

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

КРЫМСКИЙ ЖУРНАЛ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ И КЛИНИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ

CRIMEAN JOURNAL OF EXPERIMENTAL AND CLINICAL MEDICINE

2023, том 13, № 1

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

Ю. В. Бобрик (Симферополь, Россия), *Л. ДуБаске* (Вашингтон, США),
В. П. Завьялов (Турку, Финляндия), *А. В. Матвеев* (Москва, Россия),
О. Матсуо (Осакасама, Япония), *В. Ю. Михайличенко* (Симферополь, Россия),
В. В. Оберемок (Симферополь, Россия), *С. Н. Орлов* (Монреаль, Канада),
В. Б. Павленко (Симферополь, Россия), *А. В. Петров* (Симферополь, Россия),
А. Петросян (Оаха, США), *М. Покорский* (Ополе, Польша), *А. Г. Резников* (Киев, Украина),
И. Д. Сапегин (Симферополь, Россия), *Т. П. Сатаева* (Симферополь, Россия),
Г. М. Тарман (Инсбрук, Австрия), *А. В. Ушаков* (Симферополь, Россия),
С. Э. Шибанов (Симферополь, Россия)

На первой странице обложки репродукция картины Роберта Тома «Законы Хаммурапи».
(На картине представлен сюжет событий примерно 2000 г. д. н. э. с изображением врача,
который со всей серьезностью защищает свою профессиональную деятельность от жалоб
недовольного пациента).

АДРЕС РЕДАКЦИИ:
295051, бульвар Ленина, 5/7, г. Симферополь, ФГАОУ ВО «КФУ имени В. И. Вернадского»
Институт «Медицинская академия имени С. И. Георгиевского»
E-mail: 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), 2224-6452 (online)

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

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

- 1.5.4. Биохимия (медицинские науки),
- 1.5.5. Физиология человека и животных (медицинские науки),
- 1.5.22. Клеточная биология (медицинские науки);
- 3.1.33. Восстановительная медицина, спортивная медицина, лечебная физкультура, курортология и физиотерапия (медицинские науки);
- 3.3.1. Анатомия человека (медицинские науки);
- 3.3.2. Патологическая анатомия (медицинские науки);
- 3.3.3. Патологическая физиология (медицинские науки);
- 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология (медицинские науки);
- 3.3.8. Клиническая лабораторная диагностика (медицинские науки).

Подписной индекс издания в каталоге Агентства «Роспечать» — 80124

Рекомендован к печати Ученым советом
Института «Медицинская академия имени С. И. Георгиевского»
(протокол № 2 от 24 января 2023 г.)

УЧРЕДИТЕЛЬ

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

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

© Институт «Медицинская академия имени С. И. Георгиевского» ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», 2023

СОДЕРЖАНИЕ

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

ORIGINAL ARTICLES

Голубинская Е. П., Дудченко Л. Ш., Гришин М. М., Кальфа М. А., Гришин М. Н.	
КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЭМПИЕМЫ ПЛЕВРАЛЬНОЙ ПОЛОСТИ, ОСЛОЖНИВШЕЙ ПНЕВМОНИЮ, ВЫЗВАННУЮ НОВОЙ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ	5
Golubinskaya E. P., Dudchenko L. Sh., Grishin M. M., Kalfa M. A., Grishin M. N.	
CLINICAL AND MORPHOLOGICAL FEATURES OF PLEURAL EMPYEMA, WHICH COMPLICATED PNEUMONIA CAUSED BY A NEW CORONAVIRUS INFECTION	5
Грицкевич О. Ю., Кадочников Д. С.	
РЕТРОСПЕКТИВНЫЙ АНАЛИЗ И ОЦЕНКА СУДЕБНО-МЕДИЦИНСКИХ ЭКСПЕРТИЗ ЖИВЫХ ЛИЦ, ПЕРЕНЕСШИХ ОСТРЫЕ КИШЕЧНЫЕ ИНФЕКЦИИ.....	13
Gritskevich O. Yu., Kadochnikov D. S.	
RETROSPECTIVE ANALYSIS AND ASSESSMENT OF FORENSIC EXAMINATIONS OF LIVING PERSONS SURVIVED ACUTE INTESTINAL INFECTIONS.....	13
Демяшкин Г. А., Горохов К. Р., Зорин И. А.	
МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ЧЕРВЕОБРАЗНОГО ОТРОСТКА ПРИ ОСТРОМ АППЕНДИЦИТЕ У ДЕТЕЙ С COVID-19.....	18
Demyashkin G. A., Gorokhov K. R., Zorin I. A.	
MORPHOLOGICAL FEATURES OF THE APPENDIX IN ACUTE APPENDICITIS IN CHILDREN WITH COVID-19	18
Марусич И. И., Власенко С. В.	
ЭФФЕКТИВНОСТЬ ОБУЧЕНИЯ ХОДЬБЕ С ПОМОЩЬЮ РОБОТИЗИРОВАННОЙ СИСТЕМЫ У ДЕТЕЙ С ЦЕРЕБРАЛЬНЫМ ПАРАЛИЧОМ.....	23
Marusich I. I., Vlasenko S. V.	
THE EFFICIENCY OF TRAINING TO WALK WITH THE HELP OF A ROBOTIC SYSTEM IN CHILDREN WITH CEREBRAL PALSY	23
Никитина О. В.	
ОСОБЕННОСТИ СТРОЕНИЯ ЖЕЛУДКА ПОЛОВОЗРЕЛЫХ КРЫС ПРИ РЕГУЛЯРНОМ ВВЕДЕНИИ ЭНЕРГЕТИЧЕСКИХ НАПИТКОВ НА ФОНЕ ФИЗИЧЕСКОЙ НАГРУЗКИ И БЕЗ НЕЁ	28
Nikitina O. V.	
PECULIARITIES OF MATURE RATS' GASTRIC STRUCTURE AFTER REGULAR INTRODUCING ENERGY DRINKS WITH AND WITHOUT PHYSICAL ACTIVITY	28
Отинов М. Д.	
ОЦЕНКА ДИНАМИКИ КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ У БОЛЬНЫХ ДЕТСКИМ ЦЕРЕБРАЛЬНЫМ ПАРАЛИЧОМ ПОД ВЛИЯНИЕМ ДЕЛЬФИНОТЕРАПИИ	34
Otinov M. D.	
EVALUATION OF THE DYNAMICS OF CLINICAL AND LABORATORY PARAMETERS IN PATIENTS WITH INFANTRY CEREBRAL PALSY UNDER THE INFLUENCE OF DOLPHIN THERAPY.....	34

Резниченко Н. А., Геворкян Р. Р. ПОКАЗАТЕЛИ МИОСТАТИНА ПРИ СТРЕССОВОМ НЕДЕРЖАНИИ МОЧИ У ЖЕНЩИН В ПОСТМЕНОПАУЗЕ	40
Reznichenko N. A., Gevorkyan R. R. MYOSTATIN LEVELS IN POST-MENOPAUSAL WOMEN WITH STRESS URINARY INCONTINENCE.....	40
Саакян С. В., Шаповалова Е. Ю., Каракаева Э. Б-Г., Зорин И. А. ПРОЛИФЕРАТИВНО-АПОПТОТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ЭПИТЕЛИОЦИТОВ ТОЛСТОЙ КИШКИ ПОСЛЕ ОБЛУЧЕНИЯ ЭЛЕКТРОНАМИ В ДОЗЕ 2 ГР	46
Saakian S. V., Shapovalova E. Y., Karakaeva E. B-G., Zorin I. A. PROLIFERATIVE-APOPTOTIC FEATURES OF COLONIC EPITHELIOCYTES AFTER IRRADIATED WITH ELECTRONS AT A DOSE OF 2 GY.....	46
Терещенко М. В., Бутолин Е. Г. СДВИГИ В ОБМЕНЕ УГЛЕВОДСОДЕРЖАЩИХ БИОПОЛИМЕРОВ В КОЖЕ, ПЕЧЕНИ И КРОВИ КРЫС ПРИ ФРУКТОЗОБОГАЩЕННОЙ ДИЕТЕ	50
Tereshchenko M. V., Butolin E. G. CHANGES IN THE METABOLISM OF CARBOHYDRATE-CONTAINING BIOPOLYMERS IN RATS' SKIN, LIVER AND BLOOD IN FRUCTOSE-ENRICHED DIET	50

ОБЗОРЫ**REVIEWS**

Федуличев П. Н. СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О ГЕНЕТИКЕ ОСТЕОАРТРИТА	58
Fedulichev P. N. MODERN CONCEPTS ABOUT THE GENETICS OF OSTEOARTHRITIS.....	58

КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЭМПИЕМЫ ПЛЕВРАЛЬНОЙ ПОЛОСТИ, ОСЛОЖНИВШЕЙ ПНЕВМОНИЮ, ВЫЗВАННУЮ НОВОЙ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ

Голубинская Е. П.¹, Дудченко Л. Ш.², Гришин М. М.³, Кальфа М. А.¹, Гришин М. Н.¹

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

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

³Обособленное структурное подразделение «Белогорская туберкулезная больница», Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Республики Крым «Крымский республиканский клинический центр фтизиатрии и пульмонологии», 297643, ул. Ласточкино гнездо, 2, с. Криничное, Белогорский район, Республика Крым, Россия

Для корреспонденции: Кальфа Маргарита Алексеевна, к.мед.н., Институт «Медицинская академия имени С. И. Георгиевского» ФГАОУ ВО «КФУ им. В. И. Вернадского», e-mail: rita.kalfa@mail.ru

For correspondence: Kalfa Margarita A., PhD, Institute «Medical Academy named after S. I. Georgievsky» of Vernadsky CFU, e-mail: rita.kalfa@mail.ru

Information about authors:

Golubinskaya E. P., <https://orcid.org/0000-0003-3917-924X>

Dudchenko L. Sh., <https://orcid.org/0000-0002-1506-4758>

Grishin M. M., <https://orcid.org/0000-0003-1195-1891>

Kalfa M. A., <https://orcid.org/0000-0002-7179-3402>

Grishin M. N., <https://orcid.org/0000-0002-0257-1857>

РЕЗЮМЕ

На основании проведенных исследований было установлено, что предвестники неспецифической эмпиемы плевральной полости, осложнившей течение пневмонии, вызванной новой коронавирусной инфекцией, характеризуются симптомами острого легочного воспалительного процесса, характерными воспалительными изменениями показателей крови и симптомами присоединения бактериальной пневмонии, диагностируемой на КТ ОГК (симптом «воздушной бронхографии»). Данная клинико-рентгенологическая картина косвенным образом позволяет прогнозировать развитие этого осложнения. Морфологическое и иммуногистохимическое исследование фрагментов плевры, полученные путем пункционной и операционной биопсии, выявило наличие в воспалительном инфильтрате превалирование цитотоксических Т-лимфоцитов, интенсификацию популяции В-лимфоцитов при одновременно крайне низких количественных показателях CD138-позитивных плазмочитов. Дисрегуляция системы местного иммунитета, по-видимому, связана с SARS-COV₂, который интегрируется в клеточный аппарат респираторной системы и запускает каскад иммунных реакций по Th2 пути, направленному на противовоспалительный ответ и ремоделирование стромы. Такая морфологическая картина свидетельствует о местном тканевом иммунодефиците. Данное состояние приводит к нарастанию гемодинамических нарушений, прогрессированию альтеративных процессов, способствующих присоединению вторичной бактериальной инфекции, которая является одним из пусковых моментов развития эмпиемы плевры.

Ключевые слова: SARS-COV₂, эмпиема, морфология, иммуногистохимическое исследование

CLINICAL AND MORPHOLOGICAL FEATURES OF PLEURAL EMPYEMA, WHICH COMPLICATED PNEUMONIA CAUSED BY A NEW CORONAVIRUS INFECTION

Golubinskaya E. P.¹, Dudchenko L. Sh.², Grishin M. M.³, Kalfa M. A.¹, Grishin M. N.¹

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

²Academic Research Institute of Physical Methods of Treatment, Medical Climatology and Rehabilitation named after I. M. Sechenov, Yalta, Russia

³Belogorsk Tuberculosis Hospital», Crimean Republican Clinical Center for Phthisiology and Pulmonology, Republic of Crimea, Belogorsk, Russia

SUMMARY

Based on the studies, it was found that the precursors of nonspecific pleural empyema, which complicated pneumonia caused by a new coronavirus infection, are characterized by symptoms of an acute pulmonary inflammatory process, characterized inflammatory changes in blood, and symptoms of bacterial pneumonia, diagnosed on chest CT scan (symptom of "air bronchography"). This clinical and radiological picture indirectly allows us to predict the development of this complication. Morphological and immunohistochemical study of pleura fragments obtained by puncture and surgical biopsy revealed the presence of cytotoxic T-lymphocytes in the inflammatory infiltrate, intensification of

the B-lymphocyte population, while at the same time extremely low quantitative indicators of CD138-positive plasma cells. The dysregulation of the local immune system seems to be related to SARS-COV₂, which integrates into the cellular apparatus of the respiratory system and triggers a cascade of immune responses along the Th2 pathway aimed at an anti-inflammatory response and stromal remodeling. Such morphological picture indicates local tissue immunodeficiency. This condition leads to an increase in hemodynamic disturbances, the progression of alternative processes that contribute to the attachment of a secondary bacterial infection, which is one of the starting points for the development of pleural empyema.

Key words: SARS-COV₂, empyema, morphology, immunohistochemical study

Одним из осложнений коронавирусной пневмонии, вызванной новой коронавирусной инфекцией (НКИ), является острая неспецифическая эмпиема плевральной полости с бронхоплевральной фистулой. Частота ее, по данным ряда авторов, не превышает 0,9 - 2,0% [1–4]. Однако, эта патология приводит к резкому утяжелению течения заболевания с высокой вероятностью летального исхода [4; 5].

Пусковым моментом развития эмпиемы плевральной полости у больных коронавирусной пневмонией является пневмоторакс и пиопневмоторакс [6; 7].

Обстоятельства возникновения этих патологических состояний могут быть различными. Одним из них является кавитация легких (кистозные изменения). Этот процесс наблюдается при абсорбции газов в ткани легкого [8]. Патопатология кавитации легких у пациентов с COVID-19 до конца не изучена, однако существуют теории развития этого процесса [9]. Согласно одной из них пневмоторакс возникает в результате кистозных поражений легких, которые ранее образовались у больных [10]. Другая теория основывается на воспалительном изменении ткани легкого, осуществляющего повышенную экссудацию в альвеолы и мелкие дыхательные пути. Это приводит к блокированию обратного сброса воздуха в бронхоальвеолярное дерево и формированию кистозных изменений, приводящих к пневмотораксу [11]. Ряд авторов считает, что эмпиема плевры у пациента с коронавирусной пневмонией развивается из-за тромбоза интерстициальных кровеносных сосудов с последующим некрозом паренхимы и потерей эластичности ткани легкого. Данное состояние является причиной возникновения кровоизлияний, фиброза и формирования свищей между терминальными бронхиолами и висцеральной плеврой [12]. Большую роль в этом процессе играет инвазия легочной паренхимы SARS-CoV-2, которая вызывает интенсивное воспаление, приводящее к диффузному повреждению эндотелия воспалительными клетками [13]. Это обуславливает увеличение содержания интерстициальной жидкости из-за негерметичности микроциркуляторного русла. Последняя из-за

градиента интерстициально-плеврального давления проходит через висцеральную плевру и достигает плевральных полостей [14]. Имеются данные касательно прямого цитотоксического действия на альвеолярную мембрану вследствие поражения альвеолоцитов I и II типа, что может быть одним из механизмов разрыва альвеол и возникновения пневмоторакса и эмпиемы [2]. Также пневмоторакс является характерным осложнением баротравмы при проведении искусственной вентиляции легких, которая наиболее часто развивается у пациентов с сопутствующими заболеваниями легких [15–18]. Особенностью образования пневмоторакса с развитием эмпиемы является и то, что он может наблюдаться у больных без указанных факторов риска и возникает в значительные сроки после серологической элиминации вируса, нередко уже на амбулаторном этапе восстановительного лечения [19].

Такое многообразие предрасполагающих факторов развития острой эмпиемы плевральной полости у больных коронавирусной пневмонией сложно объяснить только выше перечисленными теориями. На наш взгляд, определенное значение имеет и непосредственное влияние SARS-CoV-2 на плевру. В этой связи вопрос о причинах развития этой тяжелой патологии остается открытым и требует дальнейшего изучения.

Цель исследования – выявить клинико-рентгенологические особенности развития эмпиемы плевральной полости у больных пневмонией, вызванной НКИ, изучить морфологические особенности стенки полости эмпиемы.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Под наблюдением находилось 19 больных коронавирусной пневмонией, осложненной острой эмпиемой плевральной полости с бронхоплевральной фистулой. Пациенты проходили лечение в Легочно-хирургическом отделении (ЛХО) №1 Государственного бюджетного учреждения Республики Крым «Крымский республиканский клинический центр фтизиатрии и пульмонологии» в 2021 году.

Всем больным, поступившим в ЛХО, были проведены пункции с биопсией плевры. Полу-

ченный материал был гистологически исследован с использованием окраски гематоксилином и эозином [20]. Для оценки количественных характеристик клеточных популяций воспалительного инфильтрата проводилось иммуногистохимическое исследование (ИГХИ) по стандартизированной методике на гистостейнере BondMax (Leica), определяемой рекомендованными протоколами для маркеров: Т-тимфоцитов хелперов - CD4 (clone 4B12, Leica), Т-цитотоксических лимфоцитов и NK-клеток - CD8 (clone 4B11, Leica), В-лимфоцитов - CD20 (clone L26, Leica) и плазмочитов - CD138 (clone MI15, Leica) [21]. Интенсивность ИГХ реакции оценивали путем подсчета абсолютного количества клеток с позитивной мембранной реакцией в 10 полях зрения при увеличении 40х. Изображения срезов ткани были получены с использованием цифровой камеры OLYMPUS C5050Z («Olympus», Japan) (размер изображения 1280×960 пикселей) под 40-кратным увеличением объектива светового микроскопа OLYMPUS CX41 («Olympus», Japan). Для количественного анализа использовали изображения в формате TIFF. Морфометрический анализ производили с использованием программного обеспечения ImageJ. Статистическая обработка данных осуществлялась с использованием программного пакета Statistica for Microsoft Windows, version 10.0., StatSoftInc., США.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Из наблюдаемых больных 16 (84,2%) составляли мужчины и 3 (15,8%) женщины. 10 больных (52,6%) находились в возрасте от 30 до 60 лет, 9 больных (47,4%) были старше 60 лет. То есть, в возрастном периоде от 30 до 39 лет наблюдались 5 (26,3%) больных. Эти данные показывают, что эмпиема, осложнившая коронавирусную пневмонию, нередко встречается и в относительно молодом возрасте.

Подавляющее большинство пациентов (n=17) страдали сопутствующими заболеваниями, характеризующимися хроническим течением, у 5 (29,4%) из них диагностировалось сочетание этих болезней.

Клиническое состояние больных условно охарактеризовано нами интоксикационным и легочным синдромами.

Интоксикационный синдром (общая слабость, адинамия, быстрая утомляемость, потливость, повышенная температура тела) при поступлении в специализированное терапевтическое отделение отмечался у всех пациентов (100,0%). Повышенная температура диагностировалась у 18 (94,7%). Из них у 3 (15,8%) отмечался гектический ее характер, у 15 (78,9%) – субфебрильный.

