией в анамнезе, предшествующими сердечно-сосудистыми заболеваниями и наличием каротидных бляшек по данным ультразвукового исследования. Десять процентов пациентов во время исследования умерло, в том числе 31 (3%) от сердечно-сосудистых заболеваний. В анализе с поправкой на возраст и пол повышенный уровень NT-pro-BNP (≥ 100 пг/мл) был связан как со смертностью от всех причин, так и со смертностью от сердечно-сосудистых заболеваний.

Здесь, тем не менее, следует отметить, что в исследованиях [8; 9] наблюдалась прямая значимая связь между длительностью артрита и уровнями NT-proBNP.

Среди 70 пациентов с ревматоидным артритом (без учета длительности заболевания), у которых ранее не сообщалось о наличии диагностированной сердечно-сосудистой патологии, и которые находились в пределах индекса DAS-28 менее 3,2 на протяжении от 2 до 7 лет, сообщается о повышенной встречаемости утолщения комплекса интима-медиа, продленного интервала QT, у 32,9% пациентов с РА был обнаружен высокий или очень высокий риск по SCORE, а

повышенный уровень NT-proBNP в сыворотке - у 71,4% пациентов [10].

Эти результаты предполагают более высокий риск сердечно-сосудистых заболеваний у пациентов с низкой активностью РА по сравнению со здоровым контролем.

Необходимы дальнейшие исследования, чтобы определить, может ли NT-pro-BNP быть клинически полезным для определения группы с повышенным сердечно-сосудистым риском среди пациентов с РА.

Другой проблемой, связанной с оценкой диагностической ценности NT-pro-BNP у пациентов с РА, является клиническая активность заболевания. Влияние активности заболевания РА на биомаркеры риска сердечно-сосудистых заболеваний не изучалось широко, особенно на ранних стадиях заболевания. Этому вопросу посвящено множество исследований, показавших взаимосвязь между NT-pro-BNP и активностью артрита. Так, снижения уровней NT-proBNP у пациентов с РА с ремиссией были значительнее, чем у пациентов, не достигших ремиссии [11]. Анализ множественной линейной регрессии показал, что процентное изменение уровня NT-proBNP было значимо связано с изменением по упрощенному индексу активности заболевания SDAI, даже после корректировки уровней ревматоидного фактора, продолжительности РА, возраста и наличия антител к циклическому цитруллинированному пептиду [5]. Были также выявлены положительные ассоциации между NT-proBNP и активностью заболевания, выраженной в баллах DAS28 [4]. Это же исследование, однако, не выявило доказательств того, что изменения NT-proBNP в течение 78 недель наблюдения были связаны с изменениями по индексу активности DAS44-CRP среди группы пациентов с РА.

Проведенный анализ 41 случая ревматоидного артрита на протяжении 6 лет не выявил значительной корреляции между с одной стороны NT-proBNP и параметрами активности ревматоидного артрита – с другой [12].

Данная несколько противоречивая картина может быть объяснена тем, что вспышки воспалительной активности могут быть более подходящими и точными предикторами сердечно-сосудистых событий, чем длительное воздействие воспаления слабой степени. Действительно, есть свидетельства того, что возникновению хронической сердечной недостаточности у пациентов с РА предшествует обострение активности заболевания [8].

Существенным в вопросе взаимоотношений активности артрита и NT-proBNP является природа связей последнего с маркерами воспаления,

прежде всего, СРБ. В соответствии с результатами исследования [8], уровни СРБ и NT-proBNP оставались значимо связанными в многомерном анализе, при этом СРБ был значительно связан с уровнями NT-proBNP в течение всего времени проводившегося исследования.

Уровни СРБ оказались линейно связаны с уровнями NT-proBNP в поперечном и продольном анализе пациентов с РА. Уровни СРБ были независимо связаны с NT-proBNP в окончательной статистической модели, которая была скорректирована с учетом пола, возраста и уровней креатинина. В продольном анализе, скорректированном с учетом возраста, пола и длительности наблюдения, авторы обнаружили, что повторные измерения СРБ коррелировали с уровнями NT-proBNP. Уровни СРБ линейно связаны с уровнями NT-proBNP в поперечном и продольном анализе пациентов с РА [9]. В исследовании [4] была отмечена связь между NT-proBNP и СРБ.

Изменение NT-proBNP, но не hsTnT (высокочувствительный тропонин Т), умеренно коррелировало с изменением СРБ [13]. При 10-летнем контрольном обследовании уровни СРБ были достоверно связаны с уровнями NT-proBNP [9].

В исследовании [14], напротив, уровни СРБ не были существенно связаны с уровнями NT-proBNP.

Связь между СРБ и NT-proBNP, может являться следствием воспалительной природы ремоделирования желудочков. Пациенты с РА не только подвержены системному воспалению из-за артрита, но и само сердце может быть поражено мононуклеарными клетками периферической крови, которые участвуют в ремоделировании левого желудочка. Эти и другие воспалительные клетки высвобождают фактор некроза опухоли альфа (ФНО- α) и интерлейкин-6 (ИЛ-6), тем самым повышая уровень СРБ за счет стимуляции синтеза последнего в печени [8]. У пациентов с РА высокие уровни NT-proBNP и hsTnT, независимо от профиля сердечно-сосудистого риска, вероятно отражают субклиническое повреждение миокарда и дисфункцию, связанную с хроническим воспалением [13].

Связь между NT-proBNP и СРБ подтверждает связь между дисфункцией миокарда и воспалением. Предположительно, этим можно объяснить изменения NT-proBNP после противоревматического лечения положительно коррелировавшие с изменениями СРБ и скорости оседания эритроцитов (СОЭ) [8].

Независимые ассоциации уровней NT-proBNP и маркеров активности заболевания с повышенным сердечно-сосудистым риском требуют дальнейшего изучения [9].

Данные литературы, касающиеся связи NT-proBNP с серологическими параметрами ревматоидного артрита, медиаторами воспаления, параметрами Эхо-КГ и УЗИ сонных артерий ограничены. Так, например, в группе РА более высокие уровни NT-proBNP были обнаружены у позитивных пациентов с ревматоидным фактором [15]. Были выявлены положительные ассоциации между NT-proBNP, индексом mSCORE и концентрацией РФ [4].

Пациенты, позитивные на антитела к циклическому цитруллинированному пептиду (АЦЦП), с большей вероятностью имели более низкий уровень NT-proBNP (медиана: 55,25 пг / мл (34,02, 93,90) по сравнению с 105,70 пг / мл (49,84, 253,10) среди АЦЦП-отрицательных пациентов ($p = 0,016$) [4].

В исследовании концентрация NT-proBNP достоверно коррелировала со значением СОЭ и продолжительностью заболевания [4].

В исследовании [14], более высокие уровни ИЛ-6 были связаны с более высокими уровнями NT-proBNP как при изначальном, так и при последующих определениях. Например, каждый натуральный логарифм ИЛ-6 на 1 единицу выше был связан с повышением уровня NT-proBNP на 16%. Воспаление может быть триггером для высвобождения натрийуретического пептида, и при интерпретации уровней последнего следует учитывать сопутствующие воспалительные состояния, такие как РА.

В вышеприведенном исследовании [12] анализ не выявил значительной корреляции между NT-proBNP с одной стороны и параметрами толщины каротидного комплекса интима-медиа, длительностью интервала QT – с другой. Ввиду чего исследователи предполагают более важную роль традиционных факторов риска сердечно-сосудистых событий, чем факторов, специфических для ревматоидного артрита, в оценке суммарного кардиоваскулярного риска. Особенно, когда речь идет о длительном мониторинге пациентов.

Диастолическая дисфункция левого желудочка (ДДЛЖ) была выявлена у 35 (48%) пациентов с ранним РА. Уровень NT-proBNP у пациентов с диастолической дисфункцией (ДД) был выше, чем у пациентов без ДД. Более высокие значения NT-proBNP наблюдались у 23 (65%) и 12 (32%) пациентов с и без ДДЛЖ, соответственно. Оптимальный уровень NT-proBNP для выявления ХСН составлял 237,4 пг/мл (чувствительность 86% и специфичность 85%) [3]. Тем не менее, если целью является оценка функции ЛЖ, эхокардиография по-прежнему остается методом выбора. [6]

Среди терапевтических модальностей, используемых для лечения пациентов с РА, числятся базисные противовоспалительные препараты (БПВП), включающие синтетические (метотрексат и др.) и биологические (ингибиторы ФНО- α (ИФНО- α)) препараты, и НПВП. Данные литературы разнятся насчет влияния терапии на уровни NT-proBNP. Использование любых синтетических БПВП, НПВП (в том числе ингибиторов циклооксигеназы-2) или глюкокортикоидов не было существенно связано с уровнем NT-proBNP [9].

Доводы в пользу того, что метотрексат не обладает никаким кардиопротективным действием среди общей популяции, были продемонстрированы в исследовании CIRT, проводившемся на когорте пациентов из стран Северной Америки. Низкие дозы метотрексата не приводят к снижению общего риска развития неблагоприятных сердечно-сосудистых событий (инсульт, острый коронарный синдром, стенокардия, ХСН) и значимо не влияют на циркуляцию провоспалительных цитокинов (ИЛ-6, ИЛ-1, ИЛ-1 β) в периферической крови [16].

Более того, исследование с использованием метотрексата было прекращено досрочно, как только испытание достигло статистического подтверждения бесполезности его использования в общей популяции [16].

Метотрексат остается ключевым БПВП агентом терапии ревматоидного артрита. Независимо от провала метотрексата в испытании CIRT, его роль в терапии ревматоидного артрита укрепилась в свете недавних обновлений рекомендаций со стороны ACR (American College of Rheumatology, 2020) и EULAR (European League Against Rheumatism, 2019).

Основным механизмом, лежащим в способности метотрексата снижать общую смертность в группе пациентов с ревматоидным артритом, может являться подавление состояния системного воспаления, характеризующегося атерогенностью у больных, в то время как маловероятно, что кардиопротективные свойства метотрексата, обусловленные его фармакокинетическими и/или фармакодинамическими параметрами, играют значительную роль в снижении общего сердечно-сосудистого риска и показателя общей смертности.

Метотрексат не оказывает влияния на уровни NT-proBNP, а также на уровни интерлейкина-6 и СРБ среди общей популяции, но в той или иной степени демонстрирует такие эффекты среди больных с системными воспалительными патологиями, прежде всего, у пациентов с РА, что, по мнению Le Bras и др. [17] вероятно, обусловлено различными исходными значениями маркеров и

медиаторов воспаления у неревматологических и ревматологических больных.

В анализе [18] не было обнаружено существенной разницы в уровнях NT-proBNP между пациентами женского и мужского пола или между пациентами, получавшими монотерапию метотрексатом, и пациентами, получавшими ИФНО- α \pm метотрексат. Никаких различий в циркулирующих уровнях NT-proBNP не наблюдалось между АЦЦП-позитивными и АЦЦП-негативными пациентами.

В другом исследовании [19] NT-proBNP существенно не изменился после 6 недель или 6 месяцев противоревматической терапии метотрексатом и ИФНО- α . Однако в группе, получавшей только метотрексат, наблюдалось умеренное достоверное снижение NT-proBNP с 6 недель до 6 месяцев. Не было обнаружено значительных колебаний в уровнях NT-proBNP на протяжении всего времени исследования.

Этому несколько противоречат результаты другого исследования, сообщающего о преимуществе комбинированного лечения метотрексатом и инфликсимабом в отношении снижения уровней NT-proBNP над монотерапией метотрексатом – однако полученная разница не была статистически значимой и составляла 16-17%. В обеих группах пациентов наблюдалось умеренное снижение NT-proBNP [4].

Уровни NT-proBNP положительно коррелировали с СОЭ и МНАQ, а также с СРБ и DAS28 у пациентов с РА, получавших монотерапию метотрексатом. Однако только связь с СРБ оставалась значимой после поправки на возраст и пол [19].

Эффекты метотрексата на концентрации NT-proBNP были описаны и в исследованиях других заболеваний - еженедельная терапия метотрексатом совместно с ежедневными небольшими дозами кортикостероидов стабилизировала уровни NT-proBNP в сыворотке [20].

Исследование эффектов биологической терапии на формирование и прогрессирование ХСН у пациентов с РА, а также на концентрации NT-proBNP остается малоизученным.

Ванааатан и др. [18] выполнили проспективное исследование у 51 пациента с РА с помощью эхокардиографии и оценки в начале и после 6-месячного курса терапии ингибиторами ФНО-альфа у пациентов с умеренной и высокой активностью заболевания. Никакого влияния на сердечную функцию не наблюдалось, хотя наблюдалось снижение NT-proBNP на 23% после 6 месяцев терапии. Аналогично, в исследовании пациентов с РА и анкилозирующим спондилитом после использования терапии ИФНО- α отмечалось улучшение уровней NT-proBNP [21].

ИФНО- α снижают уровень NT-proBNP в плазме [22], хотя в другом исследовании такого влияния не наблюдалось [8]. Ограниченные данные по данному вопросу предполагают улучшение показателей NT-proBNP у пациентов, находящихся на терапии ИФНО- α [4].

Уровни NT-proBNP существенно не изменились после 6 недель и 6 месяцев противоревматической терапии метотрексатом, ИФНО- α и комбинацией ИФНО- α с метотрексатом, хотя в группе пациентов, находившихся на монотерапии метотрексатом наблюдалось умеренное улучшение показателей NT-proBNP с 6 недель до 6 месяцев. Не отмечалось различий во влиянии монотерапии метотрексатом или ИФНО- α на уровни NT-proBNP [8].

Исследование [23] показало, что блокирование эффектов ФНО- α у пациентов с РА без явной сердечной недостаточности понижает уровни NT-proBNP примерно на 18%. Авторы предполагают, что полученные данные говорят об отсутствии ухудшения сердечной функции, вызванного лечением, и о потенциальной пользе приема ИФНО- α в отношении улучшения профиля сердечно-сосудистого риска.

Вышеприведенные исследования показывают, что, хотя ИФНО- α связаны с общим снижением риска сердечно-сосудистых событий, необходимы дальнейшие исследования для оценки влияния на течение сердечной недостаточности в контексте РА.

Не существует широких данных о влиянии ингибиторов ИЛ-6 на уровни NT-proBNP, однако общий положительный эффект ингибиторов ИЛ-6 для сердечно-сосудистой системы может быть обусловлен более высокой эффективностью лечения РА у пациентов, находящихся на терапии препаратами данной подгруппы БПВП [13].

Было показано, что тоцилизумаб, антитело, нацеленное на рецептор ИЛ-6 с хорошо известной эффективностью при лечении РА, обладает положительным кардиопротективным эффектом и снижает уровни NT-proBNP. Кроме того, лечение тоцилизумабом приводит к увеличению толщины гликокаликса эндотелия, усилению эластических свойств артерий и повышению эффективности работы миокарда. Этот эффект объясняется ролью тоцилизумаба в уменьшении воспаления и окислительного стресса [24].

Тоцилизумаб снижал уровень NT-proBNP у пациентов с РА без предшествующих сердечно-сосудистых заболеваний и ХСН. Уровни NT-proBNP снизились на 63% за 24 недели лечения тоцилизумабом [5].

В другом исследовании, терапия тоцилизумабом на 12 месяце снижала уровни NT-proBNP

у пациентов с РА без клинических проявлений сердечно-сосудистых заболеваний и ХСН. Падение концентрации NT-proBNP на фоне приема тоцилизумаба было связано с положительной динамикой по активности РА (снижение по балльной шкале DAS-28 и воспалительных маркеров (СРБ, СОЭ)), что позволяет предположить, что повышение уровня NT-proBNP следует рассматривать как компонент активности заболевания [25]. Таким образом, тоцилизумаб может обладать кардиопротективным эффектом у пациентов с активным РА [5].

В другом исследовании, после 12 месяцев лечения активного РА наблюдалось снижение уровней NT-proBNP, когда тоцилизумаб использовался отдельно и в комбинации с метотрексатом. Более низкая концентрация NT-proBNP была связана со снижением показателей острой фазы (СРБ и СОЭ). Авторы предполагают, что снижение активности РА приводит к снижению повреждающего действия воспаления на миокард [26].

Использование ингибиторов янус-киназы (JAKi) при лечении РА приводит к неблагоприятному липидному профилю, который может быть вызван снижением накопления липидов в синовиальной оболочке, что способствует увеличению циркулирующего холестерина. Несмотря на эти сдвиги в уровнях липидов, исследования показали, что они скорее всего не связаны с повышенным риском сердечно-сосудистых заболеваний [24].

Фактически, препараты JAKi улучшают показатели жесткости артерий у пациентов с РА и замедляют развитие атеросклероза у кроликов. В частности, тофацитиниб снижает уровень NT-proBNP и улучшает функцию эндотелия [24].

Влияние JAKi на NT-proBNP исследовалось у двадцати шести пациентов с РА (средний возраст 54 (40; 62) года, 81% женщин, продолжительность заболевания 44 (24; 63) месяца, активность от умеренной до высокой (SDAI – 27 (22; 35)), АЦЦП-позитивных (73%) / серопозитивных по РФ (77%), которые не отвечали на терапию метотрексатом в дозировке 15 мг/неделю или другие синтетическими БПВП (лефлуномид 20 мг/сут) без клинически явных сердечно-сосудистых заболеваний, которые находились на терапии тофацитинибом в течение года. Уровни NT-proBNP снизились на 63% за 12 месяцев лечения тофацитинибом. Тофацитиниб снижает уровень NT-proBNP у пациентов с РА без клинических проявлений сердечно-сосудистых заболеваний и ХСН. Авторы исследования предполагают, что тофацитиниб может обладать кардиопротективным эффектом у пациентов с активным РА [11].

Следует отметить, что в литературе описаны случаи повышения уровней NT-proBNP на фоне приема JAKi [24].

Блокатор ко-стимуляции Т-лимфоцитов, абатацепт, также обладает кардиопротективным действием. Это было показано уменьшением риска сложных сердечно-сосудистых событий среди больных РА, принимавших абатацепт. Более того, риск инфаркта миокарда и коронарной реваскуляризации был ниже у пациентов, получавших абатацепт, по сравнению с больными, находившимися на терапии ИФНО-α. Это может быть связано с его противовоспалительным действием, выходящим за рамки опосредованных цитокинами путей, что продемонстрировано предотвращением прогрессирования атеросклероза на моделях мышей [24]. Неудивительно, что абатацепт демонстрирует с более выраженным постоянством положительное влияние на уровни NT-proBNP уже на 12-й неделе лечения [27].

Маловероятно, что биологические БПВП увеличивают риск развития ХСН у пациентов с РА, но, наоборот, оказывают скорее благоприятное влияние на сердечную функцию у пациентов [22]. Очевидно, что заболеваемость и смертность от сердечно-сосудистых заболеваний снижаются при использовании БПВП, в том числе ИФНО-α, однако причина такого эффекта до конца не ясна.

Влияние биологического лечения на прогрессирование атеросклероза и сердечной недостаточности все еще остается спорным и, по-видимому, не наносит вреда молодым пациентам с нормальной функцией левого желудочка. Возможное негативное действие биопрепаратов, особенно препаратов ИФНО-α, вероятно, связано с сердечной функцией до начала лечения. Необходимы более масштабные проспективные клинические, лабораторные и эхокардиографические исследования эффектов метотрексата и биологических БПВП на общую сердечно-сосудистую заболеваемость у пациентов с системными воспалительными заболеваниями.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

ЛИТЕРАТУРА

1. Linssen G. C., Bakker S. J., Voors A. A., Gansevoort R. T., Hillege H. L., de Jong P. E., van Veldhuisen D. J., Gans R. O., de Zeeuw D. N-terminal pro-B-type natriuretic peptide is an independent predictor of cardiovascular morbidity and mortality in the general population. *Eur Heart J.* 2010 Jan;31(1):120-7. doi:10.1093/eurheartj/ehp420.