Легочный синдром (кашель, одышка, боль в грудной клетке, притупление легочного звука при перкуссии, ослабленное дыхание при аускультации) диагностировался также у всех наблюдаемых (100,0%). Сухой кашель наблюдался у 10 (52,6%), влажный – у 7 (36,8%). У 2 (10,5%) пациентов кашель отсутствовал. Одышка в покое диагностировалась у 3 (15,8%), при нагрузке – у 11 (57,9%). Частичная аносмия отмечалась у 4 (21,1%) пациентов. Боли в мышцах диагностировались у 7 (36,8%). Головная боль – у 12 (63,2%), тошнота – у 4 (21,1%).

Показатели крови характеризовались определенными изменениями. Снижение Hb диагностировалось у 3 (15,8%) больных. Лейкоцитоз отмечен у всех пациентов (100,0%), у 7 (36,8%) из них он достигал более 11х10⁹. Повышенная СОЭ отмечалась у всех наблюдаемых (100,0%). Билирубин и трансаминазы были увеличены у 2 (10,5%) больных. Уровень глюкозы – у 7 (36,8%), СРБ – у 16 (84,2%).

По данным компьютерной томографии органов грудной клетки (КТ ОГК) у всех наблюдаемых больных были диагностированы изменения в легких, которые характеризовались объемным уплотнением легочной паренхимы по типу «матового стекла». У 17 (89,5%) пациентов распространенность поражения легких по типу «матового стекла» составляла от 25,1 до 75,0%. Однако у двух пациентов объем изменений составлял менее 20,0%. У 14 (73,7%) пациентов на стороне развития эмпиемы в этот период были выявлены участки консолидации, на фоне которой определялись просветы субсегментарных бронхов (симптом «воздушной бронхографии»). Данные изменения паренхимы легкого характерны для присоединившейся бактериальной пневмонии.

ОБСУЖДЕНИЕ

Таким образом, по клиническим параметрам и показателям крови отмечались признаки острого воспалительного процесса с развитием легочного и интоксикационного синдромов, дополнительными жалобами и характерными изменениями показателей крови. Полученные данные соответствовали начальной стадии коронавирусной пневмонии. На основании рентгенологической картины легких по результатам КТ ОГК развитие эмпиемы плевральной полости не было связано с объемом поражения ткани легкого, однако уже в этом периоде заболевания отмечались симптомы присоединения бактериальной пневмонии, что косвенным образом позволяло прогнозировать развитие эмпиемы плевры.

При поступлении в ЛХО клинически интоксикационный синдром был выражен у меньшего

количества больных. Нормальная температура тела отмечалась у 8 (41,1%), субфебрильная – у 10 (52,6%), гектическая – у 1 (5,3%).

Легочный синдром также качественно изменился. Кашель диагностировался у всех пациентов (100,0%). Сухой определялся у 6 (31,6%), влажный – у 13 (68,4%). У 11 (57,9%) больных отмечалось выделение серозно-гнойной мокроты. Все наблюдаемые страдали одышкой. При нагрузке она проявлялась у 9 (47,4%), в покое – у 10 (52,6%). Дискомфорт и боль в грудной клетке отмечали 10 (52,6%) наблюдаемых. У одного больного развилась подкожная эмфизема.

При анализе показателей общего анализа крови у 7 (36,8%) диагностировалось снижение показателей гемоглобина. Умеренный лейкоцитоз выявлялся у 15 (78,9%), высокий – у 4 (21,1%).

По данным КТ ОГК отмечалось уменьшение распространенности в ткани легких изменений по типу «матового стекла» и умеренно выраженные поствоспалительные образования. У всех пациентов на границе утолщенных висцерального и париетального листков плевры на фоне воспалительной инфильтрации ткани легкого наблюдалось скопление жидкости с горизонтальным уровнем. Над слоем жидкости диагностировался газ. Данный симптом трактовался как гидропневмоторакс. При пункции плевральной полости у всех больных получен серозно-гнойный и гнойный экссудат. На основании клинико-рентгенологической картины пациентам наблюдаемой группы установлен диагноз эмпиема плевральной полости с бронхо-плевральной фистулой.

Таким образом, перед поступлением в ЛХО произошли определенные клинические измене-

ния, выражающиеся в уменьшении проявлений интоксикационного синдрома и преобладании симптомов легочного характера. В плевральной полости уменьшился объем уплотнения легочной паренхимы по типу «матового стекла». У всех наблюдаемых была диагностирована полость эмпиемы с бронхо-плевральной фистулой.

Морфологическое исследование микропрепаратов плевры показало наличие во всех случаях диффузной воспалительной реакции с признаками репаративных процессов в виде структурной перестройки плевры на фоне обширных участков разрастания грануляционной ткани и участков фиброзной трансформации (рис. 1).

При ИГХИ ткани плевры было установлено наличие сдвига клеточного иммунного ответа по Т-хелпер 2 пути со значимым преобладанием Т-цитотоксических лимфоцитов и НК-клеток (табл.1).

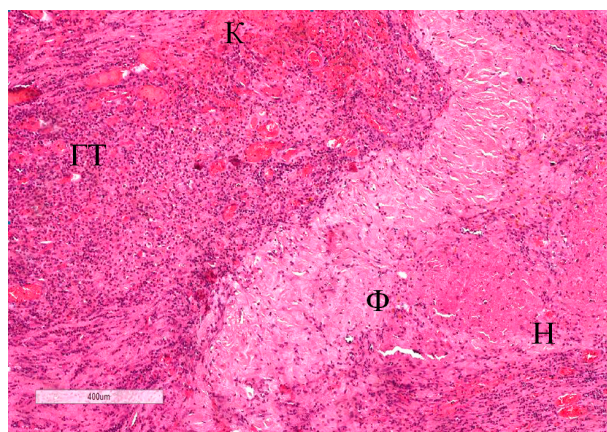


Рис. 1. Микропрепарат плевры. Н – некроз, ГТ – грануляционная ткань, К – кровоизлияние, Ф – фиброзная ткань. Гематоксилин-эозин. Ув. ×400.

Таблица 1

Количество иммунных клеток в ткани плевры у пациентов с эмпиемой

Клеточная популяция	Количество клеток (M±SD) (n=19)
В-лимфоциты (CD20+)	368,8 ±37,6
Т-лимфоциты хелперы (CD4+)	102,6 ±12,4
Т-лимфоциты цитотоксические (CD8+)	236,1±34,6
Плазматические клетки (CD138+)	47,4±5,1

Локализовались CD4+ и CD8+ клетки преимущественно, в участках грануляционной ткани, равномерно уменьшаясь в количественном отношении по мере нарастания фиброзного ремоделирования ткани плевры. Интенсивность экспрессии варьировала от слабой с частичным мембранным окрашиванием, до выраженной яркой мембранной реакции. Большинство CD4+ Т-лимфоцитов хелперов имело четкую умерен-

но выраженную мембранную реакцию, в других определялась слабо выраженная экспрессия маркера (Рис. 2).

Аналогичный характер экспрессии и локализационные особенности отмечались при оценке экспрессии CD8 маркера (рис.3).

Преобладающей клеточной популяцией гуморального адаптивного иммунитета являлись В-лимфоциты, определяемые как диффузно рас-

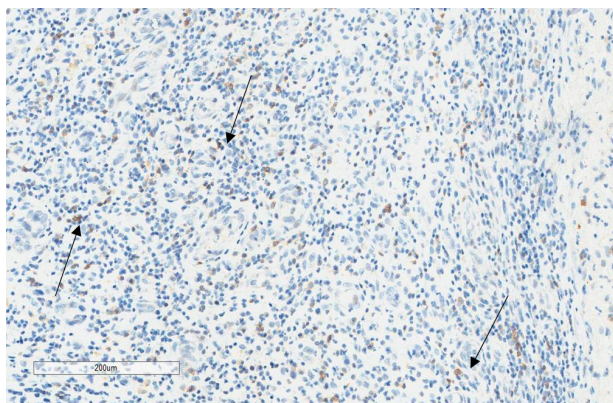


Рис.2. Микропрепарат плевры. Слабо выраженная и умеренная мембранно-цитоплазматическая экспрессия маркера CD4 в клетках воспалительного инфильтрата (стрелка). ИГХИ. Ув. $\times 200$.

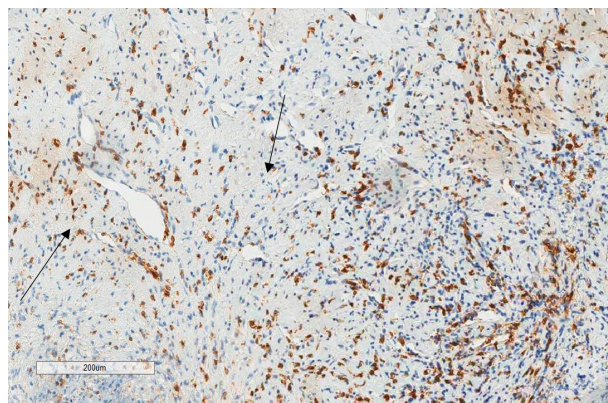


Рис. 3. Микропрепарат плевры. Выраженная мембранно-цитоплазматическая экспрессия маркера CD8 в воспалительном инфильтрате (стрелка). ИГХИ. Ув. $\times 200$.

полагающиеся в воспалительном инфильтрате клетки с яркой мембраной (Рис. 4). ИГХ маркер CD20 визуализирует широкую клеточную популяцию периферических В-лимфоцитов, а именно незрелые и зрелые В-клетки, наивные В-клетки и плазмобласты. Дуализм их функциональной роли заключается как в последующей дифференцировке в плазмоциты, продуцирующие антитела, селективно связывающиеся с антигеном, в данном случае с инфекционным вирусным агентом, с целью его прямого уничтожения, так и в антигенпрезентации информации об антигене через комплекс гистосовместимости 2 типа наивным Т-лимфоцитам, с целью определения клеточного иммунного ответа.

В нашем исследовании установлено наличие небольших скоплений CD138+ клеток в участках воспалительной инфильтрации, несмотря на большое количество В-лимфоцитов. Количество позитивно окрашенных клеток в 10 полях зрения составило $47,4 \pm 5,1$. Плазмоциты имели умеренно и слабо выраженную мембранно-цитоплазматическую реакцию (рис. 5). Такой количественный дисбаланс плазмоцитов на фоне выраженного воспалительного процесса является свидетельством неэффективности гуморального ответа против новой коронавирусной инфекции и, возможно, «побега» SARS-COV₂ от механизма прямой иммунной защиты.

Анализируя характер локализации клеток воспалительного инфильтрата в условиях эмпиемы плевры, было установлено, что в воспалительном инфильтрате преобладают цитотоксические Т-лимфоциты, которые превышают количество Т-лимфоцитов хелперов более чем в 2 раза. Во всех случаях эмпиемы плевры необходимо отметить интенсификацию популяции В-лимфоцитов при одновременно крайне

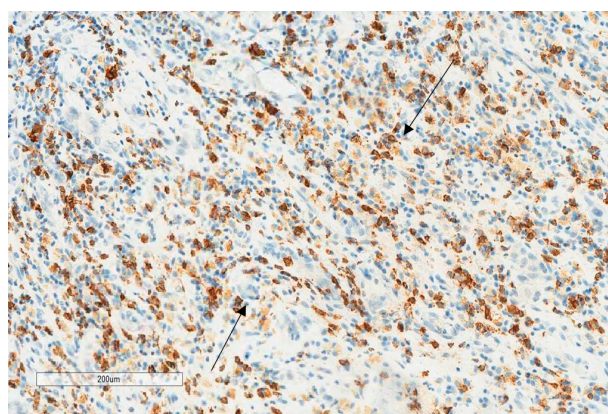


Рис. 4. Микропрепарат плевры. Выраженная мембранно-цитоплазматическая экспрессия маркера CD20 в клетках воспалительного инфильтрата (стрелка). ИГХИ. Ув. $\times 200$.

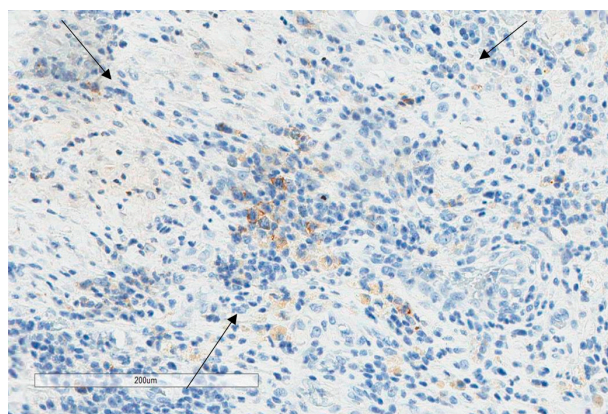


Рис. 5. Микропрепарат плевры. Слабая очаговая мембранно-цитоплазматическая экспрессия маркера CD138 в воспалительном инфильтрате (стрелка). ИГХИ. Ув. $\times 200$.

низких количественных показателях CD138-позитивных плазмочитов в воспалительном инфильтрате. Такая морфологическая картина, по нашему мнению, может свидетельствовать о местном тканевом иммунодефиците, обусловленном малым количеством плазматических клеток, а соответственно, невозможностью реализации адаптивной формы иммунного ответа. Дисрегуляция системы местного иммунитета у данной группы пациентов, по-видимому, связана с SARS-COV₂, интегрирующегося в клеточный аппарат респираторной системы и запускающего каскад иммунных реакций по Th2 пути, направленному на противовоспалительный ответ и ремоделирование стромы. Увеличение числа В-лимфоцитов без признаков активной их трансформации в плазматические клетки является свидетельством их эффекторной роли в качестве антигенпрезентирующей клетки для CD4+ и CD8+ лимфоцитов и дефицита механизма прямого уничтожения инфекционного агента. Данный факт может являться проявлением как значительного внутриклеточного интегрирования патогена и, соответственно, отсутствием субстрата для прямого взаимодействия плазмочита с инфектом, так и локальным иммунодефицитом, что требует дальнейшего изучения с детализацией механизма патофизиологических процессов.

Локальный иммунологический дисбаланс в комплексе с нарастающими гемодинамическими нарушениями, обусловленными как сопутствующей бронхолегочной и сердечно-сосудистой патологией, так и гиперреактивностью противовоспалительных реакций, опосредуемых иммуннопатологическим ответом, приводит к неуклонному прогрессированию альтерации, присоединению и пролонгации вторичной бактериальной инфекции с развитием эмпиемы плевры.

ВЫВОДЫ

1. Предвестники неспецифической эмпиемы плевральной полости, осложнившей течение коронавирусной пневмонии, вызванной SARS-COV₂, характеризуются симптомами острого легочного воспалительного процесса и характерными воспалительными изменениями показателей крови.

2. Развитие неспецифической эмпиемы плевральной полости на начальном этапе характеризуется симптомами присоединения бактериальной пневмонии, диагностируемой на КТ ОГК (симптом «воздушной бронхографии»).

3. Одной из причин возникновения неспецифической эмпиемы плевральной полости является дисрегуляция системы местного иммунитета, которая, по-видимому, связана с интеграцией

SARS-COV₂ в клеточный аппарат респираторной системы, и запускающий каскад иммунных реакций, направленный на противовоспалительный ответ и ремоделирование стромы.

4. Местный тканевой иммунодефицит приводит к нарастанию гемодинамических нарушений, прогрессированию альтеративных процессов и присоединению вторичной бактериальной инфекции, которая является пусковым моментом развития эмпиемы плевры.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

Финансирование. Исследование выполнено при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, программа «Приоритет-2030»

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

ЛИТЕРАТУРА

1. Quincho-Lopez A., Quincho-Lopez D. L., Hurtado-Medina F. D. Case report: pneumothorax and pneumomediastinum as uncommon complications of COVID-19 pneumonia-literature review. *Am J Trop Med Hyg.* 2020;103(3):1170–6. doi:10.4269/ajtmh.20-0815.

2. Lemmers D. H. L., Abu Hilal M., Bnà C. Pneumomediastinum and subcutaneous emphysema in COVID-19: barotrauma or lung frailty?. *ERJ Open Res.* 2020;6(4):00385-2020. doi:10.1183/23120541.00385-2020.

3. Chen N., Zhou M., Dong X. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *Lancet.* 2020;395(10223):507-513. doi:10.1016/S0140-6736(20)30211-7.

4. López Vega J. M., Parra Gordo M. L., Diez Tascón A., Ossaba Vélez S. Pneumomediastinum and spontaneous pneumothorax as an extrapulmonary complication of COVID-19 disease. *Emerg Radiol.* 2020;27(6):727-730. doi:10.1007/s10140-020-01806-0.

5. Ayad S., Gergis K., Elkattawy S. Loculated Empyema and SARS-CoV-2 Infection: A Report of Two Cases and Review of the Literature. *Eur J Case Rep Intern Med.* 2021;8(7):002706. doi:10.12890/2021_002706.

6. Kolani S., Houari N., Haloua M. Spontaneous pneumomediastinum occurring in the SARS-COV-2 infection. *IDCases.* 2020;21:e00806. doi:10.1016/j.idcr.2020.e00806.

7. Martinelli A. W., Ingle T., Newman J. COVID-19 and pneumothorax: a multicentre retrospective

case series. *Eur Respir J.* 2020;56(5):2002697. doi:10.1183/13993003.02697-2020.

8. Aggarwal A., Tandon A., Bhatt S., Aggarwal A., Dagar S., Bansal H. COVID19 pneumonia with cavitation and cystic lung changes: multi-detector computed tomography spectrum of a gamut of etiologies. *BJR Open.* 2021;3(1):20210007. doi:10.1259/bjro.20210007.

9. Werberich G. M., Marchiori E., Barreto M. M., Rodrigues R. S. Computed tomography findings in a Brazilian cohort of 48 patients with pneumonia due to coronavirus disease. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2020;53:e20200405. doi:10.1590/0037-8682-0405-2020.

10. Mallick T., Dinesh A., Engdahl R., Sabado M. COVID-19 Complicated by Spontaneous Pneumothorax. *Cureus.* 2020;12(7):e9104. doi:10.7759/cureus.9104.

11. Liu K., Zeng Y., Xie P. COVID-19 with cystic features on computed tomography: A case report. *Medicine (Baltimore).* 2020;99(18):e20175. doi:10.1097/MD.00000000000020175

12. Divisi D., Zaccagna G., Angeletti C. Pleural empyema associated with alveolar-pleural fistulas in severe acute respiratory syndrome coronavirus 2. *Clin Case Rep.* 2021;9(6):e04262. doi:10.1002/ccr3.4262.

13. Saha B. K., Chong W. H., Austin A. Pleural abnormalities in COVID-19: a narrative review. *J. Thorac. Dis.* 2021;13(7):4484–99. doi:10.21037/jtd-21-542.

14. Sahn S. A. The pathophysiology of pleural effusions. *Annu. v. Med.* 1990;41:7–13. doi:10.1146/annurev.me.41.020190.000255.

15. Capleton P., Ricketts W., Lau K. Pneumothorax and Pneumatocoele Formation in a Patient with COVID-19: a Case Report. *SN Compr Clin Med.* 2021;3(1):269-272. doi:10.1007/s42399-020-00689-z.

16. Diaz R., Heller D. Barotrauma And Mechanical Ventilation. In: *StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; August 1, 2022.*

17. Das K. M., Lee E. Y., Al Jawder S. E. Acute Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus: Temporal Lung Changes Observed on the Chest Radiographs of 55 Patients. *AJR Am J Roentgenol.* 2015;205(3):W267-W274. doi:10.2214/AJR.15.14445

18. Sihoe A. D., Wong R. H., Lee A. T. Severe acute respiratory syndrome complicated by spontaneous pneumothorax. *Chest.* 2004;125(6):2345-2351. doi:10.1378/chest.125.6.2345.

19. Khurram R., Johnson F. T. F., Naran R., Hare S. Spontaneous tension pneumothorax and acute pulmonary emboli in a patient with COVID-19 infection. *BMJ Case Rep.* 2020;13(8):e237475. doi:10.1136/bcr-2020-237475.

20. Янин В. Л. Учебно-методическое пособие для аспирантов очной формы обучения к практическим занятиям по дисциплине «Методы исследования в цитологии и гистологии» / В. Л. Янин, О. М. Бондаренко, Н. А. Сазонова. Ханты Мансийск: БУ «Ханты-Мансийская государственная медицинская академия»; 2015.

21. Cotta, Claudiu V. M. D. *Diagnostic Immunohistochemistry Theranostic and Genomic Applications* by David J. Dabbs. *The American Journal of Surgical Pathology.* 2010; 34(12):p.1892. doi:10.1097/PAS.0b013e3181f966c5.

REFERENCES

1. Quincho-Lopez A., Quincho-Lopez D. L., Hurtado-Medina F. D. Case report: pneumothorax and pneumomediastinum as uncommon complications of COVID-19 pneumonia-literature review. *Am J Trop Med Hyg.* 2020;103(3):1170–6. doi:10.4269/ajtmh.20-0815.

2. Lemmers D. H. L., Abu Hilal M., Bnà C. Pneumomediastinum and subcutaneous emphysema in COVID-19: barotrauma or lung frailty?. *ERJ Open Res.* 2020;6(4):00385-2020. doi:10.1183/23120541.00385-2020

3. Chen N., Zhou M., Dong X. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *Lancet.* 2020;395(10223):507-513. doi:10.1016/S0140-6736(20)30211-7.

4. López Vega J. M., Parra Gordo M. L., Diez Tascón A., Ossaba Vélez S. Pneumomediastinum and spontaneous pneumothorax as an extrapulmonary complication of COVID-19 disease. *Emerg Radiol.* 2020;27(6):727-730. doi:10.1007/s10140-020-01806-0.

5. Ayad S., Gergis K., Elkattawy S. Loculated Empyema and SARS-CoV-2 Infection: A Report of Two Cases and Review of the Literature. *Eur J Case Rep Intern Med.* 2021;8(7):002706. doi:10.12890/2021_002706.

6. Kolani S., Houari N., Haloua M. Spontaneous pneumomediastinum occurring in the SARS-COV-2 infection. *IDCases.* 2020;21:e00806. doi:10.1016/j.idcr.2020.e00806.

7. Martinelli A. W., Ingle T., Newman J. COVID-19 and pneumothorax: a multicentre retrospective case series. *Eur Respir J.* 2020;56(5):2002697. doi:10.1183/13993003.02697-2020.

8. Aggarwal A., Tandon A., Bhatt S., Aggarwal A., Dagar S., Bansal H. COVID19 pneumonia with cavitation and cystic lung changes: multi-detector computed tomography spectrum of a gamut of etiologies. *BJR Open.* 2021;3(1):20210007. doi:10.1259/bjro.20210007.

9. Werberich G. M., Marchiori E., Barreto M. M., Rodrigues R. S. Computed tomography findings

- in a Brazilian cohort of 48 patients with pneumonia due to coronavirus disease. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2020;53:e20200405. doi:10.1590/0037-8682-0405-2020.
10. Mallick T., Dinesh A., Engdahl R., Sabado M. COVID-19 Complicated by Spontaneous Pneumothorax. *Cureus.* 2020;12(7):e9104. doi:10.7759/cureus.9104.
11. Liu K., Zeng Y., Xie P. COVID-19 with cystic features on computed tomography: A case report. *Medicine (Baltimore).* 2020;99(18):e20175. doi:10.1097/MD.00000000000020175
12. Divisi D., Zaccagna G., Angeletti C. Pleural empyema associated with alveolar-pleural fistulas in severe acute respiratory syndrome coronavirus 2. *Clin Case Rep.* 2021;9(6):e04262. doi:10.1002/ccr3.4262.
13. Saha B. K., Chong W. H., Austin A. Pleural abnormalities in COVID-19: a narrative review. *J. Thorac. Dis.* 2021;13(7):4484–99. doi:10.21037/jtd-21-542.
14. Sahn S. A. The pathophysiology of pleural effusions. *Annu. v. Med.* 1990;41:7–13. doi:10.1146/annurev.me.41.020190.000255.
15. Capleton P., Ricketts W., Lau K. Pneumothorax and Pneumatocoele Formation in a Patient with COVID-19: a Case Report. *SN Compr Clin Med.* 2021;3(1):269-272. doi:10.1007/s42399-020-00689-z.
16. Diaz R., Heller D. Barotrauma And Mechanical Ventilation. In: StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; August 1, 2022.
17. Das K. M., Lee E. Y., Al Jawder S. E. Acute Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus: Temporal Lung Changes Observed on the Chest Radiographs of 55 Patients. *AJR Am J Roentgenol.* 2015;205(3):W267-W274. doi:10.2214/AJR.15.14445
18. Sihoe A. D., Wong R. H., Lee A. T. Severe acute respiratory syndrome complicated by spontaneous pneumothorax. *Chest.* 2004;125(6):2345-2351. doi:10.1378/chest.125.6.2345.
19. Khurram R., Johnson F. T. F., Naran R., Hare S. Spontaneous tension pneumothorax and acute pulmonary emboli in a patient with COVID-19 infection. *BMJ Case Rep.* 2020;13(8):e237475. doi:10.1136/bcr-2020-237475.
20. Yanin, V.L. Uchebno-metodicheskoe posobie dlya aspirantov ochnoĭ formy obucheniya k prakticheskim zanyatiyam po distsipline «Metody issledovaniya v tsitologii i gistologii» / V. L. Yanin, O. M. Bondarenko, N. A. Sazonova. – Khanty Mansiĭsk: BU «Khanty-Mansiĭskaya gosudarstvennaya meditsinskaya akademiYA», 2015. – 65 s. (In Russ.).
21. Cotta, Claudiu V. M. D. Diagnostic Immunohistochemistry Theranostic and Genomic Applications by David J. Dabbs. *The American Journal of Surgical Pathology.* 2010; 34(12):p.1892. doi:10.1097/PAS.0b013e3181f966c5.

УДК 340.6:616.9

DOI: 10.29039/2224-6444-2023-13-1-13-17

РЕТРОСПЕКТИВНЫЙ АНАЛИЗ И ОЦЕНКА СУДЕБНО-МЕДИЦИНСКИХ ЭКСПЕРТИЗ ЖИВЫХ ЛИЦ, ПЕРЕНЕСШИХ ОСТРЫЕ КИШЕЧНЫЕ ИНФЕКЦИИ

Грицкевич О. Ю.^{1,2}, Кадочников Д. С.²

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

²Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Севастопольский государственный университет» (ФГАОУ ВО СевГУ), кафедра фундаментальной медицины, здравоохранения и здоровьесбережения, 299053, ул. Университетская, 33, Севастополь, Россия

Для корреспонденции: Грицкевич Ольга Юрьевна, старший преподаватель кафедры фундаментальной медицины, здравоохранения и здоровьесбережения, ФГАОУ ВО СевГУ, e-mail: sudmedma@mail.ru

For correspondence: Gritskevich Olga Yurievna, Senior Lecturer, Department of Fundamental Medicine, Public Health and Health Protection, Sevastopol State University, e-mail: sudmedma@mail.ru

Information about authors:

Gritskevich O. Y., <https://orcid.org/0000-0002-0312-9972>

Kadochnikov D. S., <https://orcid.org/0000-0002-4077-7805>

РЕЗЮМЕ

Для изучения современных подходов к оценке тяжести вреда, причинённого здоровью человека при острых кишечных инфекциях, проведён ретроспективный анализ архивного материала бюро судебно-медицинских экспертиз. Изучение архивного материала показало необходимость разработки критериев оценки степени тяжести вреда, причиненного здоровью человека, в случаях острых кишечных инфекций, что позволит улучшить качество проведения судебно-медицинских экспертиз и оценки вреда здоровью.

Ключевые слова: острые кишечные инфекции, судебно-медицинская оценка, вред здоровью.

RETROSPECTIVE ANALYSIS AND ASSESSMENT OF FORENSIC EXAMINATIONS OF LIVING PERSONS SURVIVED ACUTE INTESTINAL INFECTIONS

Gritskevich O. Yu.^{1,2}, Kadochnikov D. S.²

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

²Sevastopol State University, Department of Fundamental Medicine, Public Health and Health Protection, Sevastopol, Russia

SUMMARY

To study modern approaches to assessing the severity of harm caused to human health in acute intestinal infections, a retrospective analysis of archival material from the Bureau of Forensic Medical Examinations was carried out. The study of archival material showed the need to develop criteria for assessing the severity of harm caused to human health in cases of acute intestinal infections, which will improve the quality of forensic medical examinations and assess harm to health.

Key words: acute intestinal infections, forensic medical assessment, harm to health.

На сегодняшний день есть чёткие клинические рекомендации по оценке степени тяжести течения острых кишечных инфекций (ОКИ), которых придерживаются врачи инфекционисты. Но нет алгоритма, на который бы опирались судебно-медицинские эксперты, давая заключение о степени тяжести вреда, причинённого здоровью человека вследствие воздействия данного повреждающего биологического фактора, в результате чего приходится оценивать тяжесть, как правило, по количеству дней, проведённых в стационаре. Проведенные за последние десять лет исследования убедительно показали, что работа желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) напрямую влияет на работу всего организма, а

иммунная система человека находится в особенной зависимости от баланса микрофлоры кишечника [1-3]. Так, ЖКТ человека, который перенес острую кишечную инфекцию, в некоторых случаях на долгие месяцы, а иногда и годы, выходит из функционального строя, несмотря на то, что клинические симптомы острого периода заболевания могут исчезать достаточно быстро. Указанное выше говорит о том, что есть колоссальная потребность в пересмотре медицинских критериев судебно-медицинской оценки в случаях острых кишечных инфекций, которые будут иметь объективное научное обоснование, учитывающее тяжесть течения, характер и длительность восстановительного периода организ-

ма, а также наличие отдаленных последствий в виде хронических заболеваний [4].

Несмотря на действующие санитарные правила и нормативы, учреждениями, осуществляющими общественное питание, периодически допускаются грубые нарушения законодательных норм, что приводит к последствиям в виде заражения кишечными инфекциями. В то же время обеспечение здоровья нации – одна из самых важных задач государства, а организация контроля за качеством продуктов питания и сырья – один из этапов, гарантирующих сохранение здоровья, так как является неотъемлемой составляющей мероприятий по профилактике возникновения и распространения инфекционных заболеваний массового характера. Современный алгоритм оценки степени тяжести вреда в случаях ОКИ – шаг к усовершенствованию системы правосудия.

Ведущими факторами, способствующими возникновению очагов групповой заболеваемости ОКИ в коллективах, являются нарушения обязательных требований действующих нормативно-методических документов. Нарушения касаются поточности технологических процессов, режимов транспортировки, хранения пищевого сырья и продуктов питания, использования, обработки и хранения кухонного инвентаря, состояния помещений пищеблоков, правил личной гигиены персонала и прочее [5].

Согласно государственным докладам о состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения за 2016–2020 годы острые кишечные инфекции, наряду с некоторыми другими, представляют наибольшую экономическую значимость, заболеваемость ОКИ варьировала от 507–546 случаев на 100 тыс. населения [6]. Однако, в период пандемии заболеваемость ОКИ снизилась практически в два раза. Наибольшее влияние на снижение оказал локдаун из-за пандемии новой коронавирусной инфекции, в связи с чем возникло ограничение в посещении мест, предусматривающих общественное питание (заводы, санатории, школы, детские сады, кафе и т.д.). На этот фактор как ведущий также указывает снижение общего количества случаев очагов групповой заболеваемости ОКИ в России за 2019–2020 годы и возобновление роста в 2021 году. Референс-центр по мониторингу возбудителей кишечных инфекций предоставляет следующие данные: 2016 год – 365 случаев (5066 пострадавших); 2017 г. – 304 (4308); 2018 г. – 271 (3602); 2019 г. – 213 (2422); 2020 г. – 71 (980); 2021 г. – 184 (2306) [7]. Из числа пострадавших более половины случаев приходится на детей в возрасте до 17 лет: 2016 г. – 3381; 2017 г. – 3018; 2018 г. – 2580; 2019 г. – 1614; 2020

г. – 790; 2021 г. – 1874. В структуре очаговой заболеваемости за проанализированный период 2016–2021 гг. около 50% составляет организованное население, что также свидетельствует о доминирующей роли предприятий общепита и торговли. По результатам эпидемиологических расследований продукция птицеводства выступает в качестве основного источника инфекции и обуславливает заболеваемость более 70% пострадавших. В новой редакции 1 части 236 статьи УК РФ от 01.04.2020 № 100-ФЗ говорится, что «преступлением является нарушение санитарно-эпидемиологических правил, повлекшее по неосторожности массовое заболевание или отравление людей либо создавшее угрозу наступления таких последствий», которое наказывается не только штрафом, но и лишением свободы, а значит, подразумевает под собой уголовную ответственность и необходимость проведения судебно-медицинской экспертизы.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

С целью проведения оценки современного подхода в определении степени тяжести вреда, причинённого здоровью человека при ОКИ, было проанализировано 270 экспертиз живых лиц, перенёсших острые кишечные инфекции, проведённых на базе бюро судебно-медицинских экспертиз из различных регионов Российской Федерации. Из общего количества экспертиз число несовершеннолетних составило 32 человека.

С целью оценки исходов ОКИ были проведены обследования детей от 10 до 15-ти лет в количестве 14 человек и взрослых в возрасте от 20 до 43 лет в количестве 9 человек. Оценка состояния здоровья была проведена через месяц после выписки из стационаров инфекционных отделений различных МО Республики Крым, в которых они находились с диагнозом ОКИ неустановленной этиологии лёгкой, средней и тяжелой степеней тяжести. Наряду с оценкой динамики острого периода болезни были проведены ультразвуковые исследования органов брюшной полости, выполнены копрограммы и проведен иммуноферментный анализ на определение количества панкреатической эластазы в кале. При этом важным критерием при отборе было отсутствие хронических патологий и аномалий развития ЖКТ, а также психических заболеваний в анамнезе.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Экспертизы были проведены в 2018 и 2019 годах в случаях заболевания ОКИ на основании постановлений следственных комитетов. Из обстоятельств дела известно, что пострадав-

шие доставлялись в стационар из трёх очагов: лечебно-профилактическое учреждение (ЛПУ), детский оздоровительный лагерь и воинская часть. В отношении данных случаев были заведены уголовные дела по ст. 236.1 и 238.1 УК РФ. Все экспертизы без исключения были выполнены по медицинским документам без присутствия самих пострадавших. Ходатайств о дополнительном обследовании или направлении к врачам иных специальностей также не было ни в одном из случаев.

По случаям заражения ОКИ в ЛПУ было проведено 239 экспертиз. У 126 человек был выявлен сальмонеллёзный энтерит лёгкой и средней степеней тяжести, у 113 человек этиология возбудителя кишечной инфекции установлена не была, но заболевание протекало по типу энтерита лёгкой и средней степеней тяжести, что в истории болезни условно считалось как сальмонеллёзный энтерит с учётом общего очага групповой заболеваемости. Лица находились на стационарном лечении от 15 до 18 дней. Экспертизы были проведены через 5 месяцев после выписки. Во всех случаях был установлен вред лёгкой степени тяжести по признаку кратковременного расстройства здоровья сроком до 21 дня (согласно п.8.1. Приказа 194н МЗиСР «Об утверждении медицинских критериев определения степени тяжести вреда, причиненного здоровью человека» от 24.04.2008 г.).

По случаям заражения ОКИ в детском оздоровительном лагере проведено 27 экспертиз, среди пострадавших были преимущественно несовершеннолетние лица. В 3 случаях была установлена стафилококковая кишечная инфекция, в 24 случаях этиология возбудителя не установлена. У всех инфекционный процесс протекал со средней степенью тяжести. Пострадавшие находились на лечении в стационаре от 1 до 7 суток. Экспертизы проводились через месяц после выписки. В 4 случаях была установлен вред лёгкой степени тяжести, в 23 случаях было установлено, что повреждение не причинили вреда здоровью.

По случаям заражения ОКИ в воинской части было проведено 4 экспертизы. Во всех случаях был установлен диагноз диспепсия, лабораторных исследований для установления этиологического фактора заболевания не проводилось. Пострадавшие находились в стационаре 1 сутки, после чего через 15 дней были проведены экспертизы. Во всех случаях был установлен вред лёгкой степени тяжести, однако, установить, что именно привело к появлению диспепсии, представилось невозможным, но инфекционный этиологический фактор исключён не был.

Значимость ОКИ на сегодняшний день определяется не только их высокой распростра-

ненностью, но и частотой неблагоприятных последствий в исходе заболевания. В современной литературе имеется достаточно сведений о частом возникновении у пациентов при ОКИ нарушений микробиоценоза, дисбаланса иммунной системы, выявлении признаков реактивных изменений ткани поджелудочной железы и функциональных нарушений билиарного тракта, вторичной лактазной недостаточности, длительных расстройств функциональной активности пищеварительной системы, патологии суставов [8-10].

Вышесказанное подтверждают и наши исследования 12 детей и 4 взрослых, перенесших лёгкую и среднюю степени ОКИ. Было установлено нарушение процессов пищеварения, о чём свидетельствовали следующие жалобы: боли в передней брюшной области (что было характерно в большей степени для детей, перенёсших среднетяжёлую форму), метеоризм, периодические расстройства стула, а также снижение аппетита. Нарушения в работе ЖКТ подтверждались данными копрологического исследования, по результатам которого в некоторых случаях было установлено изменение рН в кислую сторону, снижение активности ферментов поджелудочной железы, что проявлялось присутствием нейтрального жира в разной степени выраженности, наличием зёрен крахмала и непереваренных мышечных волокон. При этом уровень панкреатической эластазы определялся в норме, что исключает первичную пищеварительную недостаточность поджелудочной железы.

УЗИ органов брюшной полости у 3 детей, перенёсших среднетяжёлую форму выявило увеличение размеров поджелудочной железы. У 2 взрослых со среднетяжёлой формой ОКИ поджелудочная железа также была увеличена и имела очаговые уплотнения. У 1 взрослого со среднетяжёлой формой были выявлены УЗИ-признаки дискинезии желчевыводящих путей.

У 2 детей и 4 взрослых каких-либо изменений обнаружено не было.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ показал, что данные, представленные в медицинских документах вышедшего из стационара пациента, не могут в полной мере отразить ущерб здоровью, который был нанесён человеку вследствие перенесения им ОКИ. Исследования последних лет требуют пересмотра алгоритма проведения подобных экспертиз. При выписке из стационара с врачебным заключением о выздоровлении закон позволяет проводить экспертизу без личного присутствия пациента на основании данных медицинских документов, однако, на наш взгляд, присутствие потерпевшего является важ-

ным, так как в компетенции судебно-медицинского эксперта право провести опрос и направить пациента к узким специалистам (инфекционисту, гастроэнтерологу, неврологу и т.д.).