2. Kragelund C., Grønning B., Køber L., Hildebrandt P., Steffensen R. N-terminal pro-B-type natriuretic peptide and long-term mortality in stable coronary heart disease. *N Engl J Med.* 2005;17; 352(7):666-75. doi: 10.1056/NEJMoa042330.
3. Kirillova I. G., Novikova D. S., Popkova T. V., Aleksandrova E. N., Novikov A. A., Gorbunova Y. N., Markelova E. I., Korsakova Y. O., Glukhova S. I., Volkov A. V., Luchikhina E. L., Demidova N. V., Kasumova K. A., Vladimirov S. A., Kanonirova M. A., Lukina G. L., Karateev D. E., Nasonov E. L. N-terminal pro-brain natriuretic peptide levels and diastolic dysfunction in patients with early rheumatoid arthritis before the administration of disease-modifying antirheumatic drugs. *Ter Arkh.* 2016;88(5):19-26. Russian. doi:10.17116/terarkh201688519-26.
4. Bissell L. A., Hensor E. M. A., Kozera L. Improvement in insulin resistance is greater when infliximab is added to methotrexate during intensive treatment of early rheumatoid arthritis - results from the IDEA study. *Rheumatology.* 2016;55(12):2181-2190. doi: 10.1093/rheumatology/kew306
5. Yokoe I., Kobayashi H., Kobayashi Y., Giles J. T. Impact of tocilizumab on N-terminal pro-brain natriuretic peptide levels in patients with active rheumatoid arthritis without cardiac symptoms. *Scandinavian Journal of Rheumatology.* 2018;47(5):364-370, doi: 10.1080/03009742.2017.1418424
6. Mirjafari H., Welsh P., Verstappen S. M., Wilson P. N-terminal pro-brain-type natriuretic peptide (NT-pro-BNP) and mortality risk in early inflammatory polyarthritis: results from the Norfolk Arthritis Registry (NOAR). *Ann Rheum Dis.* 2014;73(4):684-90. doi:10.1136/annrheumdis-2012-202848.
7. Ruff C. T., Morrow D. A., Jarolim P., Ren F. Evaluation of NT-proBNP and high sensitivity C-reactive protein for predicting cardiovascular risk in patients with arthritis taking longterm nonsteroidal antiinflammatory drugs. *J Rheumatol.* 2011;38(6):1071-8. doi: 10.3899/jrheum.100880.
8. Nguyen T. H. P., Fagerland M. W., Deyab G. Antirheumatic therapy is not associated with changes in circulating N-terminal pro-brain natriuretic peptide levels in patients with autoimmune arthritis. *PLoS One.* 2021;16(6): doi:10.1371/journal.pone.0253793
9. Provan S. A., Angel K., Odegård S., Mowinckel P. The association between disease activity and NT-proBNP in 238 patients with rheumatoid arthritis: a 10-year longitudinal study. *Arthritis Res Ther.* 2008;10(3):70. doi:10.1186/ar2442
10. Biskup M., Biskup W., Majdan M., Targońska-Stepniak B. Cardiovascular system changes in rheumatoid arthritis patients with continued low disease activity. *Rheumatol Int.* 2018;38(7):1207-1215. doi: 10.1007/s00296-018-4053-x.
11. Novikova D., Kirillova I., Markelova E., Udachkina H. The first report of significantly improvement of NT-proBNP level in rheumatoid arthritis patients treated with tofacitinib during 12-month follow-up. *European Heart Journal.* 2019;40:4434. doi:10.1093/eurheartj/ehz745.0836
12. Targońska-Stepniak B., Piotrowski M., Zwolak R., Drelich-Zbroja A. et al. Prospective assessment of cardiovascular risk parameters in patients with rheumatoid arthritis. *Cardiovasc Ultrasound.* 2018;16(1):18. doi:10.1186/s12947-018-0136-9.
13. Welsh P., Tuckwell K., McInnes I.B., Sattar N. Effect of IL-6 receptor blockade on high-sensitivity troponin T and NT-proBNP in rheumatoid arthritis. *Atherosclerosis.* 2016; 254:167-171. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2016.10.016.
14. Fish-Trotter H., Ferguson J.F., Patel N., Arora P. et al. Inflammation and Circulating Natriuretic Peptide Levels. *Circulation: Heart Failure.* 2020; 13. doi.org/10.1161/CIRCHEARTFAILURE.119.006570
15. Tomáš L., Lazúrová I., Oetterová M., Pundová L. Left ventricular morphology and function in patients with rheumatoid arthritis. *Wien Klin Wochenschr.* 2013;125(9-10):233-8. doi: 10.1007/s00508-013-0349-8.
16. Palmer R. D., Vaccarezza M. New Promises and Challenges on Inflammation and Atherosclerosis: Insights From CANTOS and CIRT Trials. *Front Cardiovasc Med.* 2019; 6:90. doi:10.3389/fcvm.2019.00090
17. Le Bras A. No benefit of methotrexate on the risk of cardiovascular events. *Nat Rev Cardiol.* 2019;16:2-3. doi:10.1038/s41569-018-0133-6
18. Chen J, Norling LV, Cooper D. Cardiac Dysfunction in Rheumatoid Arthritis: The Role of Inflammation. *Cells.* 2021;10(4):881. doi:10.3390/cells10040881
19. Rodrigues P., Ferreira B., Fonseca T., Costa R.Q. et al. Subclinical ventricular dysfunction in rheumatoid arthritis. *Int J Cardiovasc Imaging.* 2021; 37(3):847-859. doi: 10.1007/s10554-020-02057-3.
20. Nagai S., Yokomatsu T., Tanizawa K., Ikezoe K. Treatment with Methotrexate and Low-dose Corticosteroids in Sarcoidosis Patients with Cardiac Lesions J-STAGE home. *Internal Medicine.* 2014;53(5):427-433. doi: 10.2169/internalmedicine.53.0794.
21. Heslinga S. C., Van Sijl A. M., De Boer K., Van Halm V. P. Tumor necrosis factor blocking therapy and congestive heart failure in patients with

- inflammatory rheumatic disorders: a systematic review. *Curr Med Chem*. 2015;22(16):1892-902. doi: 10.2174/0929867322666150209160701.
22. Milad B., Walter J. P., Annelies B. Blanken M. The effect of biological DMARDs on the risk of congestive heart failure in rheumatoid arthritis: a systematic review. *Expert Opinion on Biological Therapy*. 2018;18(5):585-594. doi:10.1080/14712598.2018.1462794.
23. Peters M.J., Welsh P., McInnes I.B., Wolbink G. et al. Tumour necrosis factor alpha blockade reduces circulating N-terminal pro-brain natriuretic peptide levels in patients with active rheumatoid arthritis: results from a prospective cohort study. *Ann Rheum Dis*. 2010;69(7):1281-5. doi: 10.1136/ard.2009.119412.
24. Ben Shimol J. The risk of cardiovascular disease in patients with rheumatoid arthritis: A discussion of the link, response to treatment, and the path forward. *J Cardiovasc Med Cardiol*. 2021; 8(2): 055-058. doi: 10.17352/2455-2976.000170
25. Gerasimova H., Popkova T., Kirillova I. Significant improvement of NT-proBNP levels in rheumatoid arthritis patients treated with tocilizumab and tofacitinib. *Annals of the Rheumatic Diseases*. 2020;79:625-626. doi: 10.1136/annrheumdis-2020-eular.5859
26. Gerasimova E. V., Popkova T. V., Martynova A. V., Cherkasova M. V., Novikova D. S. Time course of changes in the level of N-terminal pro-brain natriuretic peptide (NT-proBNP) in patients with rheumatoid arthritis during therapy with an interleukin-6 receptor inhibitor. *Rheumatology Science and Practice*. 2019;57(5):517-522. doi:10.14412/1995-4484-2019-517-522
27. Oever I., Nurmohamed M. Reduction of inflammation with abatacept and tocilizumab results in lower N-terminal pro brain natriuretic peptide levels in patients with rheumatoid arthritis: Results from two prospective cohort studies. *Annals of the Rheumatic Diseases*. 2013;71:172-173. doi:10.1136/annrheumdis-2012-eular.2024
- REFERENCES**
28. Linssen G. C., Bakker S. J., Voors A. A., Gansevoort R.T., Hillege H. L., de Jong P. E., van Veldhuisen D. J., Gans R. O., de Zeeuw D. N-terminal pro-B-type natriuretic peptide is an independent predictor of cardiovascular morbidity and mortality in the general population. *Eur Heart J*. 2010 Jan;31(1):120-7. doi:10.1093/eurheartj/ehp420.
29. Kragelund C., Grønning B., Køber L., Hildebrandt P., Steffensen R. N-terminal pro-B-type natriuretic peptide and long-term mortality in stable coronary heart disease. *N Engl J Med*. 2005;17; 352(7):666-75. doi: 10.1056/NEJMoa042330.
30. Kirillova I. G., Novikova D. S., Popkova T. V., Aleksandrova E. N., Novikov A. A., Gorbunova Y. N., Markelova E. I., Korsakova Y. O., Glukhova S. I., Volkov A. V., Luchikhina E. L., Demidova N. V., Kasumova K. A., Vladimirov S. A., Kanonirova M. A., Lukina G. L., Karateev D. E., Nasonov E. L. N-terminal pro-brain natriuretic peptide levels and diastolic dysfunction in patients with early rheumatoid arthritis before the administration of disease-modifying antirheumatic drugs. *Ter Arkh*. 2016;88(5):19-26. Russian. doi:10.17116/terarkh201688519-26.
31. Bissell L. A., Hensor E. M. A., Kozera L. Improvement in insulin resistance is greater when infliximab is added to methotrexate during intensive treatment of early rheumatoid arthritis - results from the IDEA study. *Rheumatology*. 2016;55(12):2181-2190. doi: 10.1093/rheumatology/kew306
32. Yokoe I., Kobayashi H., Kobayashi Y., Giles J. T. Impact of tocilizumab on N-terminal pro-brain natriuretic peptide levels in patients with active rheumatoid arthritis without cardiac symptoms. *Scandinavian Journal of Rheumatology*. 2018;47(5):364-370, doi: 10.1080/03009742.2017.1418424
33. Mirjafari H., Welsh P., Verstappen S. M., Wilson P. N-terminal pro-brain-type natriuretic peptide (NT-pro-BNP) and mortality risk in early inflammatory polyarthritis: results from the Norfolk Arthritis Registry (NOAR). *Ann Rheum Dis*. 2014;73(4):684-90. doi:10.1136/annrheumdis-2012-202848.
34. Ruff C. T., Morrow D. A., Jarolim P., Ren F. Evaluation of NT-proBNP and high sensitivity C-reactive protein for predicting cardiovascular risk in patients with arthritis taking longterm nonsteroidal antiinflammatory drugs. *J Rheumatol*. 2011;38(6):1071-8. doi: 10.3899/jrheum.100880.
35. Nguyen T. H. P., Fagerland M. W., Deyab G. Antirheumatic therapy is not associated with changes in circulating N-terminal pro-brain natriuretic peptide levels in patients with autoimmune arthritis. *PLoS One*. 2021;16(6): doi:10.1371/journal.pone.0253793
36. Provan S. A., Angel K., Odegård S., Mowinckel P. The association between disease activity and NT-proBNP in 238 patients with rheumatoid arthritis: a 10-year longitudinal study. *Arthritis Res Ther*. 2008;10(3):70. doi:10.1186/ar2442
37. Biskup M., Biskup W., Majdan M., Targońska-Stępnia B. Cardiovascular system changes in rheumatoid arthritis patients with continued low disease activity. *Rheumatol Int*. 2018;38(7):1207-1215. doi: 10.1007/s00296-018-4053-x.

38. Novikova D., Kirillova I., Markelova E., Udachkina H. The first report of significantly improvement of NT-proBNP level in rheumatoid arthritis patients treated with tofacitinib during 12-month follow-up. *European Heart Journal*. 2019;40:4434. doi:10.1093/eurheartj/ehz745.0836
39. Targońska-Stępnia B., Piotrowski M., Zwolak R., Drellich-Zbroja A. et al. Prospective assessment of cardiovascular risk parameters in patients with rheumatoid arthritis. *Cardiovasc Ultrasound*. 2018;16(1):18. doi:10.1186/s12947-018-0136-9.
40. Welsh P., Tuckwell K., McInnes I.B., Sattar N. Effect of IL-6 receptor blockade on high-sensitivity troponin T and NT-proBNP in rheumatoid arthritis. *Atherosclerosis*. 2016; 254:167-171. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2016.10.016.
41. Fish-Trotter H., Ferguson J.F., Patel N., Arora P. et al. Inflammation and Circulating Natriuretic Peptide Levels. *Circulation: Heart Failure*. 2020; 13. doi.org/10.1161/CIRCHEARTFAILURE.119.006570
42. Tomáš L., Lazúrová I., Oetterová M., Pundová L. Left ventricular morphology and function in patients with rheumatoid arthritis. *Wien Klin Wochenschr*. 2013;125(9-10):233-8. doi: 10.1007/s00508-013-0349-8.
43. Palmer R. D., Vaccarezza M. New Promises and Challenges on Inflammation and Atherosclerosis: Insights From CANTOS and CIRT Trials. *Front Cardiovasc Med*. 2019; 6:90. doi:10.3389/fcvm.2019.00090
44. Le Bras A. No benefit of methotrexate on the risk of cardiovascular events. *Nat Rev Cardiol*. 2019;16:2–3. doi:10.1038/s41569-018-0133-6
45. Chen J, Norling LV, Cooper D. Cardiac Dysfunction in Rheumatoid Arthritis: The Role of Inflammation. *Cells*. 2021;10(4):881. doi:10.3390/cells10040881
46. Rodrigues P., Ferreira B., Fonseca T., Costa R.Q. et al. Subclinical ventricular dysfunction in rheumatoid arthritis. *Int J Cardiovasc Imaging*. 2021; 37(3):847-859. doi: 10.1007/s10554-020-02057-3.
47. Nagai S., Yokomatsu T., Tanizawa K., Ikezoe K. Treatment with Methotrexate and Low-dose Corticosteroids in Sarcoidosis Patients with Cardiac Lesions J-STAGE home. *Internal Medicine*. 2014;53(5):427-433. doi: 10.2169/internalmedicine.53.0794.
48. Heslinga S. C., Van Sijl A. M., De Boer K., Van Halm V. P. Tumor necrosis factor blocking therapy and congestive heart failure in patients with inflammatory rheumatic disorders: a systematic review. *Curr Med Chem*. 2015;22(16):1892-902. doi: 10.2174/0929867322666150209160701.
49. Milad B., Walter J. P., Annelies B. Blanken M. The effect of biological DMARDs on the risk of congestive heart failure in rheumatoid arthritis: a systematic review. *Expert Opinion on Biological Therapy*. 2018;18(5):585-594. doi:10.1080/14712598.2018.1462794.
50. Peters M.J., Welsh P., McInnes I.B., Wolbink G. et al. Tumour necrosis factor alpha blockade reduces circulating N-terminal pro-brain natriuretic peptide levels in patients with active rheumatoid arthritis: results from a prospective cohort study. *Ann Rheum Dis*. 2010;69(7):1281-5. doi: 10.1136/ard.2009.119412.
51. Ben Shimol J. The risk of cardiovascular disease in patients with rheumatoid arthritis: A discussion of the link, response to treatment, and the path forward. *J Cardiovasc Med Cardiol*. 2021; 8(2): 055-058. doi: 10.17352/2455-2976.000170
52. Gerasimova H., Popkova T., Kirillova I. Significant improvement of NT-proBNP levels in rheumatoid arthritis patients treated with tocilizumab and tofacitinib. *Annals of the Rheumatic Diseases*. 2020;79:625-626. doi: 10.1136/annrheumdis-2020-eular.5859
53. Gerasimova E. V., Popkova T. V., Martynova A. V., Cherkasova M. V., Novikova D. S. Time course of changes in the level of N-terminal pro-brain natriuretic peptide (NT-proBNP) in patients with rheumatoid arthritis during therapy with an interleukin-6 receptor inhibitor. *Rheumatology Science and Practice*. 2019;57(5):517-522. doi:10.14412/1995-4484-2019-517-522
54. Oever I., Nurmohamed M. Reduction of inflammation with abatacept and tocilizumab results in lower N-terminal pro brain natriuretic peptide levels in patients with rheumatoid arthritis: Results from two prospective cohort studies. *Annals of the Rheumatic Diseases*. 2013;71:172-173. doi:10.1136/annrheumdis-2012-eular.2024

ПРИМЕНЕНИЕ АКАЛАБРУТИНИБА ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ХРОНИЧЕСКОГО ЛИМФОЦИТАРНОГО ЛЕЙКОЗА

Дмитриевская М. И., Неганова А. А., Пискарева С. А.

Кафедра базисной и клинической фармакологии, 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: Дмитриевская Мария Игоревна, к. мед. н., доцент кафедры базисной и клинической фармакологии, Медицинская академия имени С. И. Георгиевского, ФГАОУ ВО «КФУ им. В. И. Вернадского», e-mail: m.dmitrievskaya@mail.ru

For correspondence: Dmitrievskaya M. I., PhD, associate Professor of the Department of Basic and Clinical Pharmacology, Institute «Medical Academy named after S.I. Georgievsky» of Vernadsky CFU, e-mail: m.dmitrievskaya@mail.ru

Information about authors:

Dmitrievskaya M. I., <https://orcid.org/0000-0001-5722-1726>

Neganova A. A., <https://orcid.org/0000-0001-7203-9076>

Piskareva S. A., <https://orcid.org/0000-0003-1550-7333>

РЕЗЮМЕ

Акалабрутиниб обладает высокой активностью в терапии хронического лимфоцитарного лейкоза. Его механизм действия более селективен, чем у представителя предшествующего поколения – ибрутиниб, и проявляется через необратимое ингибирование тирозинкиназы Брутона – главного звена в передаче сигнала BCR рецепторами поражённых В-лимфоцитов. Препарат представляет большой интерес в комбинированной терапии не леченного ранее и рецидивирующего хронического лимфоцитарного лейкоза. В результате множества клинических исследований акалабрутиниб показал хороший уровень эффективности: более высокие значения выживаемости без прогрессирования, частоты ответа на терапию и более низкую частоту возникновения побочных эффектов в сравнении с химиопрепаратами (хлорамбуцил, флударабин, циклофосфамид и др.). В частности, побочное действие акалабрутиниб включало фибрилляцию предсердий, кровотечения разной степени тяжести, нейтропению, анемию, головные боли, диарею, кашель, тошноту, присоединение вторичной инфекции и возникновение еще одной разновидности рака. Схожие эффекты вызывает ибрутиниб. Однако акалабрутиниб имеет меньший побочный эффект в сравнении с ибрутинибом по частоте возникновения фибрилляции предсердий (3% и 6% соответственно) и серьёзных кровотечений (3% и 8%), в меньшей степени приводит к прерыванию терапии. Указанная характеристика служит для рекомендации акалабрутиниб в качестве первой линии терапии любых форм хронического лимфолейкоза.

Ключевые слова: хронический лимфоцитарный лейкоз, ингибиторы тирозинкиназы Брутона, акалабрутиниб, таргетная терапия.

THE USAGE OF ACALABRUTINIB IN TREATMENT OF CHRONIC LYMPHOCYTIC LEUKEMIA

Dmitrievskaya M. I., Neganova A. A., Piskareva S. A.

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

SUMMARY

Acabrutinib is highly effective in chronic lymphocytic leukemia treatment. Its mechanism of action is more selective than in previous generation representative – ibrutinib, and depends on inhibition of Bruton tyrosinekinase – the main element in signal transmission by BCR receptors of affected B-lymphocytes. The drug is of great interest in combined native or relapsed/refractory chronic lymphocytic leukemia therapy. In result of many clinical investigations acalabrutinib reflected a significant efficiency level: higher meanings of progression-free survival, higher frequency of therapy response and lower number of side effects in comparison with chemotherapy (chlorambucil, fludarabine, cyclophosphamide, etc.). In particular, the by-effects of acalabrutinib included atrial fibrillation, bleeding of any grade, neutropenia, diarrhea, cough, nausea, accession of secondary infection and appearance of one more kind of cancer. The side effects for ibrutinib are the same as well too. But acalabrutinib's frequency of complications is lower comparable to ibrutinib's in percentage of atrial fibrillation (3% and 6% respectively) and serious bleeding (3% and 8%), and less leads to disconnection of treatment. Described characteristics serve as recommendations of acalabrutinib first line treatment in the chronic lymphocytic leukemia therapy.

Key words: chronic lymphocytic leukemia, inhibitors of Bruton tyrosinekinase, acalabrutinib, target therapy.

В качестве разновидности опухолеобразования из гемопоэтических стволовых клеток красного костного мозга рассматривают хронический лимфоцитарный лейкоз (ХЛЛ), берущий начало из зрелых В-лимфоцитов [12], коэкспрессирующих CD5 с CD19 и CD20 с CD23 [2; 9]. Патологическому состоянию практически во всех случаях предшествует МВКЛ (моноклональный В-клеточный лимфоцитоз). Данная патология, в основном, поражает пациентов пожилого возраста (старше 65 лет) [1; 5; 6; 12] и встречается в 3-4 случаях на 100 тысяч человек ежегодно [1; 4; 5]. Однако по мере совершенствования диагностики выяснилось, что эта болезнь может появляться и у людей среднего возраста (40-50 лет) [3]. Ее патогенез заключается в пролиферации клона В-лимфоцитов предположительно из мультипотентного стволового предшественника в красном костном мозге, а также в их поступлении в кровотоки, лимфоузлы и селезенку [1]. Клинически ХЛЛ способен длительное время не проявляться симптоматически. В редких случаях могут возникать лимфаденопатия, увеличение миндалин, печени и селезенки, а также неспецифические симптомы, ассоциированные с анемией: повышенная утомляемость, слабость, недомогание; симптомы иммунодепрессии при присоединении инфекционного процесса в качестве осложнения и признаки интоксикации [1; 6].

Имеются сведения [2] о наличии 8 предполагаемых сигнальных путей, участвующих в патогенезе ХЛЛ в последствии драйверных мутаций.

1. Сигнальный путь NOTCH;
2. Сигнальный путь Wnt;
3. Модификация хроматина;
4. Ответная реакция на повреждение ДНК и контроль клеточного цикла;
5. Врожденный воспалительный ответ через MYD88 и другие сигнальные молекулы;
6. Дифференцировка В-лимфоцитов (EGR2, BCOR);
7. Процессинг и транспортировка матричной РНК (XPO1, SF3B1, POLR3B и др.);
8. Путь передачи сигнала через В-клеточный рецептор, включающий помимо прочих ферментов (NRAS, KRAS, BRAF, KLHL6, PLGG8 и др.) участие тирозинкиназы Брутона (ТКБ).

Ингибирование последнего из описанных механизмов и вследствие этого запуск программ апоптоза опухолевых клеток лежит в основе действия препаратов современной таргетной терапии, таких, как ибрутиниб, акалабрутиниб и занубрутиниб [1; 9].

Ибрутиниб, показав высокую эффективность, применяется в клинической практике с

2013 года [4; 5; 9]. Однако, его терапевтические возможности ограничены в силу подавляющего влияния на мишени EGFR, ITK и ТЕК и возникновения побочных эффектов: кровотечений, сыпи, фибрилляции предсердий (ФП), диареи, артралгии. В связи с чем был разработан высокоселективный ингибитор ТКБ второго поколения – акалабрутиниб. Ибрутиниб улучшает исходы лечения хронического лимфоцитарного лейкоза, однако у некоторых пациентов наблюдаются побочные эффекты, что приводит к прекращению лечения данным препаратом.

Результаты исследований показывают, что пациенты с ХЛЛ, которые прекратили лечение ибрутинибом из-за непереносимости, смогли продолжить лечение акалабрутинибом и достичь высокого контроля заболевания [7; 9]. Его побочное действие на иные формы киназ в меньшей степени выражено [1; 6; 9; 13], а эффективность сопоставима с ибрутинибом [4; 5; 6; 7; 9] и превосходит средства химиотерапии [4; 5; 6; 8; 9; 11; 12; 13].

Акалабрутиниб рассматривается как препарат первой линии в лечении ХЛЛ. В результате ELEVATE-TN – многоцентрового рандомизированного открытого исследования III фазы установили, что акалабрутиниб с обинутузумабом или без него улучшал выживаемость без прогрессирования (ВБП) по сравнению с химиотерапией. Медиана ВБП для акалабрутиниба с обинутузумабом была больше, чем для обинутузумаба в комбинации хлорамбуцилом (22,6 месяца), и составила 28,3 месяца. Через 24 месяца показатели ВБП в группе, принимавшей акалабрутиниб и обинутузумаб была 93%, а в группе пациентов, принимавших акалабрутиниб в монотерапии, – 87%, и в группе, получавшей обинутузумаб с хлорамбуцилом, – 47%. Частота общего ответа также была выше в группе акалабрутиниба с обинутузумабом – 94 %, в группе с комбинацией обинутузумаба с хлорамбуцилом она составила 79%. Чувствительность к лечению при терапии акалабрутиниба в сочетании с обинутузумабом составила 94%, при монотерапии акалабрутинибом – 86%, и при терапии обинутузумабом с хлорамбуцилом – 79% [4; 9; 12].

Также следует отметить, что серьезные побочные эффекты в группе акалабрутиниба и обинутузумаба составили 39%, при монотерапии акалабрутинибом – 32% и в группе комбинации обинутузумаба с хлорамбуцилом – 22 % [4; 12].

В другом клиническом исследовании [8; 9] при медиане наблюдения 16,1 месяц интервал ВБП был более продолжительным в группе пациентов, получавших монотерапию акалабрутинибом, по сравнению с терапией по выбору

исследователя - иделалисиб в комбинации с ритуксимабом (ИР) или бендамустин в сочетании с ритуксимабом (БР). ВБП в первые 12 месяцев составила 88% в группе больных, получавших акалабрутиниб, и 68% в группе терапии по выбору.

В еще одном исследовании [13], касавшемся изучения характеристик акалабрутиниба в терапии, при медиане наблюдения 39 месяцев у пациентов с ранее не леченным ХЛЛ, завершивших прием обинутузумаба и продолжавших принимать акалабрутиниб при комбинированной терапии, ВБП составила 94,4%, а общая выживаемость 100%. В группе с рецидивирующим ХЛЛ через 42 месяца ВБП составила 72,7% и общая выживаемость – 82% соответственно.

Помимо использования акалабрутиниба как препарата первой линии терапии при ХЛЛ, он может быть применён для лечения мантийноклеточной лимфомы [1; 6] и ряда других В-лимфоцитарных гемобластозов, таких, как диффузная В-крупноклеточной лимфома, множественная миелома, макроглобулинемия Вальденстрема, фолликулярная лимфома, а также в качестве вспомогательного препарата поддерживающей терапии при COVID-19 для подавления избыточной иммунной реакции, т.е. цитокинового шторма, и снижения тяжести респираторного дистресс-синдрома [6].

Фармакокинетические характеристики акалабрутиниба и его активного метаболита АСР-5862 дозозависимы и практически линейны в спектре доз от 75 до 250 мг. Оптимальная дозировка акалабрутиниба составляет 100 мг дважды в день при приеме вовнутрь [7; 8; 9; 11; 12; 13], но возможно применение 200 мг единой дозой [7; 13].

Детальный механизм действия акалабрутиниба заключается в ингибировании ТКБ за счет её фосфорилирования и снижения общего количества ТКБ изменённых опухолевых CD5CD19 В-лимфоцитах, уровня иммуноглобулинов класса М при отсутствии заметных изменений активности Т-лимфоцитов, НК-киллеров, моноцитов и клеток эпителия, выработки иммуноглобулинов классов А и G [7; 9; 13].

Из побочных эффектов (рис. 1) терапии с применением акалабрутиниба, стоит отметить ряд характерных в монотерапии и при использовании комбинированного лечения: фибрилляция предсердий (ФП) - (3-7%), нейтропения (4-20%), артериальная гипертензия любой степени (3-7%), 3 степени и более (2-3%), кровотечения любой степени (39-43%) и 3 степени и более (2%), анемия (12-15%), возникновение головной боли (21-46%), диареи (17-52%), кашля (15%), слабости (8%), тошноты (7%) и различных инфекций

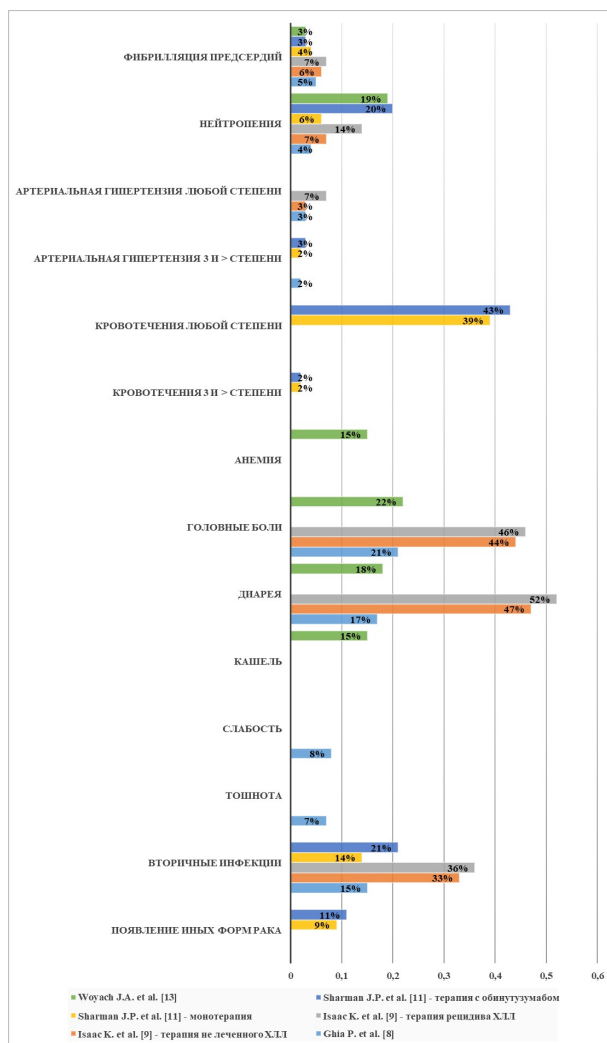


Рис. 1. Характеристика побочных эффектов акалабрутиниба в монотерапии и в комбинации с обинутузумабом.

на фоне вторичного иммунодефицита (14-36%), появление иных форм рака — чаще рака кожи (9-11%) [8; 9; 11; 13].

Схожий профиль побочного действия отмечался в отношении ибрутиниба. Однако у больных, принимавших ибрутиниб частота ФП составляла 6%, по сравнению с акалабрутинибом – 3%. Серьезные кровотечения ≥ 3 степени чаще встречались у получавших лечение ибрутинибом (8%), чем у больных, получивших лечение акалабрутинибом (3%) [9].

Имеются данные, что сопоставимо с акалабрутинибом, ибрутиниб значительно чаще приводит к прерыванию терапии – 41-50% [10]. Было проведено исследование, в результате которого у 621 пациента, получавших ибрутиниб при медиане наблюдения – 17 месяцев, 42% больных прекратили прием ибрутиниба. Среди пациентов, получавших монотерапию данным препаратом, 41,9% прекратили терапию, а про-

цент прекращения комбинированной терапии составил 43,9%. Основной причиной отмены препарата являлась его токсичность, на долю которой приходится 63,1% случаев прекращения приема в первой линии и 50,2% прерываний лечения при рецидивирующем ХЛЛ. В то же время, прерывание лечения из-за прогрессирования заболеваний была ниже: 15,8% в первой линии и 20,9% при рецидивирующем ХЛЛ. Среди пациентов, впервые принимавших терапию от ХЛЛ, наиболее распространенными побочными эффектами (рис. 2), приводящими к прекращению приема препарата, были артралгии (41,6%), ФП (25%) и сыпь (16,7%), а у пациентов с рецидивирующим ХЛЛ – ФП (12,3%), инфекции (10,7%), пневмонии (9,9%), кровотечения (9%) и диарея (6,6%) [10].

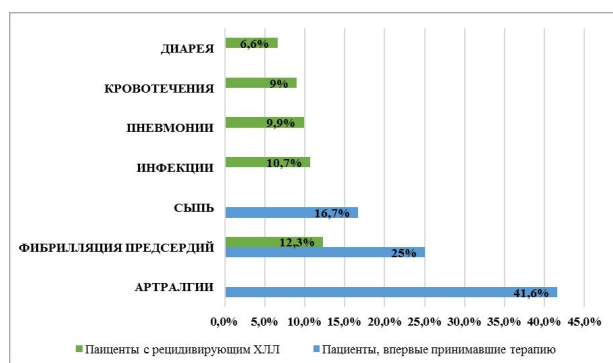


Рис. 2. Характеристика побочных эффектов, приводящих к отмене лечения при приеме ибрутиниба, в подгруппе пациентов с рецидивирующим ХЛЛ и в подгруппе пациентов, впервые принимавших терапию.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Учитывая эффективность акалабрутиниба и использование в США с 2017 г. [1], несмотря на выявленные побочные эффекты, в 2020 году препарат был зарегистрирован в России, как лекарственное средство первой линии терапии ранее не леченного и рецидивирующего хронического лимфоцитарного лейкоза, совместно с иными средствами (с обинутузумабом) и без таковых.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

ЛИТЕРАТУРА

1. Даниленко А. А., Шахтарина С. В., Фалалеева Н. А. Современные возможности лечения хронического лимфоцитарного лейкоза. Сибирский онкологический журнал. 2020;19(6):106-118.

2. Михалева М. А., Мартынкевич И. С., Булдаков И. А., Петров С. В., Кувшинов А. Ю., Чечёткин А. В., Волошин С. В. Возможности секвенирование нового поколения при исследовании мутационного статуса больных хроническим лимфолейкозом. Вестник гематологии. 2020;16(2):57-63.

3. Никитин Е. А., Бялик Т. Е., Зарицкий А. Ю., Исебер Л., Капланов К. Д., Лопаткина Т. Н., Луговская С. А., Мухортова О. В., Османов Е. А., Поддубная И. В., Самойлова О. С., Стадник Е. А., Фалалеева Н. А., Байков В. В., Ковригина А. М., Невольских А. А., Иванов С. А., Хайлова Ж. В., Геворкян Т. Г. Хронический лимфоцитарный лейкоз/лимфома из малых лейкоцитов. Клиническая онкология. 2020;22(3):24-44.

4. Поддубная И. В., Бялик Т. Е., Глонина Н. Н., Калашникова О. Б., Капланов К. Д., Лапин В. А., Медведева Н. В., Михайлова Н. Б., Моисеева Т. Н., Никитин Е. А., Поспелова Т. И., Стадник Е. А. Роль ингибиторов тирозинкиназы Брутона II поколения в лечении хронического лимфолейкоза. Современная онкология. 2019;21(4):45-47.

5. Поддубная И. В., Аль-Ради Л. С., Бялик Т. Е., Капланов К. Д., Молодцова В. З., Никитин Е. А., Поспелова Т. И., Птушкин В. В., Самойлова О. С., Стадник Е. А., Тумян Г. С. Исследование ELEVATE-TN. Новые данные по акалабрутинибу в 1-й линии терапии хронического лимфоцитарного лейкоза. Современная онкология. 2020;22 (1):31-33.

6. Прожерина Ю., Широкова И. Прорыв в лечении хронического лимфоцитарного лейкоза. Ремедиум. 2020;9:39-42.

7. Awan F. T., Schuh A., Brown J. R., Furman R. R., Pagel J. M., Hillmen P., Stephens D. M., Woyach J., Bibikova E., Charuworn P., Frigault M. M., Hamdy A., Izumi R., Linghu B., Patel P., Wang M. H., Byrd J. C. Acalabrutinib monetary in patients with chronic lymphocytic leukemia who are intolerant to ibrutinib. Blood advances. 2019;3(9):1553-1562. doi:10.1182/bloodadvances.2018030007.

8. Ghia P., Pluta A., Wach M., Lysak D., Kozak T., Simkovich M., Kaplan P., Kraychok I., Illes A., Serna J., Dolan S., Campbell P., Musuraca G., Jacob A., Avery E., Lee J. H., Liang W., Patel P., Quah C., Jurczak W. ASCEND: Phase III, Randomised Trial of Acalabrutinib Versus Idelalisib Plus Rituximab or Bendamustine Plus Rituximab in Relapsed or Refractory Chronic Lymphocytic Leukemia. Journal of Clinical Oncology. 2021;38(25):2849-2862. doi:10.1200/JCO.19.03355.

9. Isaac K., Mato A. R. Acalabrutinib and Its Therapeutic Potential in the Treatment of Chronic Lymphocytic Leukemia: A short review on

Emerging Data. Cancer Management and Research. 2020;12:2079-2085. doi:10.2147/CMAR.S219570

10. Mato A.R., Nabhan C., Thompson M. C., Lamanna N., Brander D. M., Hill B., Howlett C., Skarbnik A., Cheson B. D., Zent C., Pu J., Kiselev P., Goy A., Claxton D., Isaack K., Kennard K. H., Timlin C., Landsburg D., Winter A., Nasta S. D., Bachow S. H., Schuster S. J., Dorsey C., Svoboda J., Barr P., Ujjani C. S. Toxicities and outcomes of 616 ibrutinib-treated chronic lymphocytic leukemia patients in the United States: a real-world analysis. *Haematologica*. 2018;103(5):874-879. doi:10.3324/haematol.2017.182907

11. Sharman J.P., Banerji V., Fogliatto L. M., Herishanu Y., Munir T., Walewska R., Follows G., Karlsson K., Ghia P., Corbett G., Walker P., Egyed M., Jurczak W., Salles G., Janssens A., Cymbalista F., Wierda W. G., Coutre S., Pagel J. M., Skarbnik A., Kamdar M., Woyach J., Izumi R., Munugalavadla V., Patel P., Wang M. H., Wong S., Byrd J. C. ELEVATE TN: Phase 3 Study of Acalabrutinib Combined with Obinutuzumab (O) or Alone Vs O Plus Chlorambucil (Clb) in Patients (Pts) with Treatment-Naive Chronic Lymphocytic Leukemia (CLL). *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*. 2019;134(1):31. doi:10.1182/blood-2019-128404

12. Sharman J. P., Egyed M., Jurczak W., Skarbnik A., Pagel J. M., Flinn I. W., Kamdar M., Munir T., Walewska R., Corbett G., Fogliatto L. M., Herishanu Y., Banerji V., Coutre S., Follows G., Walker P., Karlsson K., Ghia P., Janssens A., Cymbalista F., Woyach J. A., Salles G., Wierda W. G., Izumi R., Munugalavadla V., Patel P., Wang M. H., Wong S., Byrd J. C. Acalabrutinib with or without obinutuzumab versus chlorambucil and obinutuzumab for treatment-naive chronic lymphocytic leukaemia (ELEVATE TN): a randomized, controlled, phase 3 trial. *The Lancet*. 2020;395(10232):1278-1291. doi:10.1016/S0140-6736(20)30262-2.

13. Woyach J. A., Blachly J. S., Rogers K. A., Bhat S. A., Jianfar M., Lozanski G., Weiss D. M., Andersen B. L., Gulrajani M., Frigault M. M., Hamdy A., Izumi R., Munugalavadla V., Quah C., Wang M. H., Byrd J. C. Acalabrutinib with Obinutuzumab in Treatment-Naïve and Relapsed/Refractory Chronic Lymphocytic Leukemia. *Cancer Discovery*. 2020;10(3):394-405. doi: 10.1158/2159-8290.CD-19-1130

REFERENCES

1. Danilenko A. A., Shakhtarina S. V., Falaleeva N. A. Modern possibilities of treatment of chronic lymphocytic leukemia. *Siberian Journal of Oncology*. 2020;19(6):106-118. (In Russ.).

2. Mikhaleva M. A., Martynkevich I. S., Buldakov I. A., Petrov S. V., Kuvshinov A. Y., Chechetkin A. V., Voloshin S. V. Possibilities of sequencing a new generation in the study of the mutational status of patients with chronic lymphocytic leukemia. *Bulletin of Hematology*. 2020;16(2):57-63. (In Russ.).