Лабораторные данные обязательного минимума и другие дополнительные методы диагностики необходимы при оценке степени тяжести вреда, причинённого человеку после перенесённой им острой кишечной инфекции.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

ЛИТЕРАТУРА

1. Антипов М. О., Миндлина А. Я. Болезни органов пищеварения инфекционной и неинфекционной природы. Эпидемиологическая взаимосвязь. Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2019;18:1:55-66. doi:10.31631/2073-3046-2019-18-1-55-66.
2. Горбунов С. Г. Современные возможности реабилитации детей, перенесших острые кишечные инфекции. Трудный пациент. 2020;8:6-7:34-35. doi:10.24411/2074-1995-2020-10048.
3. Kyu H. H., Pinho C., Wagner J. A., Brown J. C. Global and national burden of diseases and injuries among children and adolescents between 1990 and 2013. Findings from the global burden of disease 2013 study. JAMA Pediatrics. 2016;170(3):267–287. doi:10.1001/jamapediatrics.2015.4276.
4. Грицкевич О. Ю., Кадочников Д. С. Анализ и оценка результатов судебно-медицинских экспертиз и исследований живых лиц, перенесших острые кишечные инфекции, за 2018–2019 годы по данным Бюро СМЭ субъекта РФ. Вопросы определения тяжести вреда, причиненного здоровью человека в результате воздействия биологического фактора. М.:2020;60-66.5.
5. Пронько Н.В., Красько Ю. П. Норовирусная инфекция: особенности эпидемиологии и клинико-лабораторных проявлений на современном этапе. Актуальная инфектология. 2017;5:1:14-17.
6. Государственный доклад «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2019 году. Доступно по: https://www.rospotrebnadzor.ru/documents/details.php?ELEMENT_ID=14933. Ссылка активна на 23.01.2023.
7. Российский референс-центр по мониторингу возбудителей кишечных инфекций. Доступно по: <https://www.epid-ok.ru/otchety.html>. Ссылка активна на 23.01.2023.
8. Григорович М. С., Майорова Н. Д. Отдаленные исходы острых кишечных инфекций у детей и определяющие их факторы. Инфекционные болезни. 2014;12:3:40-41.
9. Jennifer K. Beatty, Amol Bhargava, Andre G. Buret. Post-infectious irritable bowel syndrome: Mechanistic insights into chronic disturbances following enteric infection. World J Gastroenterol. 2014;20(14):3976–3985. doi: 10.3748/wjg.v20.i14.3976.
10. Климова О. И., Гончар Н. В., Лобзин Ю. В., Григорьев С. Г. Факторы риска формирования гастроэнтерологической патологии после инфекционных гемоколитов у детей. Детские инфекции. 2020;19:4:5-11.

REFERENCES

1. Antipov M. O., Mindlina A. Y. Infectious and Non-infectious Diseases of the Digestive System. Epidemiological Interrelation. Epidemiology and Vaccinal Prevention. 2019;18:1:55-66. (In Russ.). doi:10.31631/2073-3046-2019-18-1-55-66.
2. Gorbunov S.G. Modern Rehabilitation Possibilities for Children Following Acute Intestinal Infections. Trudnyj pacient. 2020; 8: 6-7: 34-35 (In Russ.). doi:10.24411/2074-1995-2020-10048.
3. Kyu H.H., Pinho C., Wagner J.A., Brown J.C. Global and national burden of diseases and injuries among children and adolescents between 1990 and 2013. Findings from the global burden of disease 2013 study. JAMA Pediatrics. 2016;170:3:267–287. doi:10.1001/jamapediatrics.2015.4276
4. Gritskevich O. Y., Kadochnikov D. S. Analysis and assessment of forensic medical examinations and studies of living individuals who have experienced acute intestinal infections for 2018–2019 according to the BSME of the subject of the Russian Federation. Issues of determining the severity of harm caused to human health as a result of the impact of a biological factor. Publishing Center RIOR. 2020;60-66. (In Russ.). doi:10.29039/conferencearticle_5fdcb03a5e7205.96483327.
5. Pronko N. V., Krasko Yu. P. Norovirusnaya infekciya: osobennosti epidemiologii i kliniko-laboratornyh proyavlenij na sovremennom etape. Aktual'naya infektologiya. 2017; 5:1:14-17. (In Russ.). doi:10.22141/2312-413x.5.1.2017.98770.
6. State report «On the state of sanitary and epidemiological well-being of the population in the Russian Federation in 2019». Available at: https://www.rospotrebnadzor.ru/documents/details.php?ELEMENT_ID=14933. Accessed January 23, 2023.
7. Russian reference center for monitoring pathogens of intestinal infections. Available at: <https://www.epid-ok.ru/otchety.html>. Accessed January 23, 2023.
8. Grigorovich M. S., Mayorova N. D. The functional status of gastrointestinal tract and features of outcomes in acute intestinal infections. Infekcionny'e bolezni. 2014;12:3:40-41. (In Russ.). doi:10.17816/eid40674.

9. Jennifer K. Beatty, Amol Bhargava, Andre G. Buret. Post-infectious irritable bowel syndrome: Mechanistic insights into chronic disturbances following enteric infection. *World J Gastroenterol.* 2014;20(14):3976–3985. doi:10.3748/wjg.v20.i14.3976.

10. Klimova O. I., Gonchar N. V., Lobzin Yu. V., Grigoriev S. G. Risk factors for the formation of gastroenterological pathology after infectious hemocolitis in children. *Children infections.* 2020;19:4:5-11 (In Russ.). doi:10.22627/2072-8107-2020-19-4-5-11.

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ЧЕРВЕОБРАЗНОГО ОТРОСТКА ПРИ ОСТРОМ АППЕНДИЦИТЕ У ДЕТЕЙ С COVID-19

Демяшкин Г. А.^{1,2}, Горохов К. Р.¹, Зорин И. А.²

¹Национальный медицинский исследовательский центр радиологии Минздрава России (НМИЦ радиологии), 249036, ул. Королева, 4, Обнинск, Россия

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

Для корреспонденции: Демяшкин Григорий Александрович, к.м.н., зав. отделом патоморфологии НМИЦ радиологии; зав. лабораторией гистологии и иммуногистохимии Первого МГМУ имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), e-mail: dr.dga@mail.ru

For correspondence: Grigory Demyashkin, PhD, Head of the Department of Pathomorphology, National Medical Radiology Research Center for Radiology; Head of the Laboratory of Histology and Immunohistochemistry, Sechenov University, e-mail: dr.dga@mail.ru

Information about authors:

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

Gorokhov K. R., <https://orcid.org/0000-0003-1344-3292>

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

РЕЗЮМЕ

У пациентов с COVID-19 наблюдают различную клиническую картину: от бессимптомного носительства до тяжелой жизнеугрожающей пневмонии с полиорганной недостаточностью. Кроме того, нередко проявляются желудочно-кишечные расстройства, характеризующиеся болевым и диспепсическим синдромами в дополнение к респираторным проявлениям. Особый интерес вызывает проявления COVID-19 в виде острого аппендицита у пациентов педиатрического профиля. При этом клиническая картина может напоминать множество различных инфекционных и воспалительных заболеваний кишечника, встречающихся у детей, что значительно усложняет диагностику и выработку тактики лечения. Следует отметить, что патоморфологические изменения червеобразного отростка у детей с COVID-19 остаются малоизученными. Цель исследования – морфологическая оценка червеобразного отростка у детей с установленным диагнозом COVID-19. Материал и методы. Группы были сформированы на основании анамнестических, клинических и морфологических данных. I группа – операционный материал червеобразного отростка после аппендэктомии у детей с установленным клиническим диагнозом: коронавирусная инфекция (COVID-19, ПЦР+). II – контрольная группа, аутопсийный материал червеобразного отростка, полученный не позднее 6 часов после констатации биологической смерти, без макроскопических признаков наличия воспалительного и/или опухолевого процесса. Морфологическое исследование червеобразных отростков проводили по стандартному протоколу и окрашивали гематоксилином и эозином. Результаты. Во всех образцах червеобразных отростков у детей I группы наблюдали морфологическую картину острого аппендицита: катарального (n=1) и деструктивные формы – флегмонозно-язвенную (n=33) и гангренозную (n=8). Следует отметить, что во всех микропрепаратах, независимо от формы аппендицита, наблюдали микротромбы, фибриноидный некроз стенки кровеносных сосудов и периваскулярную лимфоцитарную инфильтрацию. Такие изменения часто обнаруживаются в ткани легкого у пациентов с COVID-19. При морфологическом исследовании червеобразных отростков детей II группы признаков воспалительного процесса и/или опухолевого роста не обнаружили. Заключение. У детей с COVID-19 наблюдается преимущественно флегмонозный аппендицит с деструктивными изменениями, сопровождающийся микротромбозами и лимфоцитарно-плазмочитарной периваскулярной инфильтрацией.

Ключевые слова: аппендицит, SARS-CoV-2, MIS-C, хирургия.

MORPHOLOGICAL FEATURES OF THE APPENDIX IN ACUTE APPENDICITIS IN CHILDREN WITH COVID-19

Demyashkin G. A.^{1,2}, Gorokhov K. R.¹, Zorin I. A.²

¹National Medical Research Centre of Radiology, Obninsk, Russia

²I. M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia

SUMMARY

Patients with COVID-19 present with a clinical picture ranging from asymptomatic to severe life-threatening pneumonia with multiple organ failure. Moreover, gastrointestinal disorders characterized by pain and dyspeptic syndromes in addition to respiratory manifestations are not uncommon. Manifestations of COVID-19 in the form of acute appendicitis in pediatric patients are point of interest. In this case the clinical picture can resemble many different infectious and inflammatory bowel diseases found in children, which significantly complicates the diagnosis and development of treatment tactics. It should be noted that pathomorphological changes of the appendix in children with COVID-19 remain poorly investigated. The aim of the study was the morphological evaluation of the appendix in children diagnosed

with COVID-19. Material and Methods. Groups were formed on the basis of anamnestic, clinical and morphological data. Group I - surgical material of the acute appendicitis in children with established clinical diagnosis of coronavirus infection (COVID-19, PCR +). II - control group, autopsy material of the appendix obtained not later than 6 hours after confirmation of biological death, without macroscopic signs of inflammatory and/or tumorous process. Morphological examination of the worms was carried out according to the standard protocol and stained with hematoxylin and eosin. Results. In all appendix specimens of group I children morphological picture of acute appendicitis was observed: catarrhal (n=1) and destructive forms – ulcero-phlegmonous (n=33) and gangrenous (n=8). It should be noted that microthrombi, fibrinoid necrosis of blood vessel walls and perivascular lymphocytic infiltration were observed in all samples, regardless of the form of appendicitis. Such changes are often found in lung tissue of patients with COVID-19. Morphological examination of the appendixes of Group II showed no signs of inflammatory process and/or tumor growth. Conclusion. Predominantly phlegmonous appendicitis with destructive changes accompanied by microthrombosis and lymphocytic-plasmacytic perivascular infiltration is observed in children with COVID-19.

Key words: appendicitis, SARS-CoV-2, MIS-C, surgery.

К концу 2022 года было зарегистрировано примерно 660 миллионов случаев заболевания новой коронавирусной инфекцией (COVID-19) [1]. У пациентов с COVID-19 наблюдают различную клиническую картину: от бессимптомного носительства до тяжелой жизнеугрожающей пневмонии с полиорганной недостаточностью. Кроме того, нередко проявляются желудочно-кишечные расстройства, характеризующиеся болевым и диспепсическим синдромами в дополнение к респираторным проявлениям [2–4].

В единичных исследованиях РНК SARS-CoV-2 было выявлено в стуле инфицированных пациентов [5]. А один из основных рецепторов, необходимых для вирусной инвазии, ангиотензинпревращающий фермент 2 (АПФ2), широко распространен в слизистой оболочке тонкой и ободочной кишки [6]. Таким образом, на сегодняшний день известно, что SARS-CoV-2 способен внедряться в эпителиоциты кишечника и оказывать разнонаправленное действие на клиническое течение.

Особый интерес вызывает проявления COVID-19 в виде острого аппендицита. Сложность ведения данной когорты пациентов связана с тем, что специалистам приходится сталкиваться с ургентной хирургической патологией, и, кроме того, параллельно проводить противовирусную терапию, так как новая коронавирусная инфекция обладает высокой патогенностью и быстрым прогрессированием, что может привести к обширному поражению легких и других систем [7; 8].

Малоизученным остается вопрос об остром аппендиците, ассоциированном с COVID-19, у пациентов педиатрического профиля. В целом, у детей новая коронавирусная инфекция протекает более легко по сравнению с взрослыми, однако в немногочисленных работах было описано, что признаки поражения органов желудочно-кишечного тракта у детей чаще всего развиваются на фоне прогрессирования мультисистемного воспалительного синдрома (MIS-C). При этом клиническая картина может напоминать множество различных инфекционных и воспалитель-

ных заболеваний кишечника, встречающихся у детей, что значительно усложняет диагностику и выработку тактики лечения [9; 10].

Следует отметить, что патоморфологические изменения червеобразного отростка у детей с COVID-19 остаются малоизученными.

Цель исследования: морфологическая оценка червеобразного отростка у детей с установленным диагнозом COVID-19.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Дизайн исследования. Группы были сформированы на основании анамнестических, клинических и морфологических данных. Все дети I группы были протестированы на наличие РНК SARS-CoV-2 в назофарингеальных и назальных мазках, при помощи ПЦР-РВ.

- I (n = 42; возрастом от 2 до 18 лет, средний – 10,8 лет) – операционный материал червеобразного отростка после аппендэктомии у детей с установленным клиническим диагнозом: коронавирусная инфекция (COVID-19, ПЦР+).
- II (n = 38; возрастом от 2 до 18 лет, средний – 10,3 лет) – контрольная группа, аутопсийный материал червеобразного отростка, полученный не позднее 6 часов после констатации биологической смерти, без макроскопических признаков наличия воспалительного и/или опухолевого процесса.

Морфологическое исследование червеобразных отростков проводили по стандартному протоколу (фиксация в забуференном формалине, проводка, заливка в парафин) и окрашивали гематоксилином и эозином.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Всем детям I группы была выполнена лапароскопическая аппендэктомия.

Во всех образцах червеобразных отростков у детей I группы наблюдали морфологическую картину острого аппендицита: катарального (n=1) и деструктивные формы – флегмозно-язвенную (n=33) и гангренозную (n=8).

При макроскопическом исследовании червеобразного отростка с катаральным аппендицитом отмечали слабую гиперемию серозной оболочки. При микроскопическом исследовании образца обнаружили полнокровие кровеносных сосудов с наличием микротромбов, слабую лимфоцитарную инфильтрацию слизистой оболочки, гиперплазию лимфоидной ткани и фекалит (рис. 1А).

В большинстве микропрепаратов червеобразных отростков (n=33) при патоморфологическом исследовании был выявлен флегмонозный и флегмонозно-язвенный аппендицит. Макроскопически: червеобразные отростки были увеличены в размерах, серозная оболочка тусклая, гиперемирована, стенка отечна, с наличием гнойной инфильтрации, распространяющейся на брыжейку и единичными очагами некроза в подслизистой оболочке. При микроскопическом исследовании отмечали отек стенки, полнокровие кровеносных сосудов с наличием микротромбов, расширение крипт, очаговую гиалинизацию стромы, гиперплазию лимфоидной ткани и диффузную лейкоцитарную инфильтрацию слизистой и подслизистой оболочки, преимущественно за счет нейтрофилов, с участками изъязвлений и эрозий (рис. 1Б).

У 8-и детей выявили гангренозный аппендицит. Макроскопическая характеристика червеобразного отростка: увеличен в размерах, отечный и гиперемированный, с наличием изъязвлений; стенка и брыжейка с инфильтрацией и очагами некрозов. При микроскопическом исследовании: стертая демаркация между оболочками, отек стенки, полнокровие кровеносных сосудов, массивная лимфоцитарная инфильтрация, очаги коагуляционного некроза с эрозиями (в 2 микропрепаратах – некроз слизистой оболочки) и изъязвлениями. В просвете червеобразных отростков визуализировали гнойный экссудат с геморрагическим компонентом (рис. 1В).

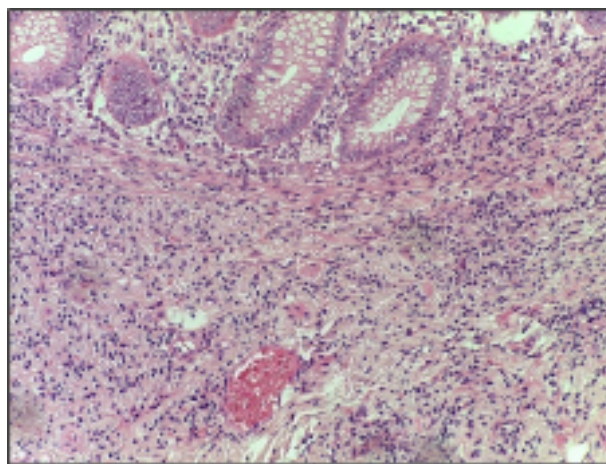
Следует отметить, что во всех микропрепаратах, независимо от формы аппендицита, наблюдали микротромбы, фибриноидный некроз стенки кровеносных сосудов и периваскулярную лимфоцитарную инфильтрацию.

При морфологическом исследовании червеобразных отростков детей II группы признаков воспалительного процесса и/или опухолевого роста не обнаружили.

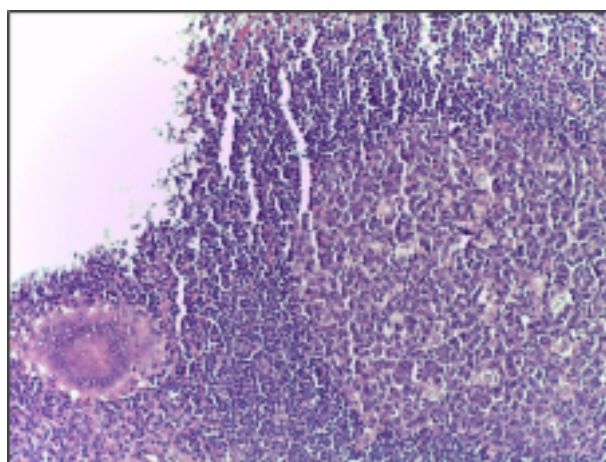
ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящей работе описаны случаи острого аппендицита у детей с подтвержденной новой коронавирусной инфекцией.

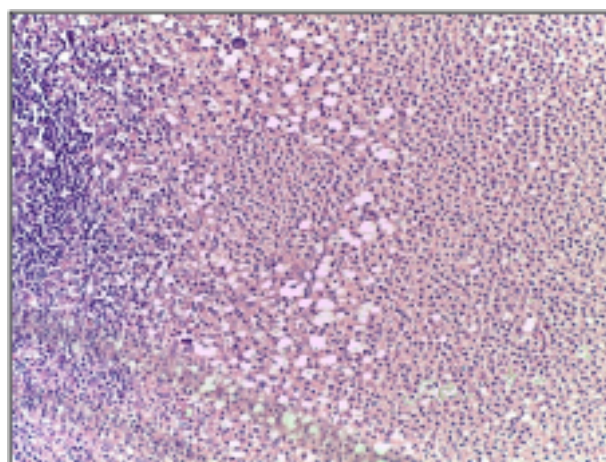
Морфологическое исследование червеобразных отростков позволило выделить некоторые



А



Б



В

Рис. 1. Морфологическая картина острого аппендицита: А – катаральный; Б – флегмонозно-язвенный; В – гангренозный. Окраска: гематоксилин и эозин. Увеличение x200.

особенности течения острого аппендицита у детей с COVID-19. Во-первых, в большинстве

микропрепаратов наблюдали деструктивные изменения червеобразных отростков. Возможно, преобладание деструктивных форм связано с тем, что у большинства детей с COVID-19 развивается MIS-C-синдром, который характеризуется гипертрофическим процессом, что значительно ускоряет развитие острого аппендицита. Хотя патогенетические механизмы острого аппендицита до сих пор остаются предметом дискуссии, ведущую роль в развитии данной патологии приписывают обструкции просвета червеобразного отростка, которая возникает вследствие лимфоидной гиперплазии или фекалита [11]. Нами были обнаружены некоторые признаки, указывающие на SARS-CoV-2-ассоциированный аппендицит. Такие как микротромбы, фибриноидный некроз стенки кровеносных сосудов и периваскулярная лимфоцитарная инфильтрация, которые наблюдали во всех образцах I группы, не характерные для классической морфологической картины острого аппендицита [12]. Аналогичные признаки отмечаются рядом авторов при поражении легочной паренхимы у пациентов с COVID-19, что сопровождается развитием диффузного альвеолярного повреждения, лимфоцитарного альвеолита, сопровождающегося васкулитом артерий мелкого и среднего калибра, распространенной коагулопатией с тромбозами [13; 14].