3. Nikitin E. A., Bialik T. E., Zaritsky A. Y., Iseber L., Kaplanov K. D., Lopatkina T. N., Lugovskaya S. A., Mukhortova O. V., Osmanov E. A., Poddubnaya I. V., Samoiloa O. S., Stadnik E. A., Falaleeva N. A., Baikov V. V., Kovrigina A. M., Nevolskikh A. A., Ivanov S. A., Khailova J. V., Gevorkyan T. G. Chronic lymphocytic leukemia / small leukocyte lymphoma. *Clinical Oncology*. 2020;22(3):24-44. (In Russ.).

4. Poddubnaya I. V., Bialik T. E., Glonin N. N., Kalashnikov O. B., Kaplanov K. D., Lapin V. A., Medvedeva N. V., Mikhailova N. B., Moiseeva T. N., Nikitin E. A., Pospelova T. I., Stadnik E. A. The role of Bruton's II generation tyrosine kinase inhibitors in the treatment of chronic lymphocytic leukemia. *Modern Oncology*. 2019;21(4):45-47. (In Russ.).

5. Poddubnaya I. V., Al-Radi L. S., Bialik T. E., Kaplanov K. D., Molostvova V. Z., Nikitin E. A., Pospelova T. I., Ptushkin V. V., Samoiloa O. S., Stadnik E. A., Tumyan G.S. ELEVATE-TN study. New data on acalabrutinib in the 1st line of therapy for chronic lymphocytic leukemia. *Modern Oncology*. 2020;22(1):31-33. (In Russ.).

6. Prozherina Y., Shirokova I. Breakthrough in the treatment of chronic lymphocytic leukemia. *Remedium*. 2020;9:39-42. (In Russ.).

7. Awan F. T., Schuh A., Brown J. R., Furman R. R., Pagel J. M., Hillmen P., Stephens D. M., Woyach J., Bibikova E., Charuworn P., Frigault M. M., Hamdy A., Izumi R., Linghu B., Patel P., Wang M. H., Byrd J. C. Acalabrutinib monetary in patients with chronic lymphocytic leukemia who are intolerant to ibrutinib. *Blood advances*. 2019;3(9):1553-1562. doi:10.1182/bloodadvances.2018030007.

8. Ghia P., Pluta A., Wach M., Lysak D., Kozak T., Simkovich M., Kaplan P., Kraychok I., Illes A., Serna J., Dolan S., Campbell P., Musuraca G., Jacob A., Avery E., Lee J. H., Liang W., Patel P., Quah C., Jurczak W. ASCEND: Phase III, Randomised Trial of Acalabrutinib Versus Idelalisib Plus Rituximab or Bendamustine Plus Rituximab in Relapsed or Refractory Chronic Lymphocytic Leukemia. *Journal of Clinical Oncology*. 2021;38(25):2849-2862. doi:10.1200/JCO.19.03355.

9. Isaac K., Mato A. R. Acalabrutinib and Its Therapeutic Potential in the Treatment of Chronic Lymphocytic Leukemia: A short review on Emerging Data. *Cancer Management and Research*. 2020;12:2079-2085. doi:10.2147/CMAR.S219570.

10. Mato A.R., Nabhan C., Thompson M. C., Lamanna N., Brander D. M., Hill B., Howlett C., Skarbnik A., Cheson B. D., Zent C., Pu J., Kiselev P., Goy A., Claxton D., Isaack K., Kennard K. H., Timlin C., Landsburg D., Winter A., Nasta S. D., Bachow S. H., Schuster S. J., Dorsey C., Svoboda J., Barr P., Ujjani C. S. Toxicities and outcomes of 616 ibrutinib-treated chronic lymphocytic leukemia patients in the United States: a real-world analysis. *Haematologica*. 2018;103(5):874-879. doi:10.3324/haematol.2017.182907.
11. Sharman J.P., Banerji V., Fogliatto L. M., Herishanu Y., Munir T., Walewska R., Follows G., Karlsson K., Ghia P., Corbett G., Walker P., Egyed M., Jurczak W., Salles G., Janssens A., Cymbalista F., Wierda W. G., Coutre S., Pagel J. M., Skarbnik A., Kamdar M., Woyach J., Izumi R., Munugalavadla V., Patel P., Wang M. H., Wong S., Byrd J. C. ELEVATE TN: Phase 3 Study of Acalabrutinib Combined with Obinutuzumab (O) or Alone Vs O Plus Chlorambucil (Clb) in Patients (Pts) with Treatment-Naïve Chronic Lymphocytic Leukemia (CLL). *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*. 2019;134(1):31. doi:10.1182/blood-2019-128404.
12. Sharman J. P., Egyed M., Jurczak W., Skarbnik A., Pagel J. M., Flinn I. W., Kamdar M., Munir T., Walewska R., Corbett G., Fogliatto L. M., Herishanu Y., Banerji V., Coutre S., Follows G., Walker P., Karlsson K., Ghia P., Janssens A., Cymbalista F., Woyach J. A., Salles G., Wierda W. G., Izumi R., Munugalavadla V., Patel P., Wang M. H., Wong S., Byrd J. C. Acalabrutinib with or without obinutuzumab versus chlorambucil and obinutuzumab for treatment-naïve chronic lymphocytic leukaemia (ELEVATE TN): a randomized, controlled, phase 3 trial. *The Lancet*. 2020;395(10232):1278-1291. doi:10.1016/S0140-6736(20)30262-2.
13. Woyach J. A., Blachly J. S., Rogers K. A., Bhat S. A., Jianfar M., Lozanski G., Weiss D. M., Andersen B. L., Gulrajani M., Frigault M. M., Hamdy A., Izumi R., Munugalavadla V., Quah C., Wang M. H., Byrd J. C. Acalabrutinib with Obinutuzumab in Treatment-Naïve and Relapsed/Refractory Chronic Lymphocytic Leukemia. *Cancer Discovery*. 2020;10(3):394-405. doi: 10.1158/2159-8290.CD-19-1130.

БИОХИМИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ РАЗВИТИЯ ДЕФИЦИТА ТЕСТОСТЕРОНА У МУЖЧИН С НЕАЛКОГОЛЬНОЙ ЖИРОВОЙ БОЛЕЗНЬЮ ПЕЧЕНИ

Кузнецова Е. А., Есауленко Е. Е., Быков И. М.

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

Для корреспонденции: Кузнецова Елена Анатольевна, ассистент кафедры пропедевтики внутренних болезней ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России, e-mail: dr.v.smith@mail.ru

For correspondence: Elena A. Kuznetsova, Assistant of the Department of Propedeutics of Internal Diseases, Kuban state medical university, e-mail: dr.v.smith@mail.ru

Information about authors:

Kuznetsova E. A., <https://orcid.org/0000-0001-9509-7869>

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

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

РЕЗЮМЕ

Неалкогольная жировая болезнь печени считается наиболее распространенным заболеванием печени во всем мире с примерно 20% -ной распространенностью как в промышленно развитых, так и в развивающихся странах, и глобальная распространенность неалкогольной жировой болезни печени продолжает расти в связи с высокими темпами роста числа пациентов с ожирением. Около 15–25% пациентов с неалкогольной жировой болезнью печени составляют больные с неалкогольным стеатогепатитом, которые подвергаются наибольшему риску прогрессирования до цирроза и гепатоцеллюлярной карциномы. В данном обзоре представлены биохимические механизмы взаимосвязи андрогенного дефицита и репродуктивных расстройств у мужчин с неалкогольной жировой болезнью печени. По мере получения дальнейшего понимания сложного взаимодействия этих молекулярных путей в будущем можно ожидать совершенствования диагностических и терапевтических возможностей для лечения мужского гипогонадизма. В частности, дальнейшее изучение роли сексстероид-связывающего глобулина в патогенезе андрогенного дефицита при стеатозе печени возможно позволит использовать данный белок в качестве биомаркера или потенциальной терапевтической мишени.

Ключевые слова: ожирение, неалкогольная жировая болезнь печени, тестостерон, сексстероид-связывающий глобулин, андрогенный дефицит у мужчин, фиброз печени.

BIOCHEMICAL MECHANISMS OF TESTOSTERONE DEFICIENCY DEVELOPMENT IN MEN WITH NON-ALCOHOLIC FAT LIVER DISEASE

Kuznetsova E. A., Esaulenko E. E., Bykov I. M.

Kuban State Medical University, Krasnodar, Russia

SUMMARY

Non-alcoholic fatty liver disease is considered the most common liver disease worldwide with an approximately 20% prevalence in both industrialized and developing countries, and the global prevalence of non-alcoholic fatty liver disease continues to rise due to the high rate of increase in obese patients. About 15-25% of patients with non-alcoholic fatty liver disease are patients with non-alcoholic steatohepatitis, who are at greatest risk of progression to cirrhosis and hepatocellular carcinoma. This review presents the biochemical mechanisms of the relationship between androgen deficiency and reproductive disorders in men with non-alcoholic fatty liver disease. With further understanding of the complex interactions of these molecular pathways, improved diagnostic and therapeutic options for the treatment of male hypogonadism can be expected in the future. In particular, further study of the role of sex steroid-binding globulin in the pathogenesis of androgen deficiency in hepatic steatosis may make it possible to use this protein as a biomarker or a potential therapeutic target.

Key words: obesity, non-alcoholic fatty liver disease, testosterone, sex steroid-binding globulin, androgen deficiency in men, liver fibrosis.

Неалкогольная жировая болезнь печени (НАЖБП) - это состояние, характеризующееся повышенным накоплением триглицеридов в паренхиме печени при отсутствии чрезмерного употребления алкоголя [1]. Данное заболевание охватывает спектр проявлений от простого стеатоза до неалкогольного стеатогепатита (НАСГ), который может далее прогрессировать до фиброза, цирроза и, в конечном итоге, гепа-

тоцеллюлярной карциномы [2; 3]. Простой стеатоз считается доброкачественным состоянием и определяется как содержание жира, составляющее более 5% всей массы печени при отсутствии воспаления [1]. НАСГ диагностируется при обнаружении воспалительных изменений и повреждения гепатоцитов. Фактически, пациенты с НАСГ подвергаются наибольшему риску прогрессирования до цирроза и составляют око-

ло 15–25% популяции НАЖБП в целом [4]. В настоящее время НАЖБП является ведущей в структуре хронических заболеваний печени [3].

Истинная распространенность НАЖБП неизвестна, поскольку люди на ранних стадиях заболевания остаются относительно бессимптомными, а надежный неинвазивный тест, который можно было бы использовать для скрининга, отсутствует. Чаще всего болезнь диагностируется случайно, при аномальных уровнях лабораторных тестов или при проведении с иной целью ультразвукового исследования брюшной полости [4]. Хотя биопсия печени остается стандартным критерием для диагностики и определения стеатоза, степени воспаления и стадии фиброза, ее рутинное использование у лиц с НАЖБП остается спорным, поскольку она инвазивна и может привести к осложнениям и ошибкам при взятии проб [3]. Сегодня, с повышением диагностической точности магнитно-резонансной томографии и введением в клиническую практику ультразвуковой эластографии печени, биопсия печени используется все реже, чтобы помочь в оценке атипичных клинических ситуаций [5; 6].

Несмотря на существующие диагностические проблемы, НАЖБП считается наиболее распространенным заболеванием печени во всем мире с примерно 20% -ной распространенностью как в промышленно развитых, так и в развивающихся странах, и глобальная распространенность НАЖБП продолжает расти в связи с высокими темпами роста числа пациентов с ожирением [7; 8]. При этом, вероятность развития НАСГ повышается с увеличением степени ожирения. Так, НАСГ выявляется у 15–20% лиц с индексом массы тела более 35 кг/м², при этом имеется прямая корреляционная связь степени ожирения с тяжестью проявлений НАЖБП [9]. Напротив, постепенное снижение веса за счет правильной диеты и физической активности, может привести к снижению сывороточных ферментов печени, степени жировой инфильтрации печени, воспаления и даже фиброза [10].

НАЖБП встречается во всех возрастных группах, при этом, с возрастом ее распространенность увеличивается с 20% у лиц младше 20 лет до 40% и более у лиц старше 60 лет [7; 11]. Исследования показали, что НАЖБП может начаться во внутриутробном периоде, поскольку у младенцев, рожденных от матерей с ожирением и гестационным диабетом, наблюдалась более высокая частота стеатоза печени, чем у детей, рожденных от здоровых матерей [11; 12].

Факторами риска развития НАЖБП, помимо ожирения, являются пожилой возраст, мужской пол, синдром обструктивных сонных апноэ, особенности питания и образа жизни, а также на-

личие компонентов метаболического синдрома (МС), таких как инсулинорезистентность (ИР), дислипидемия и нарушенная гликемия натощак [13]. В условиях ожирения гиперинсулинемия и инсулинорезистентность являются ключевыми условиями в развитии НАЖБП [14]. Инсулинорезистентность приводит к усилению липолиза и, как следствие, к увеличению притока свободных жирных кислот (СЖК) в печень. Гиперинсулинемия, развивающаяся в ответ на инсулинорезистентность, еще больше усиливает образование и накопление триглицеридов в печени и приводит к стеатозу [14]. Было продемонстрировано, что СЖК во время их этерификации и образования триглицеридов также могут напрямую повреждать клетки печени и активировать процессы воспаления [15].

При ожирении наблюдается увеличение уровней провоспалительных цитокинов, таких как фактор некроза опухоли α , интерлейкин-6 и С-реактивный белок, а также к снижению уровней противовоспалительных адипокинов и адипонектина [16]. В конечном итоге повреждение гепатоцитов вызывается такими факторами как воспаление, окислительный стресс и дисфункция митохондрий, а также такими веществами, как адипокины и эндотоксины кишечного происхождения. При этом, в условиях окислительного стресса нарушается регенерация гепатоцитов, что, в свою очередь, еще больше усугубляет повреждение печени [15; 17; 18].

Недавние исследования, посвященные оценке роли пола в этиологии НАЖБП, показывают, что заболевание чаще встречается у мужчин младшего и среднего возраста [13] и, напротив, частота данного заболевания у женщин резко возрастает в постменопаузе, достигая пика в 60–69 лет. Протективный эффект эстрогенов в отношении НАЖБП подтверждается данными, свидетельствующими о том, что женщины, получающие заместительную гормональную терапию, значительно реже страдают НАЖБП по сравнению с теми, кто не получает заместительную гормональную терапию [19]. Что касается основного андрогена, тестостерона, то его роль в развитии НАЖБ у мужчин продолжает изучаться.

Тестостерон продуцируется в непрерывном режиме в клетках Лейдига. Холестерин, содержащийся в липопротеинах низкой плотности или синтезируемый *de novo* из ацетил-коэнзима А в клетках Лейдига, является стартовым субстратом для синтеза тестостерона. Лишь очень небольшое количество тестостерона остается в семенниках, большая часть секретируется в кровь. Во время транспортировки большая часть тестостерона связывается с альбумином или

сексстероид-связывающим глобулином (СССГ), белком, продуцируемом гепатоцитами. У здоровых мужчин только 2% общего тестостерона циркулирует в свободном виде, 44% связано с СССРГ и 54% связано с альбумином. Производство СССРГ гепатоцитами регулируется половыми стероидами, при этом андрогены ингибируют, а эстрогены стимулируют его выработку.

Тестостерон важен на всех этапах жизни мужчины, начиная с дифференциации половых органов на эмбриональных стадиях до периода полового созревания, когда происходит дальнейшее развитие, и заканчивая взрослой жизнью, где осуществляются его поддерживающие функции. Тестостерон играет важную роль в контроле сексуальной функции, модуляции центрального возбуждения, обеспечении структурной целостности пещеристого тела и влиянии на психологические симптомы. На молекулярном уровне он способствует гомеостазу эндотелия и гладких мышц за счет снижения провоспалительных маркеров в сосудистом русле. Клинические исследования и исследования на животных продемонстрировали, что тестостерон также оказывает положительное воздействие на метаболизм липидов в печени через превращение в эстрадиол и последующую активацию рецептора эстрогена α [20; 21].

Дефицит тестостерона оказывает провоспалительное и проапоптотическое действие на эндотелиальные клетки, и в результате было продемонстрировано, что он способствует увеличению риска МС, сахарного диабета 2 типа и сердечно-сосудистых заболеваний независимо от возраста и ожирения [22; 23]. Многочисленные исследования показали, что мужчины с метаболическим синдромом имеют более низкие уровни СССРГ, общего и свободного тестостерона по сравнению со здоровыми мужчинами [24; 25; 26]. Исследования, оценивающие компоненты метаболического синдрома индивидуально, определили, что окружность талии является наиболее сильным корреляционным фактором для низкого уровня тестостерона даже у мужчин, не страдающих диабетом [24; 26]. Связь между дефицитом тестостерона, висцеральным ожирением и МС широко известна [25; 27]. Связанное с ожирением снижение уровня СССРГ и повышение активности ароматазы в жировой ткани, усиленное инсулинорезистентностью, приводят к локальному преобразованию тестостерона в эстрадиол, что обеспечивает дополнительную отрицательную обратную связь по оси гипоталамус-гипофиз-гонады [28]. Это приводит к снижению уровней тестостерона и преимущественному отложению висцерального жира. Повышенные в результате ИР уровни ин-

сулина подавляют продукцию СССРГ печенью, что, в свою очередь, приводит к снижению доставки тестостерона к периферическим тканям и увеличению его свободной фракции. Свободный тестостерон обеспечивает отрицательную обратную связь по оси гипоталамус-гипофиз-гонады, что в конечном итоге приводит к снижению высвобождения гонадотропинов. Инсулинорезистентность также связана с уменьшением общей секреции тестостерона клетками Лейдига [29]. Низкие уровни тестостерона, возникающие в результате вышеупомянутых молекулярных процессов, могут еще больше ухудшить метаболический профиль и увеличить количество абдоминального жира [30].

Учитывая взаимосвязь дефицита тестостерона и висцерального ожирения у мужчин, можно ожидать подобную корреляцию между стеатозом печени и уровнем сывороточного тестостерона, но данные механизмы еще не полностью исследованы. Анализ данных национального обследования состояния здоровья и питания в США выявил связь между низким уровнем тестостерона и повышенным риском НАЖБП у мужчин и у женщин в постменопаузе, и эта связь сохранялась даже после поправок на ожирение и другие метаболические факторы риска [31]. Кроме того, обратная связь между уровнем тестостерона в сыворотке и НАЖБП была обнаружена в ретроспективном обсервационном поперечном исследовании здоровых корейских мужчин [32]. Предлагаемый патологический механизм корреляции низкого содержания тестостерона и НАЖБП у мужчин - это обратная взаимосвязь между общим уровнем тестостерона и ИР [33; 34] у мужчин. Еще одним возможным звеном между андрогенным дефицитом и НАЖБП является повышенная секреция печеночных воспалительных цитокинов, что непосредственно влияет на гипофиз, снижая секрецию лютеинизирующего гормона, который подавляет секрецию клеток Лейдига [35]. Несколько недавних исследований обнаружили низкие уровни СССРГ, обусловленные гиперинсулинемией, у лиц с ожирением, мужчин с сахарным диабетом 2 типа и мужчин с НАЖБП [36; 37]. СССРГ также влияет на гомеостаз глюкозы и метаболизм липидов и может играть решающую роль в развитии самой НАЖБП, а также ИР у пациентов с НАЖБП [38; 39]. Напротив, повышенные уровни СССРГ в плазме крови были тесно связаны с уменьшением количества жира в печени [39]. Существуют данные, что СССРГ оказывает противовоспалительное и липолитическое действие на культивируемые адипоциты и макрофаги [40].

Не ясно, влияет ли НАЖБП на мужскую фертильность, однако хорошо известно, что сыворо-

точный тестостерон необходим для правильного развития семенников и дифференцировки половых клеток. Исследование по оценке репродуктивной функции самцов крыс с НАЖБП продемонстрировало снижение уровня сывороточных тестикулярных белков, а также снижение экспрессии стероидогенного острого регуляторного белка, ответственного за транспорт холестерина в митохондрии, а также снижение общего количество клеток Лейдига в семенниках [41].