Как известно, в стенке органов желудочно-кишечного тракта выявляется высокое содержание белка АПФ2, обеспечивающего вирусную инвазию [6]. Возможно, репликация SARS-CoV-2 в энтероцитах приводит к нарушению барьерной функции и способствует транслокации бактерий, и, как следствие, к развитию острого аппендицита.

Другим возможным механизмом является активный иммунный ответ на вирусную инвазию, который приводит к гиперплазии лимфоидной ткани и обтурации просвета червеобразного отростка.

Следует отметить, что изучение патогенетических механизмов COVID-19 является чрезвычайно сложным, но актуальной проблемой. Поэтому необходимо продолжить исследования острого аппендицита у детей с COVID-19 с применением иммуногистохимических, молекулярно-генетических и других методов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

У детей с COVID-19 наблюдается преимущественно флегмозный аппендицит с деструктивными изменениями, сопровождающийся микротромбозами и лимфоцитарно-плазмочитарной периваскулярной инфильтрацией.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard (Internet). (cited 2023 Jan 25). Available from: <https://covid19.who.int>
2. Huang X., Wei F., Hu L., Wen L., Chen K. Epidemiology and Clinical Characteristics of COVID-19. *Arch Iran Med.* 2020 Apr 1;23(4):268–71. doi: 10.34172/aim.2020.09.
3. Jiang F., Deng L., Zhang L., Cai Y., Cheung C. W., Xia Z. Review of the Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). *J GEN INTERN MED.* 2020 May 1;35(5):1545–49. doi:10.1007/s11606-020-05762-w.
4. Villapol S. Gastrointestinal symptoms associated with COVID-19: impact on the gut microbiome. *Translational Research.* 2020 Dec 1;226:57–69. doi:10.1016/j.trsl.2020.08.004.
5. Chen Y., Chen L., Deng Q., Zhang G., Wu K., Ni L., Yang Y., Liu B., Wang W., Wei C., Yang J., Ye G., Cheng Z. The presence of SARS-CoV-2 RNA in the feces of COVID-19 patients. *J Med Virol.* 2020 Jul;92(7):833–40. doi:10.1002/jmv.25825.
6. Guo Y., Wang B., Gao H., Gao L., Hua R., Xu J. D. ACE2 in the Gut: The Center of the 2019-nCoV Infected Pathology. *Frontiers in Molecular Biosciences (Internet).* 2021 (cited 2023 Jan 25);8. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmolb.2021.708336>. doi:10.3389/fmolb.2021.708336.
7. Georgakopoulou V. E., Gkoufa A., Damaskos C., Papalexis P., Pierrakou A., Makrodimitri S., Sypsa G., Apostolou A., Asimakopoulou S., Chlapoutakis S., Sklapani P., Trakas N., Spandidos D. A. COVID-19-associated acute appendicitis in adults. A report of five cases and a review of the literature. *Experimental and Therapeutic Medicine.* 2022 Jul 1;24(1):1–9. doi:10.3892/etm.2022.11409.
8. Malbul K., Katwal S., Maharjan S., Shrestha S., Dhital R., Rajbhandari A. P. Appendicitis as a presentation of COVID-19: A case report. *Ann Med Surg (Lond).* 2021 Sep;69:102719. doi:10.1016/j.amsu.2021.102719.
9. Yasuhara J., Kuno T., Takagi H., Sumitomo N. Clinical characteristics of COVID-19 in children: A systematic review. *Pediatric Pulmonology.* 2020;55(10):2565–75. doi: 10.1002/ppul.24991.
10. Sweeny K. F., Zhang Y. J., Crume B., Martz C. A., Blessing M. M., Kahn S. A. Inflammatory Bowel Disease Presenting With Concurrent COVID-19 Multisystem Inflammatory Syndrome. *Pediatrics.* 2021 Apr 1;147(4):e2020027763. doi:10.1542/peds.2020-027763.

11. Bhangu A., Søreide K., Saverio S. D., Assarsson J. H., Drake F. T. Acute appendicitis: modern understanding of pathogenesis, diagnosis, and management. *The Lancet*. 2015 Sep 26;386(10000):1278–87. doi:10.1016/S0140-6736(15)00275-5.
12. Ermolov A. S., Samsonov V. T., Guliaev A. A., Abdulamitov K. K., Titova G. P., Tlibekova M. A., Radygina M. V. Videolaparoscopic and morphological parallels in diagnosis of different forms of acute appendicitis. *Khirurgiia (Mosk)*. 2016 Jan 1;(2):19–23. doi: 10.17116/hirurgia2016219-23.
13. Doglioni C., Ravaglia C., Chilosi M., Rossi G., Dubini A., Pedica F., Piciucchi S., Vizzuso A., Stella F., Maitan S., Agnoletti V., Puglisi S., Poletti G., Sambri V., Pizzolo G., Bronte V., Wells A. U., Poletti V. Covid-19 Interstitial Pneumonia: Histological and Immunohistochemical Features on Cryobiopsies. *RES*. 2021;100(6):488–98. doi: 10.1159/000514822.
14. Zubieta-Calleja G. R., Zubieta-DeUrioste N., de Jesús Montelongo F., Sanchez M. G. R., Campoverdi A. F., Rocco P. R. M., Battaglini D., Ball L., Pelosi P. Morphological and functional findings in COVID-19 lung disease as compared to Pneumonia, ARDS, and High-Altitude Pulmonary Edema. *Respiratory Physiology & Neurobiology*. 2023 Mar 1;309:104000. doi: 10.1016/j.resp.2022.104000.

УДК: 615.834 – 616.71:616.834 – 009.1

DOI: 10.29039/2224-6444-2023-13-1-23-27

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ОБУЧЕНИЯ ХОДЬБЕ С ПОМОЩЬЮ РОБОТИЗИРОВАННОЙ СИСТЕМЫ У ДЕТЕЙ С ЦЕРЕБРАЛЬНЫМ ПАРАЛИЧОМ

Марусич И. И.¹, Власенко С. В.^{1,2}

¹ГБУЗ РК «Научно-исследовательский институт детской курортологии, физиотерапии и медицинской реабилитации», 297412, ул. Маяковского 6, Евпатория, Россия

²Кафедра медицинской реабилитации, спортивной медицины и адаптивной физической культуры, 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: Власенко С. В., к.м.н., кафедра медицинской реабилитации, спортивной медицины и адаптивной физической культуры, Институт «Медицинская академия имени С.И. Георгиевского» ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского», e-mail: vlasenko65@rambler.ru

For correspondence: Vlasenko S.V., PhD, Department of Medical Rehabilitation, Sports Medicine and Adaptive Physical Education, Institute «Medical Academy named after S. I. Georgievsky» of Vernadsky CFU, e-mail: vlasenko65@rambler.ru

Information about authors:

Vlasenko S. V., <http://orcid.org/0000-0002-1417-1164>

Marusich I. I., <http://orcid.org/0000-0002-8347-5081>

РЕЗЮМЕ

Современная реабилитация детей с ДЦП с нарушением ходьбы предусматривает использование экзоскелетов. При этом у ребенка формируется новый стереотип ходьбы. Проведенное исследование у 28 детей со спастической диплегией показало высокую эффективность роботизированной системы в формировании навыка ходьбы. Проведенные 10 занятий в экзоскелете позволили статистически достоверно увеличить объем активных, пассивных движений, снизить спастичность. В результате по данным повторной стабилотрии отмечено увеличение опороспособности, равновесия. Таким образом, занятия в экзоскелете увеличили возможности ребенка к формированию навыка самостоятельной ходьбы.

Ключевые слова: детский церебральный паралич, экзоскелет, реабилитация.

THE EFFICIENCY OF TRAINING TO WALK WITH THE HELP OF A ROBOTIC SYSTEM IN CHILDREN WITH CEREBRAL PALSY

Marusich I. I.¹, Vlasenko S. V.^{1,2}

¹Research institute of children's balneology, physiotherapy and medical rehabilitation, Evpatoria, Russia

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

SUMMARY

Modern rehabilitation of walking in children with cerebral palsy involves the use of exoskeletons. As a result of the child's walking, a new stereotype of walking is formed. The study conducted in 28 children with spastic diplegia showed the high efficiency of the robotic system in the formation of walking skills. Conducted 10 sessions in the exoskeleton made it possible to statistically significantly increase the volume of active, passive movements, reduce spasticity. As a result, according to the data of repeated stabilometry, an increase in support ability and balance was noted. Thus, training in the exoskeleton increased the child's ability to develop the skill of independent walking.

Key words: cerebral palsy, exoskeleton, rehabilitation

Нарушения двигательных функций являются основными симптомами церебрального паралича; однако они также часто связаны с другими типами состояний, такими как: сенсорные, перцептивные, когнитивные, коммуникативные и поведенческие расстройства; эпилепсия; и вторичные нарушения опорно-двигательного аппарата. Клиническая картина двигательных симптомов при церебральном параличе разнообразна, и существует несколько классификаций этих симптомов [1]. Дети с ограниченными физическими возможностями часто имеют

ограниченные возможности в повседневной деятельности, что препятствует их физическому, психическому и социальному развитию. Поэтому реабилитация необходима для смягчения неблагоприятных последствий физических недостатков, повышения независимости и качества жизни пациентов [1-5].

За последнее десятилетие роботизированная реабилитация продемонстрировала потенциал для усиления традиционной физической реабилитации. Однако на сегодняшний день большинство роботизированных реабилитационных

устройств предназначены для взрослых пациентов, которые отличаются по своим потребностям по сравнению с педиатрическими пациентами, что ограничивает возможности устройств, поскольку потребности педиатрических пациентов должным образом не учитываются. Однако в настоящее время спрос на роботизированные устройства в детской реабилитации резко возрос, что связано как с увеличением детей-инвалидов, так и с высокой эффективностью данных автоматизированных приспособлений, увеличением доказательной базы по их применению [3; 6-12]. Сравниваются различные конструктивные факторы и условия лечения с использованием роботизированной технологии. Вес, безопасность, работоспособность и мотивация являются решающими факторами для успешного проектирования устройств для детей. В настоящее время наблюдается тенденция к разработке экзоскелетов, поскольку они могут помочь детям в повседневной жизни за пределами реабилитационных учреждений, способствуя более широкому внедрению технологии [10-12]. В связи с этим остается актуальным выработка единых подходов к назначению роботизированных устройств, показаний и противопоказаний, стандартизация тренингов (длительность, виды нагрузки, предварительная подготовка, дальнейшее послекурсовое обучение).

Целью настоящего исследования стало изучение эффективности обучения ходьбе с помощью роботизированной системы у детей с церебральным параличом.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Клинико-лабораторное исследование проведено на базе Евпаторийского детского клинического санатория МО РФ им. Е.П.Глинки в соответствии с протоколом, рассмотренным и одобренным комитетом по биоэтике. Заключение комиссии по биоэтике ГБУЗ РК «Научно-исследовательский институт детской курортологии, физиотерапии и медицинской реабилитации» от 14.12.2022, № 7.

Обследовано 28 детей мужского и женского пола (ОГ) в возрасте от 12 до 18 лет (средний возраст 14,5-1,4 лет) с диагнозом ДЦП, который был установлен в соответствии с критериями МКБ-10. От родителей или законных представителей всех детей получено информированное согласие на участие в данном исследовании. Контрольную группу (КГ) составили 18 детей, получавшие курсовое лечение в условиях специализированного санатория. Все исследованные группы репрезентативны по возрасту и полу.

Все больные находились в санатории. В курс лечения входили процедуры общего (пеллоид-

дотерапия, гидрокинезотерапия в бассейне) и местного (электростимуляция мышц, магнитотерапия, массаж) воздействий. Так же, со всеми пациентами проводилась лечебная гимнастика, направленная на укрепление мышц спины, мышц верхних и нижних конечностей. Все дети вертикализировались в специализированных приспособлениях, обучались ходьбе в брусках, ходунках. Длительность лечебной гимнастики не превышала 40 минут. Пациенты ОГ в течение 10 дней занимались в экзоскелете. Длительность занятия составила от 20–40 минут (в первый день) до 60 минут. Нахождение в экзоскелете не превышало 30 минут в день. Занятия в роботизированном комплексе проводились во второй половине дня после окончания всех санаторно-курортных методов лечения.

Больным, включенным в исследование проводилось клинико-неврологическое обследование. Изучалась мышечная сила (по пятибалльной шкале), уровень спастичности по шкале Эшуорта, Шкала Тинетти использовалась для оценки качества ходьбы и степени устойчивости.

Для оценки постуральной функции проводилось стабилметрическое исследование на комплексе «Стабилметрия Неврокор» Биокинект®, производства научно-медицинской фирмы «Неврокор» (Москва). Для анализа походки использованы следующие временные параметры: длительность цикла шага, периода опоры. Длительность цикла шага измеряли в секундах. Изучалась площадь проекции общего центра масс, средне-квадратичное отклонение центра тяжести, распределение весовой нагрузки на отделы стоп.

Статистический анализ данных проводили с использованием пакета программ STATISTICA v.6.0 (StatSoft Inc., USA). Сравнительный анализ количественных переменных произведен при помощи t-критерия Стьюдента для независимых выборок. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

У всех детей, включенных в исследование, был выявлен высокий уровень спастичности мышц ($3,27 \pm 0,05$), снижение силы антагонистов ($2,08 \pm 0,04$). Таким образом, к возрастному этапу 14,5-1,4 лет происходит формирование грубых расстройств в двигательной активности. Осложнением выявленных нарушений в движении является развитие контрактур, лечение которых возможно только оперативно.

Двигательные нарушения были выявлены как в подгруппе устойчивости – $9,53 \pm 0,16$ балл, так и в категории «Походка» $7,45 \pm 0,13$ балла. Самостоятельно ребенок не мог стоять, требовались

вспомогательные приспособления. При выполнении шаговых движений темп был значительно снижен с колебаниями во всех плоскостях, при поворотах возможны падения. Поза туловища при ходьбе была в положении «тройного сгибания» и разгибания. Ограничения двигательной активности и способности сохранять равновесие у больных ДЦП были значительными.

Двигательные нарушения, характерные для больных ДЦП, были подтверждены стабилотрией. Так, общий центр масс был смещен у всех обследуемых – кпереди (80%), за счет недостаточности трехглавой мышцы голени, уменьшении амплитуды подошвенного сгибания голеностопного сустава. В фазу закрытых глаз центр тяжести отклонен во всех плоскостях, преимущественно в саггитальной плоскости. Площадь статокинезиограммы превышала норму в обе фазы исследования и составила $576,44 \pm 53,63$ мм².

После лечения в санатории у пациентов ОГ снизился гипертонус мышц нижних конечностей ($2,48 \pm 0,08$ $p < 0,05$), что повлекло восстановление движений в суставах. У детей КГ показатели мышечного гипертонуса, силы мышц изменились недостоверно. Следует отметить достоверное увеличение показателей мышечной силы антагонистов ($3,38 \pm 0,11$), у пациентов ОГ после лечения и по сравнению с КГ ($2,10 \pm 0,08$, $p < 0,05$). Таким образом, санаторно-курортный этап реабилитации оказывает на двигательные возможности детей с ДЦП положительное влияние, однако добиться стойкого, положительного эффекта, выраженного в изменении клинических показателей, не удалось.

Положительная динамика в стоянии и качестве ходьбы у пациентов ОГ подтверждена результатами повторного тестирования. Походка стала возможной без вспомогательных приспособлений. Шаг стал симметричным, уменьшились колебания туловища во всех плоскостях. Удержание равновесия стало возможным без помощи рук или вспомогательных средств. Суммарный балл по субшкале «Походка» у пациентов ОГ составил $11,03 \pm 0,14$, что характеризовало степень нарушения походки как умеренную, в сравнении с пациентами КГ ($6,9 \pm 0,14$), у которых двигательные нарушения сразу после лечения оставались выраженными. Суммарный балл по субшкале «Общая устойчивость» в ОГ $13,23 \pm 0,14$, в сравнении с КГ ($7,14 \pm 0,24$, $p < 0,05$). Снижение показателей в КГ объясняется снижением мышечного тонуса и разбалансировкой привычных двигательных стереотипов, сформированных на протяжении многих лет жизни ребенка.

Данные клинического наблюдения подтверждаются результатами стабилотрического об-

следования. В ОГ достоверно выявлено смещение общего центра масс снизилось с 80% до 10%, средне-квадратичное отклонение тела уменьшилось на 25%, снизилась нагрузка на отделы стоп на 30%. Площадь статокинезиограммы уменьшилась достоверно только в ОГ с $576,44 \pm 53,63$ до $369,42 \pm 62,22$ мм². В КГ изменения этого показателя были статистически не значимы. В целом полученные данные говорят о более выраженном улучшении параметров устойчивости у пациентов ОГ относительно таковых КГ. У пациентов КГ также прослеживалось нарастание суммы баллов, которое не достигало степени статистической значимости ($p > 0,05$). В процессе реабилитации у детей формировался новый стереотип ходьбы, что позволило им передвигаться на большие расстояния, повысилась двигательная и психическая активность ребенка.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Нарушения двигательной активности у детей с ДЦП представляют собой одну из ведущих проблем, препятствующей полноценной реабилитации, формированию навыков самообслуживания, социализации ребенка в обществе [1]. Нарушения в функции стояния и ходьбы у детей с ДЦП встречается практически в 100%, что является основным препятствием к формированию самостоятельного передвижения, социальной адаптации [2; 5; 6; 9]. Необходимо осуществлять комплекс реабилитационных мероприятий. Традиционно, курсовое лечение, помимо разнообразных бальнео-физиотерапевтических методов лечения, включало занятия лечебной гимнастикой с инструктором ЛФК. Однако эффективность данных комплексов оказалась низкой. Добиваясь снижения патологического мышечного тонуса, восстановления движений в суставах конечностей получить клинический результат, выражающийся в увеличении самостоятельной двигательной активности ребенка, не удавалось. Поэтому поиск новых форм и методов двигательной реабилитации является актуальным. Роботехнические приспособления, активная эксплуатация которых началась сравнительно недавно, показали обнадеживающие результаты. Средство внешнего управления движениями с заданными индивидуальными параметрами, которым является экзоскелет «Экзоатлет», позволяет решать целый комплекс проблем: снижение спастичности, развитие силы мышц, подавление патологической импульсации от структур центральной нервной системы, формирование нового стереотипа стояния и ходьбы. Включение в процесс комплексной реабилитации пациентов с ДЦП ходьбы в экзоскелете «Экзоатлет» под-

тверждается тестированием статолокомоторной сферы по шкале Тинетти: нормализуется походка и процесс стояния, что в два раза превышает показатели в КГ. Включение в процесс реабилитации ходьбы в экзоскелете «Экзоатлет», приводит к более выраженной двигательной и социальной реабилитации пациента, восстановлению нарушенной функции равновесия.

Одним из положительных эффектов от применения экзоскелета является положительный эмоциональный фон у ребенка, от появления возможности самостоятельно передвигаться в открытом пространстве. Изменчивость в визуально-пространственном потоке, что является важной проблемой наземной ходьбы, которая решается с помощью экзоскелета. Таким образом, самостоятельная ходьба с заданными физиологическими параметрами внешнего воздействия по открытым пространствам способствует стимулированию мотивации, повышению двигательной и психической активности. В результате проведенного лечения с включением 10 занятий с экзоскелетом достигнута стойкая положительная динамика в формировании физиологического движения, характерного для здорового ребенка. Вертикализация туловища, полноценное разгибание в тазобедренном, коленном суставах, опора на полную стопу оказали влияние на ходьбу ребенка, которая стала более устойчивой, без колебаний, стала возможной на длительные расстояния. Положительная двигательная динамика нашла свое отражение в показателях при исследовании на стабилметрическом комплексе. Таким образом, включение ходьбы в экзоскелете в курс санаторно-курортного лечения позволит значительно повысить эффективность реабилитационных мероприятий в целом.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

Финансирование. Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-15-20035, <https://rscf.ru/project/22-15-20035/>.

Funding. The research was funded by a grant from the Russian Science Foundation № 22-15-20035, <https://rscf.ru/project/22-15-20035/>.

ЛИТЕРАТУРА

1. Sadowska M., Sarecka-Hujar B., Kopyta I. Cerebral Palsy: Current Opinions on Definition, Epidemiology, Risk Factors, Classification and Treatment Options. *Neuropsychiatr. Dis. Treat.* 2020;16:1505–1518. doi:10.2147/NDT.S235165.
2. Таппахов А. А., Конникова Э. Э., Аргунова О. Г., Никаноров В. Н., Дмитриева Н. Г. Стабилометрия в диагностике и лечении острых нарушений мозгового кровообращения: пилотное исследование. Материалы III Республиканской Научно-практической конференции «Совершенствование Оказания медицинской помощи пациентам с сосудистыми заболеваниями в Республике Саха (Якутия)». 2016;43-46.
3. Balgayeva M., Bulekbayeva S. Effectiveness of the combined use of robotic kinesiotherapy and botulinum therapy in the complex rehabilitation of children with cerebral palsy. *Asian J. Pharm. Clin. Res.* 2018;11:360364. doi:10.22159/ajpcr.2018.v11i9.26541.
4. Blümle A., Maurer C., Schweigart G., Mergner T. A Cognitive Intersensory Interaction Mechanism in Human Postural Control. *Exp Brain Res.* 2006;173(3):357-363. doi:10.1007/s00221-006-0384-z.
5. Физическая реабилитация инвалидов с поражением опорно-двигательной системы. Под ред. Евсеева С. П., Курдыбайло С. Ф. М.; 2010.
6. Витензон А. С., Миронов Е. М., Петрушанская К. А., Скоблин А. А. Искусственная коррекция движений при патологической ходьбе. М.; 1999.
7. Доценко В. И. Перестройка патологического двигательного стереотипа с ремоделированием «правильных» движений у ортопедоневрологических больных использованием современных аппаратных средств. Поликлиника. 2011;1:104-109.
8. Клинический анализ движений. Стабилометрия. Под ред. Скворцова Д. В. М.: Изд-во Антидор; 2000.
9. Johnson C. A., Burridge J. H., Strike P. W., Wood D. E., Swain I. D. The effect of combined use of botulinum toxin type A and functional electric stimulation in the treatment of spastic drop foot after stroke: a preliminary investigation. *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation (Internet).* Elsevier BV. 2004;85(6):902-909. doi:10.1016/j.apmr.2003.08.081.
10. Nassour J., Zhao G., Grimmer M. Soft pneumatic elbow exoskeleton reduces the muscle activity, metabolic cost and fatigue during holding and carrying of loads. *Sci. Rep.* 2021;11:12556. doi:10.1038/s41598-021-91702-5.
11. Pool D., Elliott C., Bear N., Taylor N., Valentine J. Locomotor training in children with cerebral palsy: Is Functional Electrical Stimulation integrated robotic training effective? A randomized controlled trial. *Dev. Med. Child Neurol.* 2020;62:53–60. doi:10.1111/dmcn.14746.

12. Petrarca M., Frascarelli F., Carniel S., Colazza A., Minosse S., Tavernese E., Castelli E. Robotic-assisted locomotor treadmill therapy does not change gait pattern in children with cerebral palsy. *Int. J. Rehabil. Res.* 2021;44:69–76. doi:10.1097/MRR.0000000000000451.

REFERENCES

1. Sadowska M., Sarecka-Hujar B., Kopyta I. Cerebral Palsy: Current Opinions on Definition, Epidemiology, Risk Factors, Classification and Treatment Options. *Neuropsychiatr. Dis. Treat.* 2020;16:1505–1518. doi:10.2147/NDT.S235165.

2. Tappakhov A. A., Konnikova E. E., Argunova O. G., Nikanorov V. N., Dmitrieva N. G. Stabilometry in the diagnosis and treatment of acute disorders of cerebral circulation: a pilot study. Materials of the III Republican Scientific and Practical Conference «Improving the Provision of Medical Aid to Patients with Vascular Diseases in the Republic of Sakha (Yakutia)». 2016;43-46. (In Russ.).

3. Balgayeva M., Bulekbayeva S. Effectiveness of the combined use of robotic kinesiotherapy and botulinum therapy in the complex rehabilitation of children with cerebral palsy. *Asian J. Pharm. Clin. Res.* 2018;11:360364. doi:10.22159/ajpcr.2018.v11i9.26541.

4. Blümle A, Maurer C, Schweigart G, Mergner T. A Cognitive Intersensory Interaction Mechanism in Human Postural Control. *Exp Brain Res.* 2006;173(3):357-363. doi:10.1007/s00221-006-0384-z.

5. Physical rehabilitation of disabled people with musculoskeletal system damage. Edited by Evseeva S. P., Kurdybailo S. F. M.; 2010. (In Russ.).

6. Vitenzon A. S., Mironov E. M., Petrushanskaya K. A., Skoblin A. A. Artificial correction of movements in pathological walking. M.; 1999. (In Russ.).

7. Dotsenko V. I. Rebuilding pathological motor stereotype with remodeling of «correct» movements in orthopedic neurological patients using modern hardware. *Poliklinika.* 2011;1:104-109. (In Russ.).

8. Clinical analysis of movements. Stabilometry. Edited by Skvortsova D. V. M.: Izd-vo Antidor; 2000. (In Russ.).

9. Johnson C. A., Burridge J. H., Strike P. W., Wood D. E., Swain I. D. The effect of combined use of botulinum toxin type A and functional electric stimulation in the treatment of spastic drop foot after stroke: a preliminary investigation. No commercial party having a direct financial interest in the results of the research supporting this article has or will confer a benefit upon the authors or upon any organization with which the authors are associated. *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation (Internet).* Elsevier BV. 2004;85(6):902-909. doi:10.1016/j.apmr.2003.08.081.

10. Nassour J., Zhao G., Grimmer M. Soft pneumatic elbow exoskeleton reduces the muscle activity, metabolic cost and fatigue during holding and carrying of loads. *Sci. Rep.* 2021;11:12556. doi:10.1038/s41598-021-91702-5.

11. Pool D., Elliott C., Bear N., Taylor N., Valentine J. Locomotor training in children with cerebral palsy: Is Functional Electrical Stimulation integrated robotic training effective? A randomized controlled trial. *Dev. Med. Child Neurol.* 2020;62:53–60. doi:10.1111/dmcn.14746.

12. Petrarca M., Frascarelli F., Carniel S., Colazza A., Minosse S., Tavernese E., Castelli E. Robotic-assisted locomotor treadmill therapy does not change gait pattern in children with cerebral palsy. *Int. J. Rehabil. Res.* 2021;44:69–76. doi:10.1097/MRR.0000000000000451.

ОСОБЕННОСТИ СТРОЕНИЯ ЖЕЛУДКА ПОЛОВОЗРЕЛЫХ КРЫС ПРИ РЕГУЛЯРНОМ ВВЕДЕНИИ ЭНЕРГЕТИЧЕСКИХ НАПИТКОВ НА ФОНЕ ФИЗИЧЕСКОЙ НАГРУЗКИ И БЕЗ НЕЁ

Никитина О. В.

Кафедра нормальной анатомии, 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: Никитина Ольга Витальевна, ассистент кафедры нормальной анатомии, Институт «Медицинская академия им. С. И. Георгиевского» ФГАОУ ВО «КФУ им.В. И. Вернадского», e-mail: olga_simferopol@mail.ru

For correspondence: Olga V. Nikitina, Department of Human Anatomy, Institute «Medical Academy named after S.I. Georgievsky» of Vernadsky CFU, e-mail: olga_simferopol@mail.ru

Information about authors:

Nikitina O. V., <https://orcid.org/0000-0002-8688-1608>

РЕЗЮМЕ

В настоящее время энергетические напитки по частоте потребления занимают одно из ведущих мест во многих странах мира. Дискуссии о вреде или пользе энергетиков ведутся учеными все чаще. Доказано, что энергетические напитки оказывают негативное влияние на некоторые органы и системы, однако их влияние на желудочно-кишечный тракт изучено недостаточно. Большой практический интерес представляет изучение комплексного влияния энергетических напитков на желудочно-кишечный тракт, и, в частности, на желудок при регулярном, длительном употреблении энергетиков, а также при их употреблении на фоне физической нагрузки. Цель данного исследования установить изменения морфометрических показателей желудка половозрелых крыс при систематическом употреблении энергетических напитков на фоне физической нагрузки и без нее. Эксперимент был проведен на 54 четырехмесячных самцах крыс. Животным экспериментальных групп ежедневно на протяжении 10, 30 и 60 дней интрагастрально вводили энергетический напиток в объеме 10 мл/кг. Часть из этих животных дополнительно подвергались физической нагрузке, моделируемой на тредбане. Контрольной группе животных вводили дистиллированную воду в таком же объеме. Полученные морфометрические показатели компонентов слизистой оболочки желудка в различных экспериментальных группах показала, что после десятидневного введения энергетического напитка отсутствуют какие-либо значительные структурные изменения у крыс, по сравнению с контрольной группой животных. Результаты исследования в группах крыс, которым вводили энергетический напиток в течении 30 и 60 дней показали значительное увеличение толщины слизистой оболочки, уменьшение глубины желудочных желез, перераспределение главных и париетальных клеток. Такие преобразования в слизистой оболочке желудка приводят к повышению концентрации соляной кислоты и повышенному слизиобразованию. Физические нагрузки несколько снижают негативное воздействие энергетических напитков на слизистую оболочку желудка, что связано с ускорением биохимических процессов в организме во время занятий спортом, увеличением темпа выведения кофеина, стабилизации содержания глюкозы в крови.

Ключевые слова: желудок, морфология, энергетический напиток, физическая нагрузка, крысы

PECULIARITIES OF MATURE RATS' GASTRIC STRUCTURE AFTER REGULAR INTRODUCING ENERGY DRINKS WITH AND WITHOUT PHYSICAL ACTIVITY

Nikitina O. V.

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

SUMMARY

Currently, the energy drinks are among the leaders on consumption in many countries of the world. The debates on the dangers or benefits of energy drinks became frequent. It has been proved that energy drinks have a negative effect on some organs and systems, but their influence on the gastrointestinal tract has not been studied enough. Of great practical interest is the study of the complex effect of energy drinks on the gastrointestinal tract, and, in particular, on the stomach with regular, long-term use of energy drinks, as well as their use combined with physical activity. The purpose of this study is to find out the changes in the morphometric parameters of the stomach in mature rats after the regular use of energy drinks combined with physical activity and without it. The experiment was carried out on 54 four-month-old male rats. The animals of the experimental groups were injected intragastrically daily the energy drink in a volume of 10 ml/kg for 10, 30 and 60 days. Some of these animals were additionally subjected to physical activity, modeled on a treadmill. The control group of animals was injected with distilled water in the same volume. The obtained morphometric parameters of the components of the gastric mucosa in various experimental groups showed that after a ten-day administration of the energy drink, there are no significant structural changes in rats, compared with the control group of animals. The results of the study in groups of rats that were injected the energy drink for 30

and 60 days showed a significant increase in the thickness of the mucous membrane, a decrease in the depth of the gastric glands, and a redistribution of the chief and parietal cells. Such transformations in the gastric mucosa lead to an increase in the concentration of hydrochloric acid and increased mucus formation. Physical activity somewhat reduces the negative impact of energy drinks on the gastric mucosa, which is associated with the acceleration of biochemical processes in the body during sports, an increase in the rate of caffeine excretion, and stabilization of blood glucose.

Key words: stomach, morphology, energy drink, physical load, rats.

В последнее десятилетие энергетические напитки занимают одно из ведущих мест во многих странах мира по частоте употребления. Этому способствует ускорение ритма жизни в крупных городах, реклама в средствах массовой информации, растущий ассортимент и повышение узнаваемости. По мнению некоторых специалистов, интерес к энергетикам связан с последствиями пандемии. Многие были вынуждены работать дистанционно из дома. Что привело к нарушению биологических ритмов, эмоциональному перевозбуждению, психическому и физическому дискомфорту. Чтобы чувствовать себя бодрыми и полными сил люди прибегают к помощи энергетических напитков. Впервые эти напитки появились на рынке в 80-х годах XX столетия и постепенно приобрели большую популярность. Так, по данным «Анализа рынка энергетических напитков в России», в 2021 г., импорт энергетических напитков в Россию увеличился на 43,5% - с 44,5 до 63,9 млн л. Производители данных напитков утверждают, что их продукт содержит натуральные ингредиенты, которые повышают внимание, энергию, концентрацию и безвредны для здоровья. Однако, доказано негативное влияние энергетических напитков на центральную нервную систему [1; 2], сердечно-сосудистую систему [3], мочевую систему [4; 5], пищеварительную систему [6; 7; 8]. Также в научной литературе до настоящего времени ведутся дискуссии о негативном влиянии энергетических напитков на организм и в частности на пищеварительную систему, высказываются противоположные мнения. Кроме того, часто энергетики ассоциируются со спортом, что связано с популярностью их употребления во время физических нагрузок. В целом данное научное направление является актуальным и целесообразно изучить возможные изменения в тканях желудка крыс при введении энергетических напитков.

Цель исследования: установить возможные изменения морфометрических показателей желудка половозрелых крыс при систематическом употреблении энергетических напитков на фоне физической нагрузки и без нее.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследование проведено на 54 четырехмесячных самцах белых крыс линии Вистар.

Животные были распределены на три группы: 1 – контрольная группа животных, которым ежедневно интрагастрально вводили дистиллированную воду в объеме 10 мл/кг; 2 – 1-я экспериментальная группа животных, которые ежедневно получали энергетический напиток «TORNADO Energy» путем интрагастрального введения в объеме 10 мл/кг; 3 – 2-я экспериментальная группа животных с ежедневной дополнительной физической нагрузкой (бег на тредбане в течение 10 минут, ежедневно) в сочетании с ежедневным введением энергетического напитка в аналогичном объеме. Животные каждой группы были разделены на подгруппы в зависимости от кратности введения энергетического напитка: 10, 30 и 60 дней. Из эксперимента крыс выводили путем декапитации под эфирным наркозом.

После вскрытия брюшной полости выделяли желудок. После фиксации в нейтральном формалине материал дегидратировали в автоматическом гистопротессоре Logos (Milestone, Италия), заливали в парафиновые блоки и изготавливали срезы толщиной 4 мкм. Полученные препараты окрашивали гематоксилином и эозином. Полученные гистологические препараты переводили в цифровой формат с использованием сканера препаратов Aperio CS2 (Leica Biosystems, Германия) с последующей визуализацией с использованием программного обеспечения Aperio ImageScope. Морфометрический анализ включал измерение толщины слизистой оболочки, измерение высоты желудочных желез, подсчет количества главных, париетальных и добавочных клеток в 10 полях зрения (при увеличении в 1000 раз). Полученные данные обрабатывались статистически с использованием теста Манна-Уитни, считая различия достоверными при вероятности ошибки $p \leq 0,05$.

Исследования проводились в гистологической лаборатории с иммуногистохимией и электронной микроскопией Центральной научно-исследовательской лаборатории Института «Медицинской академии имени С. И. Георгиевского» ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В. И. Вернадского».

РЕЗУЛЬТАТЫ

Результаты исследования представлены в таблице 1.

Таблица 1

Морфометрические показатели слизистой желудка крыс контрольной и экспериментальной групп

Группа	Толщина слизистой оболочки	Высота желез	Кол-во главных клеток	Кол-во париетальных клеток	Кол-во добавочных клеток
Контроль 10 дн.	625,00[658;701]	448,00[407;487]	8,00 [5;10]	4,33[2;7]	1,33 [1;2]
1-я эксп. 10 дн.	652,00[554;704]	450,00[355;605]	7,50 [5;8]	4,16 [2;6]	1,33 [1;2]
2-я эксп. 10 дн.	661,00[644;677]	469,00[418;505]*	7,66 [4;8]	4,50 [2;6]	1,50 [1;2]
Контроль 30 дн.	657,00[602;687]	583,00[555;605]	6,16 [4;6]	3,66 [1;5]	1,50 [1;2]
1-я эксп. 30 дн.	696,00[607;709]*	433,00[372;502]*	5,33 [3;7]*	8,16 [5;10]*	2,80 [1;5]*
2-я эксп. 30 дн.	692,00[684;705]*	444,00[356;608]*	6,66 [3;6]*	6,00 [2;9]*	2,50 [2;3]*
Контроль 60 дн.	645,00[547;807]	544,00[366;612]	7,16 [3;9]	4,50 [3;7]	2,16 [1;3]
1-я эксп. 60 дн.	829,00[789;941]*	363,00[339;417]*	4,33 [2;7]*	8,66 [8;12]*	5,00 [3;5]*
2-я эксп. 60 дн.	798,00[789;807]*	386,00[332;405]*	4,00 [2;6]*	8,33 [7;9]*	3,00 [1;4]*

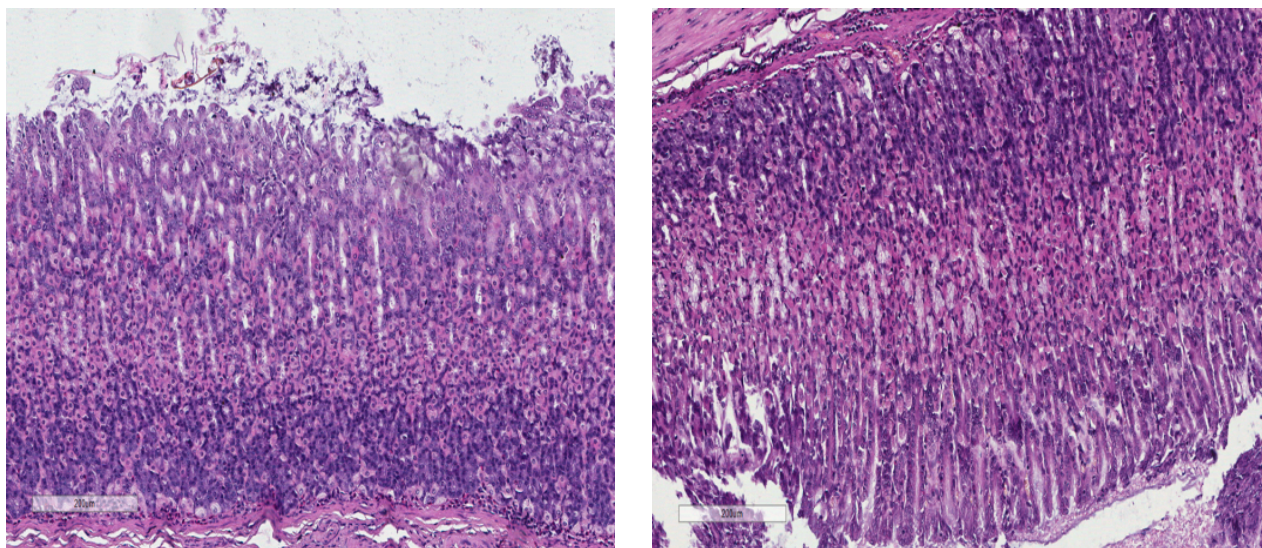
Примечание: * - $p \leq 0,05$ в сравнении с показателями крыс контрольной группы.