На основе этого обзора литературы продемонстрировано, что МС, НАЖБП, андрогенный дефицит и репродуктивные расстройства у мужчин имеют общие патофизиологические механизмы. По мере получения дальнейшего понимания сложного взаимодействия этих молекулярных путей в будущем можно ожидать совершенствования диагностических и терапевтических возможностей для лечения мужского гипогонадизма. В частности, дальнейшее изучение роли СССГ в патогенезе НАЖБП и андрогенного дефицита возможно позволит использовать данный белок в качестве биомаркера или потенциальной терапевтической мишени.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

ЛИТЕРАТУРА

1. Monelli F., Venturelli F., Bonilauri L., Manicardi E., Manicardi V., Rossi P.G., Massari M., Ligabue G., Riva N., Schianchi S., Bonelli E., Pattacini P., Bassi M.C., Besutti G. Systematic review of existing guidelines for NAFLD assessment. *Hepatoma Research*. 2021;7:25. doi: <http://dx.doi.org/10.20517/2394-5079.2021.03>
2. Calzadilla Bertot L., Adams L.A. The Natural Course of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. *International journal of molecular sciences*. 2016;17(5):774. doi: 10.3390/ijms17050774
3. Wilkins T., Tadmok A., Hepburn I., Schade R.R. Nonalcoholic fatty liver disease: diagnosis and management. *American family physician*. 2013;88(1):35-42
4. Patel V., Sanyal A.J., Sterling R. Clinical Presentation and Patient Evaluation in Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Clinics in liver disease*. 2016;20(2):277-92. doi: 10.1016/j.cld.2015.10.006
5. Murphy P., Hooker J., Ang B., Wolfson T., Gamst A., Bydder M., Middleton M., Peterson M., Behling C., Loomba R., Sirlin C. Associations between histologic features of nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) and quantitative diffusion-weighted MRI measurements in adults. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*. 2015;41(6):1629-38. doi: 10.1002/jmri.24755
6. Tapper E.B., Loomba R. Noninvasive imaging biomarker assessment of liver fibrosis by elastography in NAFLD. *Nature reviews Gastroenterology & hepatology*. 2018;15(5):274-282. doi: 10.1038/nrgastro.2018.10.
7. Sayiner M, Koenig A, Henry L, Younossi ZM. Epidemiology of Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Nonalcoholic Steatohepatitis in the United States and the Rest of the World. *Clinics in liver disease*. 2016;20(2):205-14. doi: 10.1016/j.cld.2015.10.001
8. Mishra A., Younossi Z.M. Epidemiology and Natural History of Non-alcoholic Fatty Liver Disease. *Journal of clinical and experimental hepatology*. 2012;2(2):135-44. doi: 10.1016/S0973-6883(12)60102-9
9. Dixon J.B., Bhathal P.S., O'Brien P.E. Nonalcoholic fatty liver disease: predictors of nonalcoholic steatohepatitis and liver fibrosis in the severely obese. *Gastroenterology*. 2001;121(1):91-100. doi: 10.1053/gast.2001.25540.
10. Zelber-Sagi S., Godos J., Salomone F.. Lifestyle changes for the treatment of nonalcoholic fatty liver disease: a review of observational studies and intervention trials. *Therapeutic advances in gastroenterology*. 2016;9(3):392-407. doi: 10.1177/1756283X16638830
11. Goyal N.P., Schwimmer J.B. The Progression and Natural History of Pediatric Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Clinics in liver disease*. 2016;20(2):325-38. doi: 10.1016/j.cld.2015.10.003.
12. Patel K.R., White F.V., Deutsch G.H. Hepatic steatosis is prevalent in stillborns delivered to women with diabetes mellitus. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*. 2015;60(2):152-8. doi: 10.1097/MPG.0000000000000520
13. Lonardo A., Bellentani S., Argo C.K., Ballestri S., Byrne C.D., Caldwell S.H., Cortez-Pinto H., Grieco A., Machado M.V., Miele L., Targher G. Epidemiological modifiers of non-alcoholic fatty liver disease: Focus on high-risk groups. *Digestive and Liver Disease*. 2015;47(12):997-1006. doi: 10.1016/j.dld.2015.08.004
14. Fu Z., Gilbert E.R., Liu D. Regulation of insulin synthesis and secretion and pancreatic Beta-cell dysfunction in diabetes. *Current diabetes reviews*. 2013;9(1):25-53.
15. Dowman J.K., Tomlinson J.W., Newsome P.N. Pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease. *QJM: An International Journal of Medicine*. 2010;103(2):71-83. doi: 10.1093/qjmed/hcp158
16. Abenavoli L., Peta V. Role of adipokines and cytokines in non-alcoholic fatty liver disease. *Reviews on recent clinical trials*. 2014;9(3):134-40. doi: 10.2174/1574887109666141216102458
17. Bykov I.M., Berberidy H.P., Popov K.A., Ermakova G.A., Tsymbalyuk I.Yu., Esaulenko

- E.E., Denisova Ya.E., Azimov E.A. Comparison of the effectiveness of various sulphur-containing hepatoprotectors against chronic alcoholization. *Medical News of North Caucasus*. 2019;14(3):523-527. doi: 10.14300/mnnc.2019.14129
18. 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.
19. Шаабани С. А., Пчелин И. Ю. Особенности метаболических нарушений у мужчин и женщин с неалкогольной жировой болезнью печени. *Juvenis scientia*. 2020;6(6):18-32. doi: https://doi.org/10.32415/jscientia_2020_6_6_18-32
20. Kelly D.M., Nettleship J.E., Akhtar S., Muraleedharan V., Sellers D.J., Brooke J.C., McLaren D.S., Channer K.S., Jones T.H. Testosterone suppresses the expression of regulatory enzymes of fatty acid synthesis and protects against hepatic steatosis in cholesterol-fed androgen deficient mice. *Life sciences*. 2014;109(2):95-103. doi: 10.1016/j.lfs.2014.06.007.
21. Tian G.X., Sun Y., Pang C.J., Tan A.H., Gao Y., Zhang H.Y., Yang X.B., Li Z.X., Mo Z.N. Oestradiol is a protective factor for non-alcoholic fatty liver disease in healthy men. *Obesity reviews*. 2012;13(4):381-7. doi: 10.1111/j.1467-789X.2011.00978.x
22. Wang C., Jackson G., Jones T.H., Matsumoto A.M., Nehra A., Perelman M.A., Swerdloff R.S., Traish A., Zitzmann M., Cunningham G. Low testosterone associated with obesity and the metabolic syndrome contributes to sexual dysfunction and cardiovascular disease risk in men with type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 2011;34(7):1669-75. doi: 10.2337/dc10-2339
23. Allan C.A., McLachlan R.I. Androgens and obesity. *Current Opinion in Endocrinology, Diabetes and Obesity*. 2010;17(3):224-32. doi: 10.1097/MED.0b013e3283398ee2
24. Corona G., Monami M., Rastrelli G., Aversa A., Tishova Y., Saad F., Lenzi A., Forti G., Mannucci E., Maggi M. Testosterone and metabolic syndrome: a meta-analysis study. *The journal of sexual medicine*. 2011;8(1):272-83. doi: 10.1111/j.1743-6109.2010.01991.x
25. Brand J.S., van der Tweel I., Grobbee D.E., Emmelot-Vonk M.H., van der Schouw Y.T. Testosterone, sex hormone-binding globulin and the metabolic syndrome: a systematic review and meta-analysis of observational studies. *International journal of epidemiology*. 2011;40(1):189-207. doi: 10.1093/ije/dyq158
26. Blaya R., Thomaz L.D., Guilhermano F., Paludo Ade O., Rhoden L., Halmenschlager G., Rhoden E.L. Total testosterone levels are correlated to metabolic syndrome components. *The Aging Male*. 2016;19(2):85-9. doi: 10.3109/13685538.2016.1154523
27. Rao P.M., Kelly D.M., Jones T.H. Testosterone and insulin resistance in the metabolic syndrome and T2DM in men. *Nature Reviews Endocrinology*. 2013;9(8):479-93. doi: 10.1038/nrendo.2013.122
28. Saboor Aftab S.A., Kumar S., Barber T.M. The role of obesity and type 2 diabetes mellitus in the development of male obesity-associated secondary hypogonadism. *Clinical endocrinology (Oxf)*. 2013;78(3):330-7. doi: 10.1111/cen.12092
29. Pitteloud N., Hardin M., Dwyer A.A., Valassi E., Yialamas M., Elahi D., Hayes F.J. Increasing insulin resistance is associated with a decrease in Leydig cell testosterone secretion in men. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2005;90(5):2636-41. doi: 10.1210/jc.2004-2190
30. Corona G., Bianchini S., Sforza A., Vignozzi L., Maggi M. Hypogonadism as a possible link between metabolic diseases and erectile dysfunction in aging men. *Hormones (Athens)*. 2015;14(4):569-78. doi: 10.14310/horm.2002.1635
31. Yim J.Y., Kim J., Kim D., Ahmed A. Serum testosterone and non-alcoholic fatty liver disease in men and women in the US. *Liver International*. 2018;38:2051-2059. doi: <https://doi.org/10.1111/liv.13735>
32. Kim S., Kwon H., Park J.H., Cho B., Kim D., Oh S.W., Lee C.M., Choi H.C. A low level of serum total testosterone is independently associated with nonalcoholic fatty liver disease. *BMC Gastroenterology*. 2012;12:69. doi: 10.1186/1471-230X-12-69
33. Osuna J.A., Gómez-Pérez R., Arata-Bellabarba G., Villaruel V. Relationship between BMI, total testosterone, sex hormone-binding-globulin, leptin, insulin and insulin resistance in obese men. *Archives of andrology*. 2006;52(5):355-61. doi: 10.1080/01485010600692017
34. Eguchi Y., Mizuta T., Sumida Y., Ishibashi E., Kitajima Y., Isoda H., Horie H., Tashiro T., Iwamoto E., Takahashi H., Kuwashiro T., Soejima S., Kawaguchi Y., Oda Y., Emura S., Iwakiri R., Ozaki I., Eguchi T., Ono N., Anzai K., Fujimoto K., Koizumi S. The pathological role of visceral fat accumulation in steatosis, inflammation, and progression of nonalcoholic fatty liver disease. *Journal of gastroenterology*. 2011;46(1):70-8. doi: 10.1007/s00535-010-0340-3
35. Herman A.P., Krawczyńska A., Bochenek J., Dobek E., Herman A., Tomaszewska-Zaremba D. LPS-induced inflammation potentiates the IL-1 β -mediated reduction of LH secretion from the anterior pituitary explants. *Clinical and*

Developmental Immunology. 2013;2013:926937. doi: 10.1155/2013/926937

36. Hua X., Sun Y., Zhong Y., Feng W., Huang H., Wang W., Zhang T., Hu Y. Low serum sex hormone-binding globulin is associated with nonalcoholic fatty liver disease in type 2 diabetic patients. *Clinical endocrinology (Oxf)*. 2014;80(6):877-83. doi: 10.1111/cen.12360

37. Li C., Ford E.S., Li B., Giles W.H., Liu S. Association of testosterone and sex hormone-binding globulin with metabolic syndrome and insulin resistance in men. *Diabetes Care*. 2010;33(7):1618-24. doi: 10.2337/dc09-1788.

38. Saez-Lopez, C., Barbosa-Desongles, A., Hernandez, C., Dyer, R. A., Innis, S. M., Simó, R., & Selva, D. M. Sex hormone-binding globulin reduction in metabolic disorders may play a role in NAFLD development. *Endocrinology*. 2017;158(3):545-559. doi: <https://doi.org/10.1210/en.2016-1668>

39. Ye J., Yao Z., Tan A., Gao Y., Chen Y., Lin X., He R., Tang R., Hu Y., Zhang H., Yang X., Wang Q., Jiang Y., Mo Z. Low Serum Sex Hormone-Binding Globulin Associated with Insulin Resistance in Men with Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Hormone and Metabolic Research*. 2017;49(5):359-364. doi: 10.1055/s-0043-102690

40. Yamazaki H., Kushiyama A., Sakoda H., Fujishiro M., Yamamotoya T., Nakatsu Y., Kikuchi T., Kaneko S., Tanaka H., Asano T. Protective Effect of Sex Hormone-Binding Globulin against Metabolic Syndrome: In Vitro Evidence Showing Anti-Inflammatory and Lipolytic Effects on Adipocytes and Macrophages. *Mediators of inflammation*. 2018;2018:3062319. doi: 10.1155/2018/3062319

41. Li Y., Liu L., Wang B., Xiong J., Li Q., Wang J., Chen D. Impairment of reproductive function in a male rat model of non-alcoholic fatty liver disease and beneficial effect of N-3 fatty acid supplementation. *oxicology letters*. 2013;222(2):224-32. doi: 10.1016/j.toxlet.2013.05.644

REFERENCES

1. Monelli F., Venturelli F., Bonilauri L., Manicardi E., Manicardi V., Rossi P.G., Massari M., Ligabue G., Riva N., Schianchi S., Bonelli E., Pattacini P., Bassi M.C., Besutti G. Systematic review of existing guidelines for NAFLD assessment. *Hepatoma Research*. 2021;7:25. doi: <http://dx.doi.org/10.20517/2394-5079.2021.03>

2. Calzadilla Bertot L., Adams L.A. The Natural Course of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. *International journal of molecular sciences*. 2016;17(5):774. doi: 10.3390/ijms17050774

3. Wilkins T., Tadmok A., Hepburn I., Schade R.R. Nonalcoholic fatty liver disease: diagnosis and management. *American family physician*. 2013;88(1):35-42

4. Patel V., Sanyal A.J., Sterling R. Clinical Presentation and Patient Evaluation in Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Clinics in liver disease*. 2016;20(2):277-92. doi: 10.1016/j.cld.2015.10.006

5. Murphy P., Hooker J., Ang B., Wolfson T., Gamst A., Bydder M., Middleton M., Peterson M., Behling C., Loomba R., Sirlin C. Associations between histologic features of nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) and quantitative diffusion-weighted MRI measurements in adults. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*. 2015;41(6):1629-38. doi: 10.1002/jmri.24755

6. Tapper E.B., Loomba R. Noninvasive imaging biomarker assessment of liver fibrosis by elastography in NAFLD. *Nature reviews Gastroenterology & hepatology*. 2018;15(5):274-282. doi: 10.1038/nrgastro.2018.10.

7. Sayiner M, Koenig A, Henry L, Younossi ZM. Epidemiology of Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Nonalcoholic Steatohepatitis in the United States and the Rest of the World. *Clinics in liver disease*. 2016;20(2):205-14. doi: 10.1016/j.cld.2015.10.001

8. Mishra A., Younossi Z.M. Epidemiology and Natural History of Non-alcoholic Fatty Liver Disease. *Journal of clinical and experimental hepatology*. 2012;2(2):135-44. doi: 10.1016/S0973-6883(12)60102-9

9. Dixon J.B., Bhathal P.S., O'Brien P.E. Nonalcoholic fatty liver disease: predictors of nonalcoholic steatohepatitis and liver fibrosis in the severely obese. *Gastroenterology*. 2001;121(1):91-100. doi: 10.1053/gast.2001.25540.

10. Zelber-Sagi S., Godos J., Salomone F.. Lifestyle changes for the treatment of nonalcoholic fatty liver disease: a review of observational studies and intervention trials. *Therapeutic advances in gastroenterology*. 2016;9(3):392-407. doi: 10.1177/1756283X16638830

11. Goyal N.P., Schwimmer J.B. The Progression and Natural History of Pediatric Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Clinics in liver disease*. 2016;20(2):325-38. doi: 10.1016/j.cld.2015.10.003.

12. Patel K.R., White F.V., Deutsch G.H. Hepatic steatosis is prevalent in stillborns delivered to women with diabetes mellitus. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*. 2015;60(2):152-8. doi: 10.1097/MPG.0000000000000520

13. Lonardo A., Bellentani S., Argo C.K., Ballestri S., Byrne C.D., Caldwell S.H., Cortez-Pinto H., Grieco A., Machado M.V., Miele L., Targher G. Epidemiological modifiers of non-alcoholic fatty liver disease: Focus on high-risk groups. *Digestive*

- and Liver Disease. 2015;47(12):997-1006. doi: 10.1016/j.dld.2015.08.004
14. Fu Z., Gilbert E.R., Liu D. Regulation of insulin synthesis and secretion and pancreatic Beta-cell dysfunction in diabetes. *Current diabetes reviews*. 2013;9(1):25-53.
15. Dowman J.K., Tomlinson J.W., Newsome P.N. Pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease. *QJM: An International Journal of Medicine*. 2010;103(2):71-83. doi: 10.1093/qjmed/hcp158
16. Abenavoli L., Peta V. Role of adipokines and cytokines in non-alcoholic fatty liver disease. *Reviews on recent clinical trials*. 2014;9(3):134-40. doi: 10.2174/1574887109666141216102458
17. Bykov I.M., Berberidy H.P., Popov K.A., Ermakova G.A., Tsymbalyuk I.Yu., Esaulenko E.E., Denisova Ya.E., Azimov E.A. Comparison of the effectiveness of various sulphur-containing hepatoprotectors against chronic alcoholization. *Medical News of North Caucasus*. 2019;14(3):523-527. doi: 10.14300/mnnc.2019.14129
18. Tsymbalyuk I.Yu., Manuilov A.M., Popov K.A., Basov A.A. Metabolic correction with sodium dichloroacetate of ischemia-reperfusion injury in vascular isolation of the liver in experiment. *Surgery news*. 2017; 25 (5): 447-453. (In Russ).
19. Shaabani SA, Pchelin I. Yu. Features of metabolic disorders in men and women with non-alcoholic fatty liver disease. *Juvenis scientia*. 2020; 6 (6): 18-32. (In Russ). doi: https://doi.org/10.32415/jscientia_2020_6_6_18-32
20. Kelly D.M., Nettleship J.E., Akhtar S., Muraleedharan V., Sellers D.J., Brooke J.C., McLaren D.S., Channer K.S., Jones T.H. Testosterone suppresses the expression of regulatory enzymes of fatty acid synthesis and protects against hepatic steatosis in cholesterol-fed androgen deficient mice. *Life sciences*. 2014;109(2):95-103. doi: 10.1016/j.lfs.2014.06.007.
21. Tian G.X., Sun Y., Pang C.J., Tan A.H., Gao Y., Zhang H.Y., Yang X.B., Li Z.X., Mo Z.N. Oestradiol is a protective factor for non-alcoholic fatty liver disease in healthy men. *Obesity reviews*. 2012;13(4):381-7. doi: 10.1111/j.1467-789X.2011.00978.x
22. Wang C., Jackson G., Jones T.H., Matsumoto A.M., Nehra A., Perelman M.A., Swerdloff R.S., Traish A., Zitzmann M., Cunningham G. Low testosterone associated with obesity and the metabolic syndrome contributes to sexual dysfunction and cardiovascular disease risk in men with type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 2011;34(7):1669-75. doi: 10.2337/dc10-2339
23. Allan C.A., McLachlan R.I. Androgens and obesity. *Current Opinion in Endocrinology, Diabetes and Obesity*. 2010;17(3):224-32. doi: 10.1097/MED.0b013e3283398ee2
24. Corona G., Monami M., Rastrelli G., Aversa A., Tishova Y., Saad F., Lenzi A., Forti G., Mannucci E., Maggi M. Testosterone and metabolic syndrome: a meta-analysis study. *The journal of sexual medicine*. 2011;8(1):272-83. doi: 10.1111/j.1743-6109.2010.01991.x
25. Brand J.S., van der Tweel I., Grobbee D.E., Emmelot-Vonk M.H., van der Schouw Y.T. Testosterone, sex hormone-binding globulin and the metabolic syndrome: a systematic review and meta-analysis of observational studies. *International journal of epidemiology*. 2011;40(1):189-207. doi: 10.1093/ije/dyq158
26. Blaya R., Thomaz L.D., Guilhermano F., Paludo Ade O., Rhoden L., Halmenschlager G., Rhoden E.L. Total testosterone levels are correlated to metabolic syndrome components. *The Aging Male*. 2016;19(2):85-9. doi: 10.3109/13685538.2016.1154523
27. Rao P.M., Kelly D.M., Jones T.H. Testosterone and insulin resistance in the metabolic syndrome and T2DM in men. *Nature Reviews Endocrinology*. 2013;9(8):479-93. doi: 10.1038/nrendo.2013.122
28. Saboor Aftab S.A., Kumar S., Barber T.M. The role of obesity and type 2 diabetes mellitus in the development of male obesity-associated secondary hypogonadism. *Clinical endocrinology (Oxf)*. 2013;78(3):330-7. doi: 10.1111/cen.12092
29. Pitteloud N., Hardin M., Dwyer A.A., Valassi E., Yialamas M., Elahi D., Hayes F.J. Increasing insulin resistance is associated with a decrease in Leydig cell testosterone secretion in men. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2005;90(5):2636-41. doi: 10.1210/jc.2004-2190
30. Corona G., Bianchini S., Sforza A., Vignozzi L., Maggi M. Hypogonadism as a possible link between metabolic diseases and erectile dysfunction in aging men. *Hormones (Athens)*. 2015;14(4):569-78. doi: 10.14310/horm.2002.1635
31. Yim J.Y., Kim J., Kim D., Ahmed A. Serum testosterone and non-alcoholic fatty liver disease in men and women in the US. *Liver International*. 2018;38:2051-2059. doi: <https://doi.org/10.1111/liv.13735>
32. Kim S., Kwon H., Park J.H., Cho B., Kim D., Oh S.W., Lee C.M., Choi H.C. A low level of serum total testosterone is independently associated with nonalcoholic fatty liver disease. *BMC Gastroenterology*. 2012;12:69. doi: 10.1186/1471-230X-12-69
33. Osuna J.A., Gómez-Pérez R., Arata-Bellabarba G., Villaruel V. Relationship between BMI, total testosterone, sex hormone-binding-globulin, leptin, insulin and insulin resistance in obese men. *Archives of andrology*. 2006;52(5):355-61. doi: 10.1080/01485010600692017