Статистическая обработка полученных результатов в экспериментальной группе крыс, которым вводили энергетический напиток на протяжении десяти дней, не показал достоверных отличий по всем исследуемым параметрам. В группе, где животные помимо введения энергетического напитка, подвергались дополнительной физической нагрузке в течение 10 дней, толщина слизистой оболочки увеличилась на 1,38% ($p \geq 0,05$) по сравнению с контрольной группой, глубина желудочных желез увеличилась на 4,92% ($p \leq 0,05$). При исследовании главных, париетальных и добавочных клеток в этой группе животных, также выявлено незначительное увеличение количества добавочных клеток с неизменным количеством париетальных и главных.

Параметры слизистой оболочки у крыс, которым вводили энергетический напиток в течение 30 дней более выражены по сравнению с таковыми при десятидневном введении энергетика. Толщина слизистой оболочки увеличивается на 5,94% ($p \leq 0,05$), а глубина желудочных желез уменьшается на 34,64% ($p \leq 0,05$) по сравнению с контрольной группой (рис. 1а, 1б). Соотношение главных и париетальных клеток значительно изменяется – в 1,5 раза уменьшается количество главных клеток с соответствующим увеличением количества париетальных клеток. Так же на-

блюдается увеличение количества добавочных клеток, вырабатывающих слизь, почти в 2 раза. В группе крыс, которые подвергались, помимо введения энергетического напитка, физическим нагрузкам, наблюдаются несколько менее выраженные изменения. Так, толщина слизистой оболочки увеличилась на 5,33% ($p \leq 0,05$), глубина желудочных желез уменьшилась на 31,30% ($p \leq 0,05$), количество главных клеток уменьшилось на 13,64% ($p \leq 0,05$), количество париетальных клеток увеличилось вдвое, количество добавочных клеток увеличилось на 66,67% ($p \leq 0,05$).

Наиболее значимые изменения в структуре слизистой оболочки желудка наблюдаются у животных, которым энергетический напиток вводили в течение 60 дней. Увеличивается толщина слизистой оболочки желудка, как у крыс, которые не подвергались дополнительной физической нагрузке, так и с дополнительной физической нагрузкой на 28,53% и 23,72% ($p \leq 0,05$) соответственно. Многие париетальные клетки были деформированы, имели признаки вакуольной дистрофии, часто встречаются двуядерные формы (рис. 2а, 2б). Уменьшается глубина желудочных желез на 49,86% ($p \leq 0,05$) у животных без дополнительной нагрузки и на 40,93% ($p \leq 0,05$) у животных, которые подвергались дополнительной физической нагрузке. Значи-



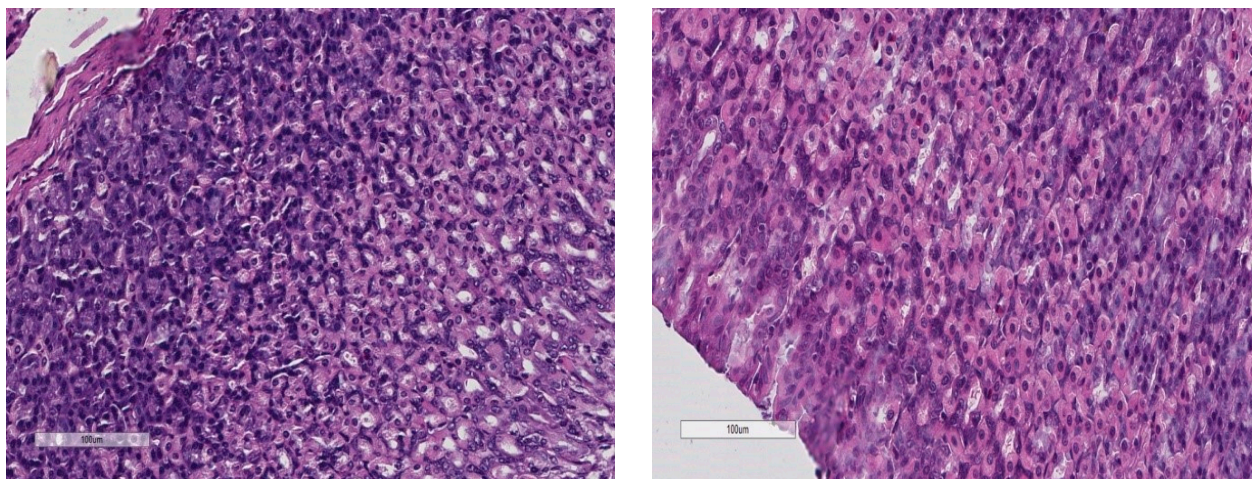
А

Б

Рис. 1. Слизистая оболочка железистой части желудка крыс контрольной (А) и 1-й экспериментальной групп (Б). Длительность эксперимента 30 дней. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. х100

тельно изменяется количество клеток желудочных желез. Более чем в два раза уменьшается количество главных клеток, при этом вдвое увеличивается количество париетальных клеток. Увеличение толщины слизистого слоя происходит в основном за счет добавочных клеток, так

как их количество увеличивается в четыре раза. При этом, у крыс, которые подвергались дополнительной физической нагрузке, увеличение количества добавочных клеток почти в два раза меньше, чем у животных не подвергавшихся дополнительной нагрузке.



А

Б

Рис. 2. Слизистая оболочка железистой части желудка крыс контрольной (А) и 1-й экспериментальной групп (Б). Длительность эксперимента 60 дней. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. х200

ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные данные показывают, что при ежедневном введении энергетического напитка в течении 10 дней появляются незначительные изменения в структуре слизистой оболочки желудка, как в группе животных с дополнитель-

ной физической нагрузкой, и без нее. Изучаемые показатели желудка изменялись незначительно и недостоверно в сравнении с контролем. Увеличение кратности введения энергетика до 30-ти и 60-тиднев показало достоверные изменения по всем исследуемым параметрам. Одно из наиболее выраженных преобразований – это

значительное увеличение толщины слизистой оболочки, в основном за счет добавочных клеток, продуцирующих слизь. Значительное увеличение выработки слизи может быть ответом на негативное влияние компонентов энергетического напитка. При изучении влияния на желудочно-кишечный тракт такого энергетика, как «PowerHorse» ученые также отметили увеличение выработки слизи железами желудка при введении энергетического напитка в течение 8 недель [9; 10]. Также происходит перераспределение количества главных и париетальных клеток, с преобладанием париетальных, которые секретируют соляную кислоту. Такое сильное увеличение количества париетальных клеток приводит к повышению концентрации соляной кислоты и сдвигу pH желудочного сока в кислую сторону. Повышение кислотности возможно связано с таким компонентом энергетика, как таурин [11]. Менее выраженные изменения в структуре слизистой желудка в группах крыс, которые подвергались дополнительной физической нагрузке, возможно связано с ускорением биохимических процессов в организме во время занятий спортом – ускорение эвакуации содержимого желудка, увеличение темпа выведения кофеина, стабилизации содержания глюкозы в крови [12].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследование показало, что в целом энергетические напитки оказывают негативное воздействие на слизистую оболочку желудка. Происходит ряд изменений в слизистой оболочке: увеличение ее толщины, уменьшение глубины желудочных желез, перераспределение количества главных и париетальных клеток. Данные преобразования проявляются в повышении кислотопродуцирующей и слизиобразующей функции. Эти изменения могут свидетельствовать о развитии компенсаторно-приспособительной реакции, направленной на поддержание и восстановление нарушенной функции, и предотвращение дальнейшего негативного воздействия компонентов энергетического напитка. Физические нагрузки несколько снижают негативное воздействие энергетических напитков на слизистую оболочку желудка.

Финансирование. Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 20-315-90082.

Funding. The reported study was funded by RFBR, project number 20-315-90082.

ЛИТЕРАТУРА

1. Трофимов Н. С., Кутя С. А., Кривенцов М. А., Мороз Г. А., Гафарова Э. А., Эннанов Э. Х.,

Никитина О. В., Алексеев М. А., Андреева О. В. Влияние энергетических напитков на здоровье человека. Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины. 2019;9(3):75-81.

2. Cerimele J. M., Stern A. P., Jutras-Aswad D. Psychosis following excessive ingestion of energy drinks in a patient with schizophrenia. *Am. J. Psychiatry*. 2010;167:353. doi:10.1176/APPI.AJP.2009.09101456.

3. Оплетев В. Ф., Деткова Е. А. Влияние энергетических напитков на сердечно-сосудистую систему подростков. *Вятский медицинский вестник*. 2009;1:103-104.

4. Greene E., Oman K., Lefler M. Energy drink-induced acute kidney injury. *Ann. Pharmacother*. 2014;48(10):1366-1370. doi:10.1177/1060028014541997.47.

5. Kelsey D., Berry A. J., Swain R. A. A Case of Psychosis and Renal Failure Associated with Excessive Energy Drink Consumption. *Case Reports in Psychiatry*. 2019;3954161. doi:10.1155/2019/3954161.

6. Kutia S. A., Kriventsov M. A., Moroz G. A., Gafarova E. A., Trofimov N. S. Implications of energy drink consumption for hepatic structural and functional changes: a review. *Nutrition and Food Science*. 2019;50(5):937-953. doi:10.1108/NFS-08-2019-0260.

7. Ayuob N., ElBeshbeishy R. Impact of an energy drink on the structure of stomach and pancreas of albino rat: can Omega-3 provide a protection? *PLOS ONE*. 2016;11(2):1-15. doi:10.1371/journal.pone.0149191.

8. Amira A., Sadika M. Effect of a caffeinated energy drink and its withdrawal on the submandibular salivary gland of adult male albino rats: A histological and immunohistochemical study. *Al-Azhar Dental Journal*. 2016;3(1):55-60. doi:10.21608/EJH.2018.7518

9. Nasra A., Rana E. Impact of an energy drink on the structure of stomach and pancreas of albino rat: can Omega-3 provide a protection? *PLOS ONE*. 2016;11(2):1-15.

10. Maini R., Wawryk-Gavda E., Sławiński M., Halczuk P., Cichacz-Kwiatkowska B., Jodłowska-Jędrych B. Overproduction of gastric mucus as a mechanism of stomach's mucosa protection during energy drinks consumption in Wistar rats. *Postępy higieny i medycyny doświadczalnej*. 2018;72:376-380.

11. Huang K. H., Chang C. C., Ho J. D., Lu R. H., Tsai L. H. Role of taurine on acid secretion in the rat stomach. *J. Biomed. Sci*. 2011;18:11. doi:10.1186/1423-0127-18-11.

12. Штерман С. В., Сидоренко М. Ю. Энергетические напитки в спортивном питании. *Технология*. 2018;1:40-46.

REFERENCES

1. Trofimov N. S., Kutia S. A., Kriventsov M. A., Moroz G. A., Gafarova E. A., Ennanov E. K., Nikitina O. V., Alekseyev M. A., Andreyeva O. V. Energy drinks and their impact to the human health. *Crimean journal of experimental and clinical medicine*. 2019;9(3):75-81. (In Russ.).
2. Cerimele J. M., Stern A. P., Jutras-Aswad D. Psychosis following excessive ingestion of energy drinks in a patient with schizophrenia. *Am. J. Psychiatry*. 2010;(167): 353. doi: 10.1176/APPI.AJP.2009.09101456.
3. Opletaev V. F., Detcova E. A. The effect of energy drinks on the cardiovascular system of adolescents. *Vyatka Medical Bulletin*. 2009;1:103-104. (In Russ.).
4. Greene E., Oman K., Lefler M. Energy drink-induced acute kidney injury. *Ann. Pharmacother*. 2014;48(10):1366-1370. doi:10.1177/1060028014541997.47.
5. Kelsey D., Berry A.J., Swain R.A. A Case of Psychosis and Renal Failure Associated with Excessive Energy Drink Consumption. *Case Reports in Psychiatry*. 2019;3954161. doi: 10.1155/2019/3954161.
6. Kutia S. A., Kriventsov M. A., Moroz G. A., Gafarova E. A., Trofimov N. S. Implications of energy drink consumption for hepatic structural and functional changes: a review. *Nutrition and Food Science*. 2019;50(5):937-953. doi:10.1108/NFS-08-2019-0260.
7. Ayuob N., ElBeshbeishy R. Impact of an energy drink on the structure of stomach and pancreas of albino rat: can Omega-3 provide a protection? *PLOS ONE*. 2016;11(2):1-15. doi: 10.1371/journal.pone.0149191
8. Amira A., Sadika M. Effect of a caffeinated energy drink and its withdrawal on the submandibular salivary gland of adult male albino rats: A histological and immunohistochemical study. *Al-Azhar Dental Journal*. 2016;3(1):55-60. doi: 10.21608/EJH.2018.7518.
9. Nasra A., Rana E. Impact of an energy drink on the structure of stomach and pancreas of albino rat: can Omega-3 provide a protection? *PLOS ONE*. 2016;11(2):1-15.
10. Maini R., Wawryk-Gawda E., Sławiński M., Halczuk P., Cichacz-Kwiatkowska B., Jodłowska-Jędrych B. Overproduction of gastric mucus as a mechanism of stomach's mucosa protection during energy drinks consumption in Wistar rats. *Postępy higieny i medycyny doświadczalnej*. 2018;72:376-380.
11. Huang K. H., Chang C. C., Ho J. D., Lu R. H., Tsai L. H. Role of taurine on acid secretion in the rat stomach. *J. Biomed. Sci*. 2011;18:11. doi:10.1186/1423-0127-18-11.
12. Shterman S. V., Sidorenko M. Y. Energy drinks in sports nutrition. *Technology*. 2018;1:40-46.

ОЦЕНКА ДИНАМИКИ КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ У БОЛЬНЫХ ДЕТСКИМ ЦЕРЕБРАЛЬНЫМ ПАРАЛИЧОМ ПОД ВЛИЯНИЕМ ДЕЛЬФИНОТЕРАПИИ

Отинов М. Д.

Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Республики Крым «Научно-исследовательский институт детской курортологии, физиотерапии и медицинской реабилитации» (ГБУЗ РК НИИ ДКФ и МР), 297412, ул. Маяковского 6, Евпатория, Россия

Для корреспонденции: Отинов М. Д. ГБУЗ РК «Научно-исследовательский институт детской курортологии, физиотерапии и медицинской реабилитации», e-mail: dr_otinov@inbox.ru

For correspondence: Otinov M. D., Research Institute of Children's Balneology, Physiotherapy and Medical Rehabilitation, e-mail: dr_otinov@inbox.ru

Information about authors:

Otinov M. D., <https://orcid.org/0000-0002-0984-0773>

РЕЗЮМЕ

Реабилитация детей с детским церебральным параличом (ДЦП) требует применения методов обладающих влиянием, как на патологические синдромы, так и на процессы нейропластичности. Проведенное исследование у 24 детей со спастической диплегией показало высокую эффективность дельфинотерапии в улучшении их двигательных возможностей. Проведенные 10 занятий с дельфинами позволили статистически достоверно увеличить объем активных, пассивных движений, снизить спастичность, улучшить моторику конечностей. Положительная клиническая динамика подтверждена изменениями показателей нейротрофических факторов. Таким образом, положительные эффекты дельфинотерапии, оказывают влияние на восстановление нервно-мышечного аппарата, как на периферическом уровне, так и восстановлении функционирования нервной системы ребенка.

Ключевые слова: детский церебральный паралич, дельфинотерапия, реабилитация, нейротрофические факторы.

EVALUATION OF THE DYNAMICS OF CLINICAL AND LABORATORY PARAMETERS IN PATIENTS WITH INFANTRY CEREBRAL PALSY UNDER THE INFLUENCE OF DOLPHIN THERAPY

Otinov M. D.

Research institute of children's balneology, physiotherapy and medical rehabilitation, Evpatoria, Russia

SUMMARY

Rehabilitation of children with cerebral palsy (CP) requires the use of methods that have an impact on both pathological syndromes and neuroplasticity processes. A study conducted in 24 children with spastic diplegia showed the high efficiency of dolphin therapy in improving their motor abilities. Conducted 10 sessions with dolphins made it possible to statistically significantly increase the volume of active, passive movements, reduce spasticity, and improve the motor skills of the limbs. Positive clinical dynamics was confirmed by changes in the parameters of neurotrophic factors. Thus, the positive effects of dolphin therapy affect the restoration of the neuromuscular apparatus, both at the peripheral level, and the restoration of the functioning of the child's nervous system.

Key words: cerebral palsy, dolphin therapy, rehabilitation, neurotrophic factors.

Согласно современным концепциям вопросы этиопатогенеза и применения различных методов лечения различных заболеваний, первопричиной которых является патология центральной нервной системы (ЦНС), рассматриваются с точки зрения механизмов нейропластичности [1; 2]. Используя различные лечебные методики и воздействуя на процессы нейропластичности, мы способствуем одновременному восстановлению практически всех имеющихся нарушений: не только двигательных, но и психических дисфункций. Таким образом, изучение эффективности методов реабилитации

необходимо рассматривать не только с позиции клинической эффективности, подтверждаемой определенными функциональными методами обследования (электроэнцефалографией, электромиографией и др.), но и с позиции влияния метода на процессы нейропластичности в нервной системе.

Реабилитация больных с детским церебральным параличом (ДЦП) требует применения методик, воздействующих на различные патологические синдромы заболевания. Поэтому продолжают поиски эффективных комбинаций реабилитационных программ [3; 4].

Методы, которые используют животных в качестве инструментов для улучшения физических, психических и социальных функций, а также образовательных и социальных аспектов человека, называются вмешательствами с участием животных.

Дельфинотерапия (ДТ) - вспомогательный метод коррекции и реабилитации, основанный на взаимоотношении человека и дельфина и направленный на улучшение двигательной, когнитивной, социальной, речевой, поведенческой и эмоционально-волевой сфер. Ученые обнаружили, что участие дельфинов в образовательном процессе повышает способности детей в процессе обучения. С 1981 года опубликовано большое количество научных публикаций, что касается ДТ, как нового метода обучения. Один из основных аргументов в пользу ДТ — физиологический эффект при помощи ультразвука. Основным его объяснением являются изменения биоэлектрической активности мозга, а также изменение среды, в которой находится ребенок. Анализ энцефалограммы показал, что дельфины расслабляют людей, и кроме того, результат показан и в эмоциональной сфере [5]. После цикла ДТ у 70 % детей негативный эмоциональный фон сменяется положительным, снижается количество страхов и проявление эмоциональных дисфункций [6]. Дельфинотерапия применяется при задержках психического и речевого развития, расстройствах аутистического спектра, церебральном параличе, синдроме Дауна и других генетических заболеваниях [7]. Общение с дельфином активизирует организм в целом и мозг в частности. Другим эффектом дельфинотерапии является гидромассаж внутренних органов и кожи, который достигается за счет зоны турбулентности, которую создают дельфины при движении [8; 9; 10]. Таким образом, исследователи фиксируют комбинирование положительных эффектов ДТ. Однако, результаты ДТ подтверждались преимущественно клиническими наблюдениями.

Особенно популярны исследования влияния ДТ на состояния детей с расстройствами аутистического спектра. В исследованиях показаны такие результаты, как повышение уровня серотонина, норадреналина, ГАМК, дофамина и мелатонина, естественным следствием чего становится улучшение сна и нормализация циркадного ритма [11; 12]. Таким образом, в работе доказано влияние метода на нейрогуморальную систему организма, его нормализацию. Однако влияние метода ДТ у больных ДЦП на концентрацию нейротрофических факторов изучено недостаточно.