34. Eguchi Y., Mizuta T., Sumida Y., Ishibashi E., Kitajima Y., Isoda H., Horie H., Tashiro T., Iwamoto E., Takahashi H., Kuwashiro T., Soejima S., Kawaguchi Y., Oda Y., Emura S., Iwakiri R., Ozaki I., Eguchi T., Ono N., Anzai K., Fujimoto K., Koizumi S. The pathological role of visceral fat accumulation in steatosis, inflammation, and progression of nonalcoholic fatty liver disease. *Journal of gastroenterology*. 2011;46(1):70-8. doi: 10.1007/s00535-010-0340-3
35. Herman A.P., Krawczyńska A., Bochenek J., Dobek E., Herman A., Tomaszewska-Zaremba D. LPS-induced inflammation potentiates the IL-1 β -mediated reduction of LH secretion from the anterior pituitary explants. *Clinical and Developmental Immunology*. 2013;2013:926937. doi: 10.1155/2013/926937
36. Hua X., Sun Y., Zhong Y., Feng W., Huang H., Wang W., Zhang T., Hu Y. Low serum sex hormone-binding globulin is associated with nonalcoholic fatty liver disease in type 2 diabetic patients. *Clinical endocrinology (Oxf)*. 2014;80(6):877-83. doi: 10.1111/cen.12360
37. Li C., Ford E.S., Li B., Giles W.H., Liu S. Association of testosterone and sex hormone-binding globulin with metabolic syndrome and insulin resistance in men. *Diabetes Care*. 2010;33(7):1618-24. doi: 10.2337/dc09-1788.
38. Saez-Lopez, C., Barbosa-Desongles, A., Hernandez, C., Dyer, R. A., Innis, S. M., Simó, R., & Selva, D. M. Sex hormone-binding globulin reduction in metabolic disorders may play a role in NAFLD development. *Endocrinology*. 2017;158(3):545-559. doi: <https://doi.org/10.1210/en.2016-1668>
39. Ye J., Yao Z., Tan A., Gao Y., Chen Y., Lin X., He R., Tang R., Hu Y., Zhang H., Yang X., Wang Q., Jiang Y., Mo Z. Low Serum Sex Hormone-Binding Globulin Associated with Insulin Resistance in Men with Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Hormone and Metabolic Research*. 2017;49(5):359-364. doi: 10.1055/s-0043-102690
40. Yamazaki H., Kushiyaama A., Sakoda H., Fujishiro M., Yamamotoya T., Nakatsu Y., Kikuchi T., Kaneko S., Tanaka H., Asano T. Protective Effect of Sex Hormone-Binding Globulin against Metabolic Syndrome: In Vitro Evidence Showing Anti-Inflammatory and Lipolytic Effects on Adipocytes and Macrophages. *Mediators of inflammation*. 2018;2018:3062319. doi: 10.1155/2018/3062319
41. Li Y., Liu L., Wang B., Xiong J., Li Q., Wang J., Chen D. Impairment of reproductive function in a male rat model of non-alcoholic fatty liver disease and beneficial effect of N-3 fatty acid supplementation. *oxicology letters*. 2013;222(2):224-32. doi: 10.1016/j.toxlet.2013.05.644

ОСНОВНЫЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ В СОВРЕМЕННОЙ СУДЕБНОЙ МЕДИЦИНЕ

Фоминых Т. А., Куцевол Б. Л., Саенко А. Г., Грицкевич О. Ю.

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

Для корреспонденции: Фоминых Т. А., доктор медицинских наук, профессор, зав. кафедрой судебной медицины, Институт «Медицинская академия имени С. И. Георгиевского» ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского», e-mail: tanusha.ark@gmail.com

For correspondence: Fominykh T. A., MD, Professor, Head of the department of forensic medicine, Institute «Medical Academy named after S.I. Georgievsky» of Vernadsky CFU, e-mail: tanusha.ark@gmail.com

Information about authors:

Fominykh T. A., <http://orcid.org/0000-0001-6572-2387>

Kutsevol B. L., <http://orcid.org/0000-0003-4415-9083>

Saenko A. G., <https://orcid.org/0000-0003-0987-919X>

Gritskevich O. Yu., <https://orcid.org/0000-0002-0312-9972>

РЕЗЮМЕ

В статье представлены основные методы исследования, используемые в настоящее время в судебно-медицинской практике. Наряду с традиционными методиками описываются современные методики, разработки последних лет, основанные на достижениях современных естественных наук. В некоторых случаях дана краткая историческая справка, например, касательно дактилоскопии, методики реконструкции лица по черепу или методов определения ДНК. Приводятся сравнительные данные об использовании некоторых методов исследования в разных странах мира. Особое внимание уделено наиболее передовым технологиям, таким, как виртопсия и генетический анализ. Кратко рассмотрены перспективы внедрению современных методов исследования в судебно-медицинскую практику.

Ключевые слова: судебная медицина, методы исследования, современные технологии.

BASIC RESEARCH METHODS IN MODERN FORENSIC MEDICINE

Fominykh T. A., Kutsevol B. L., Saenko A. G., Gritskevich O. Yu.

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

SUMMARY

The article presents the main research methods currently used in forensic medical practice. Along with traditional methods, modern methods, developments of recent years, based on the achievements of modern natural sciences, are described. In some cases, a brief historical background is given, for example, regarding fingerprinting, techniques for facial reconstruction from the skull, or methods for determining DNA. Comparative data on the use of some research methods in different countries of the world are presented. Particular attention is paid to the most advanced technologies such as virtopsy and genetic analysis. The prospects for the introduction of modern research methods into forensic practice are briefly considered.

Key words: forensic medicine, research methods, modern technologies.

Судебная медицина – раздел медицины, основной задачей которого является решение вопросов естественнонаучного характера, возникающих в правовой сфере. Иначе говоря, судебная медицина выявляет, исследует и оценивает медицинские факты как источник доказательной базы при расследовании преступлений или решении проблем юридического характера. Решение указанных вопросов входит в компетенции врача-эксперта (обычно судебного медика) [1].

В судебной медицине можно найти разделы различных медицинских специальностей (как судебно-медицинская травматология, акушерство и гинекология, урология, психиатрия, а

также биология и антропология), в силу чего к методам исследования в судебной медицине относятся и специальные методики, заимствованные из многих специальностей и адаптированные к задачам судебной медицины. С другой стороны, данная наука и специальность призваны служить, прежде всего, науке права и криминалистике, с чем связано наличие в судебной медицине специфических разделов, не встречающихся ни в одной другой медицинской специальности [2].

Методы судебной медицины.

В судебной медицине, кроме общенаучных (универсальных) методов познания (абстрагиро-

вание, дедукция, логика, индукция, сравнение, типология и т.п.), используются общие (эмпирические), частные и специальные методы исследования.

Общими методами исследования для судебной медицины являются следующие.

Наблюдение – может быть непосредственным (визуальным «ad oculus») или опосредованным – с использованием простой (лупа, негатоскоп, приборы ночного видения) и сложной (микроскоп, рентгенаппарат, хроматограф, спектрограф) специальной техники.

Описание – фиксация результатов наблюдения (или эксперимента) в текстовой форме. Подробному описанию подлежат, кроме общих морфологических характеристик потерпевшего или трупа, все нюансы строения и размеров телесных повреждений, раневых каналов и т.п. Для описания неизвестных лиц (или их трупов) применяется методика создания «словесного портрета» [1].

Измерение – в ходе которого определяются числовые значения параметров изучаемых объектов. Подразделяется на прямое, косвенное, совместное и совокупное; производится при помощи различных измерительных инструментов или специальных устройств [3].

Вычисление – представляет собой математическую обработку полученных данных при помощи различных методов математической статистики с целью определения достоверности выводов и степени влияния внешних или внутренних факторов на изучаемый объект в динамике [4].

Моделирование подразделяют на два основных вида – материальное (вещественное) и идеальное (знаковое, вербальное, математическое, компьютерное). Моделями служат или физические тела (уменьшенные копии изучаемого объекта), или умозрительные аналоги (в мысленном эксперименте), рисунки, чертежи, графики, математические формулы или компьютерные модели, построенные при помощи специальных программ [5].

Эксперимент в судебной медицине позволяет воссоздавать картину преступления или происшествия (следственный эксперимент) для последующей проверки предлагаемых гипотетических ситуаций [1].

Частные методы исследования.

Частные методы исследования в судебной медицине делят на физические, химические, биологические и др.

К физическим методам относятся визуальные и лучевые.

Для визуального исследования используют оптические устройства, такие, как лупа, микро-

скоп, фотоаппарат. Фотографирование, кроме традиционного, используется также в комбинации с различными дополнительными средствами и методами (масштабирование, использование цветофильтров, микроскопа, ультрафиолета и инфракрасного излучения). Для идентификации личности обычно применяют метод совмещения фотографий и рентгенограмм. Для изучения динамических процессов используются видеокамеры.

Из методов лучевой диагностики используется обычно рентгенография, иногда в комплексе с денситометрией, а также компьютерная томография (КТ), реже магнитно-резонансная томография (МРТ) и ультразвуковая диагностика (УЗИ) [3, 6].

Методы компьютерной томографии (КТ) и магнитно-резонансной томографии (МРТ) сравнительно давно используются в судебно-медицинской экспертизе живых лиц. Посмертное исследование тела методом компьютерной томографии используется во время расследования после внешнего осмотра трупа на месте его обнаружения, а также во время проведения судебно-медицинской экспертизы для уточнения диагноза, причины и механизма наступления смерти, идентификации личности погибшего [7; 8].

Использование в судебной медицине метода компьютерной томографии для посмертной визуализации решает ряд важных задач: выявляет присутствие газов в мягких тканях, сердечно-сосудистой системе и полостях тела; демонстрирует наличие жидкости в полостях тела, показывая ее точную локализацию и объем, а также плотность жидкости (что позволяет предположить ее характер – кровь, гной, экссудат); обеспечивает визуализацию повреждений и возможного наличия осколков, дроби, пуль и т.п. в тканях при огнестрельных и взрывных травмах; выявляет повреждения опорно-двигательного аппарата с установлением характера и механизма повреждения; облегчает диагностику вида черепно-мозговой травмы, уточняя наличие повреждения костей черепа, внутримозгового кровоизлияния или ушиба мозга; определяет наличие повреждений при тупых травмах, например, грудной клетки, живота или таза; выявляет внутренние повреждения тканей и органов от воздействия острых предметов; обеспечивает визуализацию типичных проявлений механической асфиксии, утопления, результатов воздействия низких или высоких температур [8].

Виртопсия – (virtopsy, результат слияния слов «виртуальный» и «вскрытие») – методика посмертного исследования тела, комбинирующая классическое вскрытие трупа с обязательным предварительным использованием КТ- и/

или МРТ методов визуализации без использования контрастных веществ. Автором термина является директор Института правовой медицины университета в Берне, профессор Ричард Дирнхофер; вместе с профессором-радиологом Питером Воком он доказал рациональность использования методов посмертной визуализации в судебно-медицинской практике [9; 10].

В настоящее время виртопсия достаточно широко используется в судебно-медицинской экспертизе трупов в ряде зарубежных стран в отличие от России, где лучевые методы диагностики судебными медиками практически не используются, однако в последнее время в нашей стране возрос интерес к данному направлению и есть надежда на его развитие [9; 11; 12; 13].

Предлагается также к использованию в судебно-медицинской практике метод ультразвукового исследования, который, имея наряду с преимуществами (например, хорошую визуализацию инородных тел) и ряд недостатков (прежде всего, отсутствие правовой базы для использования УЗИ в танатологии), существенно может дополнить комплексную посмертную экспертизу [14].

Химические методы исследования в судебной медицине представлены преимущественно капельным анализом, позволяющим определять количество определенных веществ в тканях, а также спектральным анализом. Судебно-химическая экспертиза позволяет определять в биологических объектах наличие различных токсических веществ, лекарственных препаратов, повышенное содержание некоторых металлов; в небиологических объектах, взятых с мест преступления (происшествия), экспертиза идентифицирует содержащиеся вещества, возможно, повлекшие смерть потерпевшего [1; 2].

Судебная биохимическая экспертиза занимается определением биохимических параметров исследуемых биологических объектов (жидкостей и тканей организма).

Биологическими методами определяют механизм образования следов биологического происхождения, устанавливают их видовую и групповую принадлежность. Для этого используют серологические и цитологические методы, а в последние годы – молекулярно-генетический анализ, позволяющий наиболее точно проводить идентификацию личности. Для определения содержания определенных веществ в клетках биологических образцов применяют цитохимические методы [1; 3].

Кроме того, в судебной экспертизе используются методы физико-химического анализа (спектральный анализ, фотометрия, жидкостная и тонкослойная хроматография, контактно-

диффузный метод или метод цветных отпечатков), предназначенные для количественного и качественного определения наличия различных химических веществ, ядов, лекарственных препаратов, тяжелых металлов, токсичных веществ, спиртов и т.д. в биологических образцах или вещественных доказательствах [1; 3].

Специальные методы исследования.

Специальными методами исследования в судебной медицине являются морфологический (секционный и гистологический), а также методы идентификации личности (морфометрические индивидуализирующие, например, судебно-портретная экспертиза и др.) и орудий травмы (экспертиза проводится в таких случаях на основании анализа особенностей имеющихся повреждений) [15].

К методам судебно-медицинской идентификации личности относится, в частности, дактилоскопия.

Дактилоскопия – метод опознавания субъекта по следам кожного рисунка пальцев рук, основанный на его индивидуальности и неповторимости; метод достаточно давно применяется в криминалистике. Одним из первых обратил внимание на разнообразие узора ладонной поверхности пальцев знаменитый анатом и физиолог Ян Пуркине; затем, в 1877 г. в Англии появилась работа Уильяма Гершеля, в которой была изложена гипотеза об индивидуальности папиллярного рисунка. Есть свидетельства того, что узоры на коже ладонной поверхности рук интересовали людей ещё в доисторический период. Так, в 1832 г. во Франции при раскопках древнего кургана были найдены каменные плиты с изображениями, очень похожими на папиллярные узоры. А в Китае в VI–VII вв. в качестве «подписи» на документах использовали отпечаток пальца. Научная основа для дактилоскопии была заложена итальянским ученым Марчелло Мальпиги в 1665 г. в сочинении «De externo tactus organo» («О внешних органах чувств»), где он впервые описал кожные узоры [16].

На протяжении долгого времени распространению дактилоскопического метода препятствовало отсутствие простой и удобной классификации папиллярных узоров. Британский ученый Фрэнсис Гальтон с 1880-х гг. занимался научной стороной этого вопроса и смог вычислить, что вероятность наличия идентичных отпечатков у разных людей составляет 1 к 64 миллиардам. Гальтон издал свой труд в 1892 г. А в 1891 г. аргентинский полицейский Хуан Вучетич (1858–1925) разработал десятипальцевую классификацию дактилоскопических отпечатков, затем она постоянно дорабатывалась вплоть до 1904 г. При проведении расследования громкого случая

убийства двух мальчиков Вучетич определил преступницу по отпечатку пальца, ею оказалась родная мать несчастных. Но классификация Вучетича была неизвестна в Европе, и вся честь открытия данной методики досталась англичанину, помощнику комиссара полиции, шефу полиции в Бенгалии сэру Эдварду Р. Генри. Предложенная им дактилоскопическая классификация оказалась столь удачной, что по сей день используется во многих странах в изначальном виде, а также явилась основой для создания более современных методик [17; 18; 19].

Сам термин «дактилоскопия» был предложен врачом Ф. Латциной в 1894 г. Изначально дактилоскопия относилась к сфере судебной медицины и криминалистики, и успешно внедрялась в практику судебно-медицинских экспертов разных стран. Долее всех среди европейских стран методику дактилоскопии не воспринимала всерьез Франция. Однако, после того, как в 1911 г. из Лувра была похищена картина кисти Леонардо да Винчи «Мона Лиза», в 1914 г. в Монако был созван Международный конгресс полицейских, на котором обсуждалось, какой из существовавших на тот момент методов опознания преступников следует предпочесть, и, в результате, победа справедливо досталась дактилоскопии [17; 20].

В 20-30-х годах XX в. исследователи целенаправленно заинтересовались строением кожных узоров. В 1926 г. Г. Камминз и Ч. Мидло предложили термин «дерматоглифика» (от «дерма» – кожа и «глифе» – узор) в качестве названия новой науки, а также методов исследования кожных узоров человека с целью национальной (этнической) идентификации, определения расовой принадлежности и генетической диагностики (в частности, выявления склонности субъекта к наследственным заболеваниям, наркомании и даже преступности) [20 – 25].

Практическое использование дактилоскопии.

Первой и основной областью применения дактилоскопии была и остается криминалистика. В частности, дактилоскопия применяется при изучении потожировых следов, оставляемых кожей, что используется для идентификации личности; многие современные замки и сейфы оборудованы дактилоскопическими сканерами, такими же устройствами часто оснащены шифровальные устройства в компьютерах и смартфонах. Для идентификации личности в наше время достаточно широко используются сканеры отпечатков пальцев, в частности, для учёта рабочего времени используется биометрический терминал со сканером. Устройства и программы для распознавания отпечатков пальцев применяются сегодня во многих отрас-

лях. Их устанавливают во флеш-накопители, на смартфоны и ноутбуки, в компьютерные мыши и клавиатуры. Широко используются терминалы в комплекте с системами AFIS («Automated fingerprint identification systems» – автоматические системы идентификации по отпечаткам пальцев) [26; 27; 28].

Существующие сейчас сканеры подразделяются на несколько видов: оптические (в т.ч. волоконные, оптические протяжные, FTIR-сканеры, роликовые, бесконтактные); полупроводниковые: ёмкостные, термальные, тензометрические, радиочастотные, протяжные термо-сканеры (в том числе ёмкостные и радиочастотные); ультразвуковые. Наиболее широко распространены оптические протяжные сканеры. Более скоростными устройствами являются полупроводниковые и ультразвуковые, но они дорого стоят и используются сравнительно редко [20].

Самый распространенный способ применения дактилоскопии в обыденной жизни – оплата покупок в магазинах, имеющих специальное оборудование. Весьма актуальной в настоящее время стала автоматизация дактилоскопического учёта – создание «автоматизированных дактилоскопических информационных систем (АДИС)», предназначенных для хранения больших объемов дактилоскопической информации в электронном виде; такая база необходима для операций по идентификации личности, проводимых по папиллярным узорам [21; 26; 27].

Генетическая дактилоскопия (ДНК-дактилоскопия).

В последние годы благодаря развитию генетики получила распространение генетическая дактилоскопия, или ДНК-дактилоскопия, — система современных методов биологической идентификации личности, основанная на уникальности ДНК как, в своем роде, «генетического отпечатка». Метод, изобретенный в 1984 г. британским генетиком Алемом Джеффрисом, сегодня используется в большинстве стран мира в криминалистике как компонент судебно-медицинской экспертизы с целью раскрытия преступлений, а также для установления родства и идентификации личности. Сначала, конечно, данный метод стали применять при проведении экспертиз для выяснения причастности подозреваемых к преступлению или, наоборот, их невиновности. Традиционная дактилоскопия с развитием технологий дополнилась генетической, появилась возможность определения личности по различным биологическим объектам, например, по капле крови, фрагменту кожи, волосу (с волосяной луковицей), обломку кости и т.д. В наши дни ДНК-дактилоскопия производится даже в портативных лабораториях. С помощью

данной методики в течение одного лишь 2008 года было раскрыто 17614 преступлений [16, 18, 29, 30, 31].

ДНК-дактилоскопия также применяется и в других сферах криминалистики, например, для идентификации видов животных, растений и даже микроорганизмов. При помощи генетических методов специалисты определяют фрагменты наркосодержащих растений, прежде всего, каннабиса. Важным и перспективным направлением исследований в криминалистике является анализ микробиоты. Современные технологии позволяют обнаружить ДНК-следы на любых предметах, которые взаимодействовали с телом человека, устанавливая не только его личность, но и воссоздавая образ жизни, привычки, характер [16; 19; 29].

Следует особо подчеркнуть, что использование судебно-медицинской генетической экспертизы на современном этапе является важнейшим направлением судебной медицины в случаях нарушения прав человека и международного гуманитарного права.

Методы ДНК-профилирования: 1) ПДРФ-анализ (расшифровывается как «полиморфизм длин рестрикционных фрагментов»). Недостатком этого метода является то, что для него требовалось большое количество образцов биоматериала, содержащего ДНК, и впоследствии он был вытеснен более удобными и простыми методами ПЦР-анализа; 2) ПЦР-анализ (ПЦР – полимеразная цепная реакция). В США, например, для идентификации личности в ходе уголовных дел в ведомстве ФБР используется стандартный набор для ДНК-профилирования и база ДНК-данных «Combined DNA Index System (CODIS)». Подобные наборы и базы ДНК существуют и в других странах; 3) КТП-анализ (КТП – короткий tandemный повтор). В основе этого метода – методика ПЦР, но данный метод использует в процессе работы короткие tandemные повторы (КТП); 4) Митохондриальный анализ. Этот метод, например, был успешно использован для установления факта того, что известнейшая в мире самозванка Анна Андерсон, выдававшая себя за великую русскую княжну Анастасию Романову, на самом деле ею не являлась [32; 33].

До недавних пор для проведения ДНК-дактилоскопии было необходимо доставлять образцы в лабораторию. Сейчас появились портативные приборы для осуществления сравнительного ДНК-теста на месте происшествия. После загрузки биологического образца в такой прибор автоматически с помощью роботов производится выделение ДНК, реакция ПЦР и электрофорез. Полученные данные моментально обрабатываются и, если есть доступ к базе

данных, проводится сравнение профилей ДНК. Актуальным также является применение биочипов, на которых можно хранить как ДНК, так и белки; данный метод позволяет использовать не вполне качественные биоматериалы, непригодные, например, для серологического анализа [29].

Ограничения ДНК-дактилоскопии.

Несмотря на высокий уровень результатов, ДНК-идентификация имеет ряд ограничений: 1) Некачественный образец ДНК. В случаях, когда материал испорчен (погодными условиями, плесневым процессом и т.п.), то выделить из него образец ДНК приемлемого качества не удастся. 2) Нравственные барьеры. Защитники прав человека и личных свобод выступают против анализов с использованием ДНК, т.к., по их мнению, эти данные могут быть использованы в чьих-то личных целях, или, например, для контроля и дискриминации этнических меньшинств. 3) Химеризм. Это уникальное явление характеризуется тем, что у человека имеется две разных ДНК, что, безусловно, создает проблемы при ДНК-типировании. Следует к тому же отметить, что метод ДНК-дактилоскопии не позволяет идентифицировать (различать) однояйцевых близнецов, генетический профиль которых, естественно, абсолютно одинаков, так как они развиваются из одной яйцеклетки. В таких случаях приходит на помощь эпигенетика, позволяющая решать задачи, недоступные «классической» генетике, и, прежде всего, различать монозиготных близнецов [34].

Базы данных ДНК-профилей в разных странах.

На текущий момент во многих странах мира в криминалистике используются методы ДНК-анализа, для чего созданы базы ДНК-профилей. Национальная база данных ДНК Великобритании «NDNAD» была организована в 1995 г. и содержит более 6 млн. проб. В этой базе хранится ДНК-информация осужденных и подозреваемых лиц. В настоящее время в Великобритании раскрывается до 2 тыс. преступлений еженедельно, и во всех случаях на месте происшествия забирается генетический материал. Следует отметить, что этот метод экспертизы позволил изрядно повысить количество раскрытых преступлений [35; 36].

В 1998 году в США была создана Национальная генетическая база данных «National DNA Index» (NDIS), куда вносится в первую очередь информация о лицах, совершивших тяжкие и особо тяжкие преступления. На данный момент в NDIS хранится более 10 млн. генетических профилей преступников и более 50 млн. генетических паспортов военнослужащих и членов

их семей. Во Франции база была организована в 1998 г. и содержит ок. 4 млн. генетических папортов [36; 37].

В 2008 г. в России был принят закон «О государственной геномной регистрации в Российской Федерации», в соответствии с которым в ведомстве МВД РФ была создана база ДНК-данных, содержащая информацию об осуждённых за тяжкие и особо тяжкие преступления, за преступления в половой сфере, а также информация о неопознанных трупах и биологических следах с мест преступлений [30, 35].

Эпигенетика в криминалистике.

Эпигенетическая экспертиза используется в криминалистике совсем недавно, но с каждым годом возрастает количество публикаций, посвященных практическому применению эпигенетики, что свидетельствует о безусловной востребованности данного раздела науки [38, 39].

Само понятие эпигенетики возникло в 40-х гг. XX века, когда были раскрыты эпигенетические механизмы контроля деятельности генов, как бы «надстройка» над стабильно неизменной последовательностью ДНК. В настоящее время на практике анализ эпигенетических вариантов ещё не используется столь широко, как уже ставший традиционным анализ ДНК, однако их изучение в ряде случаев имеет важнейшее значение в расследовании преступлений [40].

Начиная с 2005 г. достаточно широко начали использоваться новейшие методы секвенирования (next generation sequencing, NGS). Прежде всего, от этого выиграл эпигенетический анализ, т.к. ранее использовавшиеся методы определения эпигенетически модифицированных геномных областей стало возможным объединить с NGS. Так, команда учёных под руководством Софии Форат, используя в своей работе Illumina Human Methylation 450K Beadchip смогла идентифицировать около 150 тканеспецифичных маркеров для осуществления широкого спектра анализов крови, слюны, спермы, и других биологических жидкостей [41, 42].

Метод реконструкции лица по черепу.

В основе идеи реконструкции лиц изначально было желание воссоздания облика умерших людей. В 1953 г. в Иерихоне археологом Кэтли Кеньон были обнаружены черепа людей, живших примерно в VII тысячелетии до н.э. Черепа были покрыты глиной, а в глазницы были вставлены раковины морских моллюсков – таким образом, древние художники «восстанавливали» лица своих предков. В XIX веке возник более живой научный интерес к реконструкции лица, и возникла необходимость разработки определенных анатомических принципов и подходов. Немало способствовали развитию реконструк-

ции лица достижения краниометрии, основной потенциал которой придал своими работами известнейший анатом и антрополог П. Брока. Немецкие и швейцарские анатомы и скульпторы тех времен совместно пытались выявлять и интерпретировать закономерности соотношений между лицом и черепом. Наиболее известные ученые, занимавшиеся вопросами реконструкции – немецкий анатом Вильгельм Гис и швейцарский антрополог Кольман [43].

Значительного прогресса методы реконструкции лиц достигли в XX в. Советский антрополог Михаил Герасимов разработал уникальный метод, учитывающий, кроме толщины тканей в различных отделах лица, структуру мимических и жевательных мышц. Вначале ученый кропотливо моделировал все мышцы головы, затем воссозданные «мягкие ткани» покрывал тонким слоем глины в качестве «кожи». М. Герасимов создал натуралистичные «портреты» более 200 известных персонажей прошлого (в том числе Ивана Грозного, Софьи Палеолог, Тамерлана), и, кроме того, представителей человечества древних эпох. Как специалиста часто приглашали М. Герасимова и для раскрытия уголовных дел. В 1950 г. в Москве под руководством Герасимова была организована Лаборатория антропологической реконструкции при Институте этнологии и антропологии РАН, существующую и эффективно функционирующую в наши дни [43; 44; 45].

Развитие медицинских технологий, безусловно, способствует прогрессу методов реконструкции лиц. К используемым изначально рентгеновским снимкам добавилась технология компьютерной томографии (КТ) живых людей. До 1980-х годов все исследования и измерения производились на трупах, что влекло определенные погрешности. КТ-сканирование позволяет получить несравнимо более точную информацию о толщине мягких тканей лица. Особенно способствовало прогрессу методики развитие компьютерных технологий и создание специальных программ. Таким образом, реконструкция лиц сейчас гораздо более эффективна и надежна, чем ранее [6; 43; 46].

ДНК-фенотипирование (восстановление облика по ДНК).

Бурно развивающиеся технологии ДНК-дактилоскопии являются неоценимым подспорьем в криминалистике. Развитие антропологии, современных методов визуализации (МР и КТ), 3D-моделирования, геномики, а также нейросетевых технологий сделали возможным восстановление облика человека по биологическим образцам. В последние годы наблюдается также интенсивное развитие методов применения нейронных сетей для создания реалистичных

изображений и в генетических исследованиях, что является особо актуальным для современной криминалистики. Прогресс технологий расшифровки генетических данных, компьютерного 3D-моделирования и нейросетевых алгоритмов в сочетании с достижениями современной антропологии позволяет обрабатывать большие объемы антропологической и генетической информации и подвергать ее анализу при помощи нейросети. Важно отметить, что нейронная сеть не только способна определять этническую принадлежность или распознавать морфологические признаки, но и воссоздавать облик человека по образцам ДНК, взятым на месте преступления. Методы прогнозирования фенотипа человека на основе имеющейся генетической информации успешно развиваются и достаточно широко применяются криминалистами в ряде стран [31; 47; 48].

Ольфакторика (лат. *olfactus* – обоняние) – раздел криминалистики, изучающий свойства следов пахнущих веществ (ольфакторных следов), которые воспринимаются органом обоняния. Ольфакторика является частью одорологии и занимается обнаружением, изъятием, фиксацией запахов следов, проводит по ним криминалистическую диагностику и идентификацию личности. Специфика методик ольфакторной судебной экспертизы состоит в том, что они позволяют химическим путем с помощью специального оборудования выделять запахи в чистом виде [24; 49].

По источникам происхождения пахнущие вещества подразделяют на: 1 – выделяемые живыми организмами и 2 – другие вещества естественного (запахи пищи, гниения, почвы, цветущих растений, травы и т.д.) и искусственного (запах хлора, бензина, пластмасс и т.д.) происхождения. Ольфакторика исследует только пахнущие следы человека. По роли в исследовании пахнущих следов вещества, характеризующие тело, подразделяются на: вещества, позволяющие определить групповые особенности субъекта (биологический вид, пол, возраст, состояние здоровья и др.); вещества, характеризующие индивидуальные особенности субъекта; случайные примеси [50].

Следствие, определив круг подозреваемых, направляет их на судебно-медицинскую экспертизу, которая устанавливает, им ли принадлежит запах, обнаруженный на месте происшествия. Экспертиза пахнущих следов является по сути судебно-биологической экспертизой, ее проводят в условиях лаборатории методом сопоставления изъятых со следоносителей на месте происшествия ольфакторных проб и представленных для сравнения ольфакторных образцов,

которые были получены от подозреваемых. На этом этапе в качестве «живых датчиков» используются собаки-детекторы, т.к. инструментальными методами определить наличие ольфакторных свойств таких следов невозможно. Важно отметить, что надежность российских методик ольфакторного исследования состоит в том, что полученные результаты высоко объективны, т.к. не зависят от «субъективных показаний» животных. В нашей стране разработан научно обоснованный комплекс специальных тестов и критериев, позволяющий беспристрастно оценивать показатели сигнального поведения животных, выявлять свои их рефлекторной и обонятельной деятельности [51; 52; 53].

Ольфакторный метод имеет достаточно давнюю историю, но, на сегодняшний день, благодаря научно-техническому прогрессу, количество объектов, используемых для ольфакторного анализа, изрядно возросло. Идентифицирующие ольфакторные вещества можно выделять в чистом виде методом экстракции с использованием спиртов, хлороформа и специального оборудования, после чего осуществляется их очистка методом их сублимации в термовакуумных сборниках с последующим применением тонкослойной хроматографии для выделения конечных продуктов. Сейчас стало возможным выделять высококачественный ольфакторный комплекс из биологических материалов, пребывающих в состоянии загрязнения или гнилостной деградации, не содержащих клеточных структур, из смывов с поверхности тела или полостей погибших [49; 52].

Судебная экспертиза ольфакторных следов человека подразумевает идентификацию субъекта по биологическим микроследам, а именно веществам липидной природы, не связанным с сохранностью клеточных структур, что недоступно, например, при проведении ДНК-анализа. Российские методики по уровню качества, точности и объективности ставят ольфакторные методы идентификации в ряд с самыми современными инструментальными методами анализа [51].

Кроме приведенных методов исследования существует целый ряд специальных методов судебно-медицинской идентификации личности, методики выяснения условий нанесения повреждений, способы определения видовой, групповой и половой принадлежности субъекта по пятнам крови. Отдельным направлением является экспертиза огнестрельных повреждений со своим набором методов баллистики, например, определения дистанции выстрела или специальные методы исследования остатков пороха (микрхимический, спектрографиче-

ский, рентгенологический и др.). Большинство из перечисленных методов находится на стыке криминалистики и судебной медицины. Также есть опыт применения в судебно-медицинской экспертизе таких методов, как электрокардиография, абдоминальная идентификация, предложены различные методы исследования ногтевых пластин, рельефа слизистой оболочки твердого неба и спинки языка, особенностей строения зубочелюстного аппарата [6; 54; 55; 56; 57; 59].

Современные тенденции развития технологий и естественных наук, прежде всего, медицинских, ведут одновременно и к расширению компетенций судебной медицины, и к более выраженной дифференцировке ее узких направлений, таких, как судебная стоматология, психиатрия, оториноларингология, гинекология и др., что, в свою очередь, требует от экспертов ответственного отношения к повышению профессиональной квалификации. Технический прогресс и развитие таких отраслей науки, как генетика и другие перспективные направления молекулярной биологии, внедрение в практику возможностей искусственного интеллекта и нанотехнологий способствуют выходу судебной медицины в содружестве с криминалистикой на новые уровни качества решения поставленных задач.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

ЛИТЕРАТУРА

1. Пиголкин Ю. И., Ромодановский П. О., Кильдюшов Е. М., Дубровин И. А., Сундуков Д. В. Судебная медицина: учебник. Под ред. Ю. И. Пиголкина. 3-е изд., перераб. и доп. М.: ГЭ-ОТАР-Медиа. 2012:496.
2. Руководство по судебной медицине. Под ред. В. В. Томилина, Г. А. Пашиняна. М.: Медицина. 2001:576.
3. Пашкова В. И., Томилин В. В. Лабораторные и специальные методы исследования в судебной медицине (практическое руководство). М.: Медицина. 1975:456.
4. Попов В. А., Самчук В. В. Методы трехмерного и математического моделирования в судебной медицине (современное состояние вопроса). Судебная медицина. 2017;3(3):36-39.
5. Кислов М. А. Моделирование колото-резаных повреждений методом конечно-элементного анализа. Судебная медицина. 2017;3(3):18-24. doi: 10.19048/2411-8729-2017-3-3-18-24
6. Мазур Е. С., Иванов И. В. Возможности использования специальных знаний в раскрытии и расследовании преступлений.

Уголовная юстиция. 2016;1(7):121-126. doi: 10.17223/15617793/390/24

7. Кильдюшов Е. М., Егорова Е. В., Буренчев Д. В. Современные возможности лучевой диагностики в судебной медицине. Судебная медицина. 2019;5(4):4-8. doi: 10.19048/2411-8729-2019-5-4-4-8

8. Коков Л. С., Кинле А. Ф., Сеницын В. Е., Филимонов Б. А. Возможности компьютерной и магнитно-резонансной томографии в судебно-медицинской экспертизе механической травмы и скоропостижной смерти (обзор литературы). Журнал им. Н. В. Склифосовского Неотложная медицинская помощь. 2015;(2):16-26.

9. Клевно В. А., Чумакова Ю. В. Виртопсия – новый метод исследования в практике отечественной судебной медицины. Судебная медицина. 2019;5(2):27-31. doi: 10.19048/2411-8729-2019-5-2-27-31.

10. Клевно В. А., Чумакова Ю. В., Павлик Д. П., Дуброва С. Э. Возможности виртуальной аутопсии при огнестрельной травме. Судебная медицина. 2019;5(3):33-38. doi: 10.19048/2411-8729-2019-5-3-33-38

11. Еремченко В. И. Перспективы использования современных инструментальных методов исследования в рамках производства судебно-медицинской экспертизы трупа. Вестник Краснодарского университета МВД России. 2019;3(45):65-69.

12. Ерофеев С. В., Шишкин Ю. Ю., Федорова А. С. О технологиях анализа изображений как средствах повышения объективности и достоверности судебно-медицинских экспертиз. Судебная медицина. 2017;3(2):17-23. doi: 10.19048/2411-8729-2017-3-1-21-25

13. Стрелков А. А., Дадабаев В. К. Предварительное криминалистическое исследование трупа методом рентгеновской компьютерной томографии: возможности и перспективы. Гуманитарные и юридические исследования. 2014;(3):122-126.

14. Клипко Е. П. Комплексное ультразвуковое исследование трупа как ориентирующий способ определения причины смерти. Вестник Восточно-Сибирского института МВД России. 2018;4(87):190-196.

15. Романько Н. А., Зинин А. М., Хазиев Ш. Н. О судебно-экспертной идентификации личности по признакам внешности и особенностям строения тела. Судебная медицина. 2017;3(1):21-25. doi: 10.19048/2411-8729-2017-3-1-21-25

16. Витер В. И. Судебная медицина в лекциях. Издание второе. Ижевск-Уфа, 2007.

17. Торнвальд Ю. Век криминалистики. Москва: Прогресс. 1991:203.

18. Боринская С. А., Балановский О. П., Курбатова О. Л., Янковский Н. К. По следам ДНК: как генетика народонаселения помогает криминалистике. *Природа*. 2020;11(1263):3-14. doi: 10.7868/S0032874X20110010
19. Барковская Е. Г. Исторические предпосылки и практические потребности интеграции биометрического и криминалистического знания. *Философия права*. 2010;6:28-31.
20. Самищенко С. С. Современная дактилоскопия: проблемы и тенденции развития. Москва: Типография Академии управления МВД России. 2002:130.
21. Яровенко В. В., Чистикин А. Н. Дерматоглифика в криминалистике и судебной. Тюмень: Высшая школа МВД РФ. 1995:151.
22. Самищенко С. С., Толстухина Т. В. Папиллярные узоры как маркер адаптационного фенотипа человека. *Известия Тульского государственного университета. Экономические и юридические науки*. 2015;1-2:19-24.
23. Мазур Е.С. Возможности методов дерматоглифики в криминалистическом исследовании внешних признаков человека. *Вестник Томского государственного университета*. 2015;(390):141-145.
24. Бугаев К. В. Тенденции судебной экспертизы в России. *Вестник Сибирского института бизнеса и информационных технологий*. 2013;4(8):29-32.
25. Божченко А. П., Назаров Ю. В. Дерматоглифика в экспертной практике медико-криминалистического отделения. *Труды VIII Всероссийского съезда судебных медиков с международным участием*, Москва, 21–23 ноября 2018 г. М.: ООО «Принт». 2019;1:16-19.
26. Соколова О. А. Основные направления решения диагностических задач в дактилоскопии. *Теория и практика судебной экспертизы*. 2013; 4(32): 17-23.
27. Сидоркина И. Г., Канаев Р. В., Меркушев О. Ю. Классификация методов аутентификации человека. *Вестник Волжского университета им. В.Н. Татищева*. 2009;(12):52-61.
28. Хайруллова Э. Т., Шадрин Е. С. Современное состояние дактилоскопической регистрации. *Ученые записки Казанского юридического института МВД России*. 2019;4(2(8)):92-96.
29. Бородулин В. Б., Родионова М. П. Применение молекулярно-генетических методов в раскрытии преступлений. *Информационная безопасность регионов*. 2010;2:115-120.
30. Рыжкова А. К. Новые возможности ДНК в криминалистике: зарубежный опыт. *Глаголь правосудия*. 2019;4(22):41-44.
31. Перепечина И. О. Некоторые новые возможности ДНК (РНК)-диагностики. *Вестник экономической безопасности*. 2019;2:214-219. doi: 10.24411/2414-3995-2019-10089
32. Бавыкин А.С. Типирование тканей методами ПЦР и капиллярного электрофореза: реальность, вопросы и перспективы. *Судебная медицина*. 2017;3(1):48-58. doi: 10.19048/2411-8729-2017-3-1-48-58
33. Мамурков В. А. Современные методы криминалистической идентификации биологических следов в расследовании преступлений. *Российское право: образование, практика, наука*. 2018;6(108):45-49.
34. Кирвель В. К. Судебно-генетическая экспертиза: проблема «искусственной» ДНК и химеризма». *Криминалистика и судебная экспертиза: наука, обучение, практика. Материалы XV Международного конгресса*, Каунас, 19-21 сентября 2019 г. Каунас. 2019;II:278-294.
35. Андреева О. И., Мацепуро Д. М., Ольховик Н. В., Трубникова Т. В. Уголовная юстиция в постгеномную эпоху: новые вызовы и поиск баланса. *Вестник Томского государственного университета. Право*. 2020;(35):14-28. doi: 10.17223/22253513/35/2
36. Алешкина Т. Н. К истории создания и использования геномной информации при раскрытии и расследовании преступлений. *Актуальные проблемы гуманитарных и естественных наук*. 2014;(5-2):51-55.
37. Семиходский А. Г. Криминалистические базы данных геномной информации: международный опыт и возможность его применения в Российской Федерации. *Правосудие*. 2021;3(1):148-183. doi: 10.37399/2686-9241.2021.1.148-183
38. Розанов В. А. Стресс-индуцированные эпигенетические феномены – ещё один вероятный биологический фактор суицида. *Суицидология*, 2015;6(3(20)):3-19.
39. Sabeeha, Hasnain S.E. Forensic epigenetic analysis: the path ahead. *Medical Principles and Practice*. 2019;28(4):301-308. doi: 10.1159/000499496
40. Gayon J. From Mendel to epigenetics: History of genetics. *Comptes Rendus Biologies*. 2016;339(7-8):225-30. doi: 10.1016/j.crv.2016.05.009
41. Forat S., Huettel B., Reinhardt R., Fimmers R., Haidl G., Denschlag D., Olek, K. Methylation markers for the identification of body fluids and tissues from forensic trace evidence. *PLoS One*. 2016;11(2):e0147973. doi: 10.1371/journal.pone.0147973
42. Vidaki A., Kayser M. From forensic epigenetics to forensic epigenomics: broadening

DNA investigative intelligence. *Genome Biology*. 2017;18(1):238 doi: 10.1186/s13059-017-1373-1

43. Гарига-Грихно М. М. Реализация методики реконструкции лица по черепу в криминалистической науке: мировой опыт и отечественные реалии. *Криміналістичний вісник*. 2016;1(25):190-196.

44. Герасимов М. М. Основы восстановления лица по черепу. М.: Советская наука. 1949:186.

45. Нечвалода А. И. Лицом к лицу. Каталог скульптурных и графических антропологических реконструкций. М.: Старый Сад. 2015:106.

46. Gietzen T., Brylka R., Achenbach J., Zum Hebel K., Schömer E., Botsch M., Schwanecke U., Schulze R. A method for automatic forensic facial reconstruction based on dense statistics of soft tissue thickness. *PLoS one*. 2019;14(1):e0210257. doi: 10.1371/journal.pone.0210257

47. Краева Я. В., Рожкова В. Р. ДНК-фенотипирование: проблемы и перспективы. *Вопросы российской юстиции*. 2021;11:440-444.

48. Клещенко Е. В. ДНК и её человек: Краткая история ДНК-идентификации. М.: Альпина нонфикшн. 2019:314.

49. Моисеева Т. Ф. Возможности и перспективы использования ольфакторного метода в криминалистике и судебной экспертизе. *Теория и практика судебной экспертизы*. 2015;1(37):138-142.

50. Федоров Г. Н. Одорология: Запаховые следы в криминалистике. Мн.: Амалфея, 2000;144.

51. Моисеева Т. Ф. Новые методы и средства в формировании новых видов судебно-экспертных исследований. *Вестник Университета имени О.Е. Кутафина*. 2014;(3):69-75.

52. Сергиевский Д. А. Использование запаховых следов человека при раскрытии и расследовании преступлений в России и за рубежом в исторической ретроспективе. *Манускрипт*. 2016;6-1 (68):175-179.

53. Ридигер А. В. Допустимость ольфакторного исследования как судебной экспертизы. *Вопросы российской юстиции*. 2019;1:759-763.

54. Томили В. В., Семчуков Ю. Б., Соседко Ю. И. О возможности использования электрокардиограммы (ЭКГ) при судебно-медицинской идентификации личности. *Судебно-медицинская экспертиза*. 1987;3:15-18.

55. Чикун В. И., Горбунов Н. С. Абдоминальный метод судебно-медицинской идентификации личности. *Сибирский журнал клинической и экспериментальной медицины*. 2009;24(1):113-116.

56. Бишарян М. С., Ромодановский П. О., Баринев Е. Х. Исследование анатомо-топографических особенностей рисунка слизистой оболочки тыльной поверхности языка в ближайшем

и отдаленном постмортальном периоде. *Судебно-медицинская экспертиза*. 2012;2:10-13.

57. Казанджян Г. К., Ромодановский П. О., Бишарян М. С., Баринев Е. Х. Новые возможности использования данных ортопантограмм и гипсовых моделей зубов и твердого неба для идентификации личности. *Современные технологии в медицине*. 2012;(4):108-111.

58. Манин А. И., Ромодановский П. О., Баринев Е. Х. Современные возможности идентификации личности по стоматологическому статусу. *Проблемы экспертизы в медицине*. 2014;14(1(53)):45-46.

REFERENCES:

1. Pigolkin Yu. I., Romodanovsky P. O., Kildyushov E. M., Dubrovin I. A., Sundukov D. V. *Forensic medicine: textbook*. Ed. Yu.I. Pigolkin. 3rd ed., rev. and add. M.: GEOTAR-Media. 2012:496. (In Russ.).

2. *Forensic Medicine Guide*. Ed. V. V. Tomilin, G. A. Pashinyan. M.: Medicine. 2001:576.

3. Pashkova V. I., Tomilin V. V. *Laboratory and special research methods in forensic medicine (practical guide)*. M.: Medicine. 1975:456. (In Russ.).

4. Popov V. A., Samchuk V. V. Methods of three-dimensional and mathematical modeling in forensic medicine (the current issue). *Forensic Medicine*. 2017;3(3):36-39. (In Russ.). doi: 10.19048/2411-8729-2017-3-3-36-39

5. Kislov M. A. Modeling of stab injuries by the method of finite element analysis. *Forensic Medicine*. 2017;3(3):18-24. (In Russ.). doi: 10.19048/2411-8729-2017-3-3-18-24

6. Mazur E. S. Use of special knowledge in investigation of crimes. *Ugolovnaya yustitsiya – Russian Journal of Criminal Law*. 2016;1(7):121-126. (In Russ.). doi: 10.17223/23088451/7/19

7. Kildyushov E. M., Egorova E. V., Burenchev D. V. Modern capabilities of radiologic imaging in forensic medicine. *Forensic Medicine*. 2019;5(4):4-8. (In Russ.). doi: 10.19048/2411-8729-2019-5-4-4-8

8. Kokov L. S., Kinle A. F., Sinitsyn V. Y., Filimonov B. A. Possibilities of computed tomography and magnetic resonance imaging in forensic medical examination of mechanical trauma and sudden death (a literature review). *Journal named after N.V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine*. 2015;(2):16-26. (In Russ.).

9. Klevno V. A., Chumakova Yu. V. Virtopsy – new method of research in practice of national forensic medicine. *Russian Journal of Forensic Medicine*. 2019;5(2):27-31. (In Russ.). doi: 10.19048/2411-8729-2019-5-2-27-31

10. Klevno V. A., Chumakova Yu. V., Pavlik D. P., Dubrova S. E. Potential of the virtual autopsy in case of firearm injury. *Russian Journal of Forensic Medicine*. 2019;5(3):33-38. (In Russ.). doi: 10.19048/2411-8729-2019-5-3-33-38
11. Eremchenko V. I. Prospects for the use of modern instrumental methods of research in the production of forensic examination of the corpse. *Bulletin of the Krasnodar University of the Ministry of Internal Affairs of Russia*. 2019;3(45):65-69. (In Russ.).
12. Erofeev S. V., Shishkin Y. Y., Fedorova A. S. About the technology of image analysis as a means of increasing the objectivity and reliability of forensic examinations. *Forensic Medicine*. 2017;3(2):17-23. (In Russ.). doi: 10.19048/2411-8729-2017-3-1-21-25
13. Strelkov A. A., Dadabaev V. K. Procedural problems of forensic medical examination of the corpse and ways of their solution using x-ray method of computer tomography. *Humanities and legal research*. 2014;(3):122-126. (In Russ.).
14. Klipco E. P. method for determining the cause of death when any written statement is obtaining to refuse from possible explosion. *Bulletin of the East Siberian Institute of the Ministry of Internal Affairs of Russia*. 2018;4(87):190-196. (In Russ.).
15. Romanko N. A., Zinin A. M., Khaziev S. N. Forensic identification of the person on the basis of appearance and features of the structure body. *Forensic Medicine*. 2017;3(1):21-25. (In Russ.). doi: 10.19048/2411-8729-2017-3-1-21-25
16. Viter V. I. *Forensic medicine in lectures*. Second edition. Izhevsk-Ufa, 2007:343. (In Russ.).
17. Thornwald J. *The age of forensic science*. Moscow: Progress. 1991:203. (In Russ.).
18. Borinskaya S. A., Balanovsky O. P., Kurbatova O. L., Yankovsky N. K. In the DNA trail: how population genetics helps forensic science. *Nature*. 2020;11(1263):3-14. (In Russ.). doi:10.7868 / S0032874X20110010
19. Barkovskaya E. G. Historical premises and practical requirements of integration of biometric and criminalistics knowledge. *Philosophy of Law*. 2010;6:28-31. (In Russ.).
20. Samishchenko S. S. *Modern fingerprinting: problems and development trends*. Moscow: Printing house of the Academy of Management of the Ministry of Internal Affairs of Russia. 2002:130. (In Russ.).
21. Yarovenko V. V., Chistikin A. N. *Dermatoglyphics in forensics and forensics*. Tyumen: Higher School of the Ministry of Internal Affairs of the Russian Federation. 1995:151. (In Russ.).
22. Samischenko S. S., Tolstukhina T. V. Fingerprint as a marker adaptation of human phenotype. *Bulletin of the Tula State University. Economic and legal sciences*. 2015;1-2:19-24. (In Russ.).
23. Mazur E. S. Potential of new dermatoglyphic methods for the examination of external characteristics of a person in criminalistics. *Tomsk State University Journal*. 2015;(390):141-145. (In Russ.). doi: 10.17223/15617793/390/24
24. Bugaev K. V. Trends of the court examination in Russia. *Bulletin of the Siberian Institute of Business and Information Technologies*. 2013;4(8):29-32. (In Russ.).
25. Bozhchenko A. P., Nazarov Yu. V. Dermatoglyphic in expert practice of the medical and criminalistic department. *Proceedings of the VIII All-Russian Congress of Forensic Physicians with International Participation, Moscow, November 21–23, 2018 M.: OOO Print*. 2019;1:16-19. (In Russ.).
26. Sokolova O. A. The principal areas for diagnostic problems in fingerprinting. *Theory and Practice of Forensic Expertise*. 2013;4(32):17-23. (In Russ.).
27. Sidorkina I. G., Kanaev R. V., Merkushev O. Yu. Classification of human authentication methods. *Bulletin of the Volga University. V.N. Tatishchev*. 2009;(12):52-61. (In Russ.).
28. Hairullova E. T., Shadrina E. S. Dactyloscopy: issues and scientific development. *Scientific Notes of the Kazan Law Institute of MIA of Russia*. 2019;4(2(8)):92-96. (In Russ.).
29. Borodulin V. B., Rodionova M. P. The application of the molecular-genetic methods to the investigations of crimes. *Information Security of Regions*. 2010;2:115-120. (In Russ.).
30. Ryzhkova A. K. New capabilities DNA in forensic science: international experience. *Verb of justice*. 2019;4(22):41-44. (In Russ.).
31. Perepechina I. O. Some new possibilities of DNA (RNA)-diagnostics. *Economic security bulletin*. 2019;2:214-219. (In Russ.). doi: 10.24411 / 2414-3995-2019-10089
32. Bavykin A. S. Tissue typing by means of PCR and capillary electrophoresis: new aspects, reality and issues. *Forensic Medicine*. 2017;3(1):48-58. (In Russ.). doi: 10.19048/2411-8729-2017-3-1-48-58
33. Mamurkov V. A. Modern methods of criminalistics identification of biological traces in investigation of crimes. *Russian law: education, practice, science*. 2018;6(108):45-49. (In Russ.).
34. Kirvel V. K. Forensic genetic analysis: the problem of artificial DNA and chimerism. *Forensic science and forensic expertise: science, teaching, practice*. Materials of the XV International Congress, Kaunas, September 19-21, 2019 Kaunas. 2019;II:278-294. (In Russ.).

35. Andreeva O. I., Matsepuro D. M., Olkhovik N. V., Trubnikova T. V. Criminal justice in the post-genomic era: new challenges and the search for balance. *Bulletin of Tomsk State University. Law.* 2020;(35):14-28. (In Russ.). doi: 10.17223/22253513/35/2
36. Aleshkina T. N. On the history of the creation and use of genomic information in the disclosure and investigation of crimes. *Actual problems of the humanities and natural sciences.* 2014;(5-2):51-55. (In Russ.).
37. Semikhodskii A. G. Forensic DNA databases: International experience and the possibility of its application in the Russian Federation. *Pravosudie/Justice.* 2021;3(1):148-183. (In Russ.). doi: 10.37399/2686-9241.2021.1.148-183
38. Rozanov V.A. Stress-induced epigenetic phenomena are another likely biological factor in suicide. *Suicidology* 2015;6(3(20)):3-19. (In Russ.).
39. Sabeeha, Hasnain S. E. Forensic epigenetic analysis: the path ahead. *Medical Principles and Practice.* 2019;28(4):301-308. doi: 10.1159/000499496
40. Gayon J. From Mendel to epigenetics: History of genetics. *Comptes Rendus Biologies.* 2016;339(7-8):225-30. doi: 10.1016/j.crv.2016.05.009
41. Forat S., Huettel B., Reinhardt R., Fimmers R., Haidl G., Denschlag D., Olek, K. Methylation markers for the identification of body fluids and tissues from forensic trace evidence. *PLoS One.* 2016;11(2):e0147973. doi: 10.1371/journal.pone.0147973
42. Vidaki A., Kayser M. From forensic epigenetics to forensic epigenomics: broadening DNA investigative intelligence. *Genome Biology.* 2017;18(1):238 doi: 10.1186/s13059-017-1373-1
43. Gariga-Grihno M. M. Implementation of the facial reconstruction technique based on the skull in forensic science: world experience and domestic realities. *Criminalistic visnik.* 2016;1(25):190-196. (In Russ.).
44. Gerasimov M. M. The basics of facial reconstruction from the skull. M.: Soviet science. 1949; 186. (In Russ.).
45. Nechvaloda A. I. Face to face. *Catalog of sculptural and graphic anthropological reconstructions.* M.: Old Garden. 2015:106. (In Russ.).
46. Gietzen T., Brylka R., Achenbach J., Zum Hebel K., Schömer E., Botsch M., Schwanecke U., Schulze R. A method for automatic forensic facial reconstruction based on dense statistics of soft tissue thickness. *PloS one.* 2019;14(1):e0210257. doi: 10.1371/journal.pone.0210257
47. Kraeva Ya. V., Rozhkova V. R. DNA phenotyping: problems and prospects. *Russian justice issues.* 2021;11:440-444. (In Russ.).
48. Kleshchenko E. V. DNA and its person: a brief history of DNA identification. M.: Alpina Nonfiction. 2019: 314. (In Russ.).
49. Moiseeva T. F. Opportunities and prospects of use of olfactory method in criminalistics and forensics. *Theory and practice of forensic examination.* 2015;1(37):138-142. (In Russ.).
50. Fedorov G. N. Odorology: Odor traces in forensic science. Minsk: Amalfeya, 2000;144. (In Russ.).
51. Moiseeva T. F. New methods and means in the formation of new types of forensic research. *Bulletin of the University named after O.E. Kutafin.* 2014;(3):69-75. (In Russ.).
52. Sergievskii D.A. Using man's smell traces while revealing and investigating crimes in Russia and abroad in historical retrospection. *Manuscript.* 2016;6-1(68):175-179. (In Russ.).
53. Ridiger A. V. Admissibility olfactory research as a judicial expertise. *Russian justice issues.* 2019;1:759-763. (In Russ.).
54. Tomilin V. V., Semchukov Yu. B., Sosedko Yu. I. and others. About the possibility of using an electrocardiogram (ECG) for forensic medical identification of a person. *Forensic Medical Expertise.* 1987;3:15-18. (In Russ.).
55. Chikun V. I., Gorbounov N. S. Abdominal method of forensic identification of a person. *Siberian Journal of Clinical and Experimental Medicine.* 2009;24(1):113-116. (In Russ.).
56. Bisharyan M. S., Romodanovsky P. O., Barinov E. Kh. Investigations into anatomical and topographical peculiarities of the mucosal pattern on the dorsal surface of the tongue in the immediate and late postmortem periods. *Forensic Medical Expertise.* 2012;55(2):10-13. (In Russ.).
57. Kazandjian G. K., Romodanovsky P. O., Bisharyan M. S., Barinov E. K. New possibilities of using orthopantomograms and dental and hard palate casts for personal identification. *Modern technologies in medicine.* 2012;(4):108-111. (In Russ.).
58. Manin A. I., Romodanovsky P. O., Barinov E. H. Modern possibilities of identification of the person under the stomatologic status. *Problems of expertise in medicine.* 2014;14(1(53)):45-46. (In Russ.).