Целью настоящей работы стало изучение влияния дельфинотерапии на двигательные

возможности, эмоциональный статус и уровень нейротрофических факторов у больных ДЦП.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследование проводилось на базе дельфинотерапии в научно-исследовательском центре «Государственный океанариум» в крытом морском бассейне на базе санатория Министерства обороны «Крым» в пгт. Партенит. Клинико-лабораторное исследование проведено в соответствии с протоколом, рассмотренным и одобренным комитетом по биоэтике. Под нашим наблюдением находилось 24 ребенка мужского и женского пола – основная группа (ОГ), в возрасте от 6 до 12 лет (средний возраст $8,3 \pm 1,2$ лет) с диагнозом ДЦП, который был установлен в соответствии с критериями МКБ-10. От родителей или законных представителей всех детей получено информированное согласие на участие в данном исследовании. Контрольную группу (КГ) составили 18 детей, прошедших санаторно-курортное лечение. Все исследованные группы репрезентативны по возрасту и полу.

Все больные находились на санаторно-курортном лечении. В курс лечения входили процедуры общего (пеллоидотерапия, гидрокинезотерапия в бассейне) и местного (электростимуляция мышц, магнитотерапия, массаж) воздействий. Так же, со всеми пациентами проводилась лечебная гимнастика.

В ОГ занятия проводили в закрытом бассейне с морской водой температурой 25-28 градусов, Сеансы проводятся в игровой форме и состоят из двух частей: «сухой» - на платформе и «водной» - непосредственно в бассейне. Продолжительность «сухой» и «водной» частей и их порядок могут различаться. Терапевт составляет индивидуальную программу, исходя из особенностей развития ребенка и поставленных задач. Программа занятия состояла из нескольких частей. Введение и приветствие: установление контакта между ребенком, дельфинотерапевтом и дельфином. Игра: контакт ребенка с дельфином углубляется с помощью игры. Водная часть: контакт с дельфином в водной среде, во время которого осуществляется интенсивное сенсорное, двигательное и ультразвуковое воздействие. Прощальная часть: окончание процесса ДТ, прощание с дельфином. Все дельфины (Черноморская афалина (*Tursiops truncatus ponticus*) – подвид одного из них, большого, или бутылконового, дельфина (*Tursiops truncatus*)) женского пола, в возрасте от 5 лет, специально подготовлены для занятий и помогают заинтересовать и мотивировать ребенка к выполнению заданий.

Курс ДТ состоит из подготовительной и основной частей, подготовительная часть вклю-

чает 4 занятия, а основная - 6 занятий, каждое занятие подготовительной части проводят на помосте, осуществляют знакомство ребенка с дельфином в игровой форме, выполнение на помосте упражнений на расслабление мышц, на сопротивление, на улучшение равновесия и двигательной координации, на ловкость и внимательность, каждое занятие основной части заключается в работе с дельфином в воде, причем первый этап занятия включает в себя постепенное привыкание пациента к воде в течение пяти минут, при этом тренер держит пациента возле поручня, придерживая его за грудной и поясничный отделы позвоночника, а пациент выполняет активные движения в суставах конечностей в условиях меньшего воздействия гравитации, далее проводят работу пациента и дельфина, включающую поглаживание и обнимание дельфина, захват и удержание руками плавников дельфина, совместное катание на дельфине с тренером, удерживаясь руками за спинной плавник, а ногами за хвостовой отдел. Второй этап занятия включает отдых в воде в течение пяти минут, проведение стабилизации дыхания, пациент при этом удерживается за поручни и находится в вертикальном положении, выполнение тренером пассивных движений в конечностях, направленных на расслабление, выход из воды, снятие гидрокостюма, сухое обтирание. Для пациентов со спастическим гемипарезом длительность занятия подготовительной части составляет 15 минут, а продолжительность занятия основной части – 30 минут. Для пациентов со спастическим тетрапарезом длительность занятия подготовительной части составляет 25 минут, а продолжительность занятия основной части – 40 минут.

Всем пациентам проводилось комплексное обследование. Степень выраженности пареза – по пятибалльной шкале, степень спастичности мышц оценивалась по шкале Эшуорта. Шкала функционирования верхних конечностей MACS позволяет классифицировать манипуляторную деятельность рук детей с ДЦП от 4 до 18 лет в соответствии с возрастными особенностями. Самооценка эмоциональных состояний и степени бодрствования изучалась по методике, разработанной А. Уэссманом и Д. Риксом (Методика Уэссмана, Рикса) (Карелин А. Большая энциклопедия психологических тестов. М.: Эксмо; 2007). Оценку изменения уровня нейротрофических факторов (НТФ) проводили до и после реабилитации от каждого пациента получали образцы венозной крови, стабилизированной КЗ-EDTA. Плазму крови отделяли центрифугированием при 1000 g в течение 10 мин и хранили в низкотемпературной морозильной камере

(-70°C) не более 2 месяцев. Концентрацию НТФ в образцах плазмы крови пациентов определяли методом иммуноферментного анализа с помощью набора реагентов SEA011Hu (Enzyme-linked immunosorbent Assay Kit For Brain Derived Neurotrophic Factor) компании Cloud-Clone Corp. (USA) в соответствии с инструкцией производителя. Проводился анализ изменений в крови: фактор роста фибробластов (FGF).

Статистический анализ данных проводили с использованием пакета программ STATISTICA v.6.0 (StatSoft Inc., USA). Сравнительный анализ количественных переменных произведен при помощи t-критерия Стьюдента для независимых выборок. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Данные первичного клинического осмотра определили высокий уровень спастичности мышц ($3,06 \pm 0,15$), что характеризовалось как значительное повышение мышечного тонуса, резко ограничивающее активные движения в суставах, однако пассивно возможно добиться полного объема движений в суставе. Патологическую картину двигательных ограничений, связанных со спастичностью отдельных мышечных групп усиливало снижение силы антагонистов ($2,36 \pm 0,12$).

Таким образом, у детей, включенных в обследование, двигательные нарушения характеризовались как тяжелые. Пациенты самостоятельно не передвигались, при наличии сопровождающего передвижение было возможным. Шаг был короткий, приставной с тенденцией к перекресту ног на уровне коленных суставов, колени присогнуты. Опора осуществлялась преимущественно на передне-внутренний отдел стопы, без переката. Захват предметов был также нарушен, по шкале MACS составил $3,76 \pm 0,05$ уровень. Ребенок мог удерживать предмет с трудом, нуждался в помощи постороннего. Захват предметов был замедлен, качество действия плохое. Ребенок нуждался в постоянной помощи и адаптирующем оборудовании, даже для частичного выполнения задания. Таким образом, двигательные нарушения, выявленные при клиническом осмотре как в верхних, так и нижних конечностях резко ограничивали самостоятельные действия ребенка, снижали его реабилитационный потенциал. Нахождение ребенка постоянно в определенном вынужденном положении, ограничение в общении, играх со сверстниками приводило к нарушениям в эмоционально-волевой сфере.

Анализ самооценки эмоциональных состояний и степени бодрствования, по методике разработанной А. Уэссманом и Д. Риксом по-

казал выраженные нарушения. В блоке «Спокойствие - тревожность» средний балл составил $3,16 \pm 0,06$. Ребенок был неуверенный, боялся всего нового, любых предлагаемых к выполнению задач. При этом в блоке «Энергичность-усталость» средний балл составил $2,15 \pm 0,04$. Неинициативный, пассивный, инертный, безынициативный, вялый, апатичный, безразличный, медлительный- характеризовали состояние энергетического баланса. В результате ребенок больной ДЦП был беспомощен (блок чувство беспомощности- $3,24 \pm 0,06$ балла), подавлен своей слабостью и недостатком способностей. При таком психоэмоциональном состоянии добиться адекватной активности ребенка не представлялось возможным.

Все проводимые реабилитационные мероприятия проводились пассивно со стороны больного, без активного участия и заинтересованности в успехе восстановительного лечения. В результате эффективность санаторно-курортного лечения была незначительной. Все показатели, характеризующие двигательный потенциал в КГ показали положительную динамику, однако изменения были статистически недостоверны ($p > 0,05$).

Проведение курса дельфинотерапии способствовало нормализации психоэмоционального статуса ребенка. Практически с первого занятия в обстановке бассейна, общения с животным у детей отмечалось улучшение настроения, повышение активности, возрастал энергетический потенциал, практически не фиксировались жалобы на усталость, нежелание общения.

Показатели в блоках были достоверно выше после курса реабилитации в ОГ, и достоверно отличались от таковых в КГ после лечения. Блок «Спокойствие - тревожность» - $6,06 \pm 0,27$ баллов (КГ- $4,83 \pm 0,28$, $p < 0,05$), в блоке «Энергичность-усталость» средний балл составил- $7,21 \pm 0,34$ ($4,18 \pm 0,47$, $p < 0,01$), блок «Чувство уверенности в себе- чувство беспомощности» $8,37 \pm 0,48$ ($4,64 \pm 0,48$, $p < 0,05$). Соответственно значительно изменился характер проведения занятий и их результативность. Ребенок охотно занимался, не уставал и выдерживал в активном тренировочном режиме весь период. В результате произошли изменения в двигательном статусе. Степень спастичности стала достоверно ниже в ОГ - $2,16 \pm 0,07$ (КГ- $3,83 \pm 0,28$, $p < 0,01$), объем пассивных движений достиг незначительной степени ограничения, легко преодолеваемый исследователем. Увеличение двигательной активности ребенка привело к увеличению мышечной силы в конечностях, и составила в ОГ- $3,41 \pm 0,34$ (КГ- $2,63 \pm 0,28$, $p < 0,05$), так же на фоне активизации общей активности произошли качествен-

ные сдвиги в манипулятивной функции рук, однако достоверно выраженной положительной динамики добиться не удалось (ОГ - $3,16 \pm 0,05$, КГ- $3,25 \pm 0,05$, $p > 0,05$).

Динамика показателей нейротрофического фактора была положительной. Так фактор роста фибробластов (FGF) показал увеличение в обеих группах, статистически недостоверное (в ОГ с $122,09 \pm 52,82$ до $128,10 \pm 53,64$ пг/мл, в КГ с $111,22 \pm 63,53$, до $115,58 \pm 63,70$ пг/мл, $p > 0,05$). Таким образом, процесс реабилитации, направленный на увеличение двигательной активности, сопровождается увеличением выработки нейротрофического фактора, отвечающего за нейрогенез, дифференцировку нейронов, стимуляцию роста аксонов, процессы обучения и памяти.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Реабилитация больных с ДЦП представляет собой многолетний, постоянный процесс. Существует множество различных методов и подходов к развитию возможностей ребенка, его социальной адаптации. Органическое поражение ЦНС в клинической картине выражается в уникальном сочетании разнообразных патологических синдромов: двигательных нарушений, интеллектуально-мнестических, речевых расстройств и других. Поэтому в настоящее время преобладает мультидисциплинарный подход к реабилитации. Локально-ориентированные методики сочетаются между собой, при этом они должны приводить к увеличению выраженности и продолжительности положительных эффектов. Так, снижение спастичности с помощью локальных воздействий на мышцы в сочетании с роботизированными методами выработки нового двигательного стереотипа приводят к формированию социально-бытовой самостоятельности ребенка. Однако только лишь снижение мышечного тонуса может привести к его обездвиженности и исчезновению ранее наработанных навыков. Таким образом, поиск наиболее оптимальных сочетаний различных методик является актуальной проблемой. Кроме того, учитывая, что сам процесс реабилитации достаточно монотонный процесс и результаты не всегда достигают желаемого уровня, происходит своеобразное «выгорание» пациента, потеря интереса и веры в успешность выработанной тактики. Данное положение особенно актуально в детской практике. Для ребенка положительный эмоциональный настрой, желание заниматься, является важнейшим условием результативности выбранного курса.

Поэтому включение дельфинотерапии как важного психоэмоционального фактора, будет

способствовать успешности курсового лечения. Гидрокинезотерапия с дельфинами приводит так же, к выраженным положительным сдвигам в двигательной сфере, нормализуя активности антагонистов, формируя физиологический нормотонус с помощью которого вырабатываются новые двигательные навыки. Изменение концентрации нейротрофического фактора в крови детей с ДЦП, больше выраженное в ОГ, прошедших курс ДТ показывает правильность выработанной тактики реабилитации. Активно взаимодействуя с нейротрофинами, клетки-предшественники трансформируются в нейроны нужного медиаторного назначения, активируются структуры мозга, обеспечивающие стабильный и долговременный эффект восстановительного лечения, в нашем случае - с применением комбинированного лечения дельфинотерапии и комплексного санаторно-курортного лечения. Полученные нами результаты взаимоотношения изменений концентрации НТФ в крови параллельно с достоверной, подтвержденной клиническим обследованием и родителями пациентов с ДЦП, положительной динамикой двигательной функции, может рассматриваться как доказательство происходящих в ЦНС процессах нейропластичности, формирования новых функциональных связей между структурами нервной системы и периферического моторного аппарата.

ЛИТЕРАТУРА

1. Живолупов С. А., Самарцев И. Н., Сыроежкин Ф. А. Современная концепция нейропластичности (теоретические аспекты и практическая значимость) Журнал неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова. 2013;113(10):102-108.
2. Нувולי А. В., Каладзе Н. Н., Лысенко В. И. Нейропротективное действие дельфинотерапии как эффект влияния на серотонинергическую модулирующую систему мозга у детей с аутизмом. VI Междисциплинарная научно-практическая конференция с международным участием «Детский церебральный паралич и другие нарушения движений у детей»: матер. конф. М., 2016:110–111.
3. Sadowska M., Sarecka-Hujar B., Kopyta I. Cerebral Palsy: Current Opinions on Definition, Epidemiology, Risk Factors, Classification and Treatment Options. *Neuropsychiatr. Dis. Treat.* 2020;16:1505–1518. doi:10.2147/NDT.S235165.
4. Rocío Llamas-Ramos, Juan Luis Sánchez-González, Inés Llamas-Ramos Robotic Systems for the Physiotherapy Treatment of Children with Cerebral Palsy: A Systematic Review *Int J Environ Res Public Health.* 2022 May;19(9):5116. doi:10.3390/ijerph19095116.

5. Лукина Л. Н. Механизмы терапевтических эффектов процедур дельфинотерапии. Таврический медико-биологический вестник. 2012;15(3-2):162-165.

6. Dilts R. A Summative Evaluation of a Dolphin Assisted Therapy Program for Children with Special Needs: Dissertation Doctor of Philosophy. Oregon State University (USA); 2008.

7. Гундаренко С. В., Селезнёв С. Б., Косенко В. Г. Клинико-психологические аспекты развития дельфинотерапии как метода психологической коррекции психических и поведенческих расстройств у детей с ограниченными возможностями здоровья (аналитический обзор литературы). Часть 1. Медицинская психология в России. 2019;11(2):5. doi:10.24412/2219-8245-2019-2-5.

8. Brensing K. Expert Statement on „Swim with the Dolphin Programs and Dolphin Assisted Therapy“. Third Meeting of the Scientific Committee. Cairo. 14-17 May; 2005.

9. Griffioen R., Van der Steen S., Cox R. F. A., Verheggen T., Enders-Slegers M.-J. Verbal interactional synchronization between therapist and children with autism spectrum disorder during dolphin assisted therapy: Five case studies. *Animals.* 2019;9:716. doi:10.3390/ani9100716.

10. Humphries T. L. Effectiveness of dolphin-assisted therapy as a behavioral intervention for young children with disabilities. *Bridges: Practice-Based Research Synthesis.* 2003;1(6):1–9.

11. Нувולי А. В., Каладзе Н. Н., Бычкова В. Н. Динамика нейротрансмиттерных механизмов циркадного ритма у детей с аутизмом в процессе дельфинотерапии. II Международный Конгресс «Санаторно-курортное лечение»: сб. тезисов под ред. М.Ю. Герасименко. М., 2016:433–434.

12. Лысенко В. И. Новое направление в дельфинотерапии. VI Междисциплинарная научно-практическая конференция с международным участием «Детский церебральный паралич и другие нарушения движений у детей»; Октябрь 7-8, 2016; Москва. Доступно по: http://dvm-reab.ru/info/information_for_physicians/sbornik-tezisev-2016.pdf. Ссылка активна на 23.01.2023.

REFERENCES

1. Zhivolupov S. A., Samartsev I. N., Syroezhkin F. A. Modern concept of neuroplasticity (theoretical aspects and practical significance) *Journal of Neurology and Psychiatry named after S.S.Korsakov.* 2013;113(10):102-108. (In Russ.).
2. Nuvoli A. V., Kaladze N. N., Lysenko V. I. Neuroprotective effect of dolphin therapy as an effect on the serotonergic modulating system of the

brain in children with autism. VI Interdisciplinary scientific and practical conference with international participation «Cerebral palsy and other movement disorders in children»: mater. conf. M., 2016:110-111. (In Russ.).

3. Sadowska M., Sarecka-Hujar B., Kopyta I. Cerebral Palsy: Current Opinions on Definition, Epidemiology, Risk Factors, Classification and Treatment Options. *Neuropsychiatr. Dis. Treat.* 2020;16:1505–1518. doi:10.2147/NDT.S235165.

4. Rocío Llamas-Ramos, Juan Luis Sánchez-González, Inés Llamas-Ramos Robotic Systems for the Physiotherapy Treatment of Children with Cerebral Palsy: A Systematic Review *Int J Environ Res Public Health.* 2022 May;19(9):5116. doi:10.3390/ijerph19095116.

5. Lukina L. N. Mechanisms of therapeutic effects of dolphin therapy procedures. *Tavrichesky medico-biological bulletin.* 2012;15(3-2):162-165. (In Russ.).

6. Dilts R. A Summative Evaluation of a Dolphin Assisted Therapy Program for Children with Special Needs: Dissertation Doctor of Philosophy. Oregon State University (USA); 2008.

7. Gundarenko S. V., Seleznev S. B., Kosenko V. G. Clinical and psychological aspects of the development of dolphin therapy as a method of psychological correction of mental and behavioral disorders in children with disabilities (analytical literature review). Part 1. Medical psychology in

Russia. 2019;11(2):5. doi:10.24412/2219-8245-2019-2-5 (In Russ.).

8. Brensing K. Expert Statement on „Swim with the Dolphin Programs and Dolphin Assisted Therapy“. Third Meeting of the Scientific Committee. Cairo;14-17 May 2005.

9. Griffioen R., Van der Steen S., Cox R. F. A., Verheggen T., Enders-Slegers M.-J. Verbal interactional synchronization between therapist and children with autism spectrum disorder during dolphin assisted therapy: Five case studies. *Animals.* 2019;9:716. doi:10.3390/ani9100716.

10. Humphries T.L. Effectiveness of dolphin-assisted therapy as a behavioral intervention for young children with disabilities. *Bridges: Practice-Based Research Synthesis.* 2003;1(6):1–9.

11. Nuvoli A. V., Kaladze N. N., Bychkova V. N. Dynamics of neurotransmitter mechanisms of circadian rhythm in children with autism in the process of dolphin therapy. II International Congress «Sanatorium treatment»: collection of theses. Edited by M.Yu. Gerasimenko. M., 2016:433-434. (In Russ.).

12. Lysenko V. I. New direction in dolphin therapy. VI Interdisciplinary scientific and practical conference with international participation «Cerebral palsy and other movement disorders in children»; October 7-8, 2016; Moscow. Available at: http://dvm-reab.ru/info/information_for_physicians/sbornik-tezisov-2016.pdf. Accessed January 23, 2023. (In Russ.).

ПОКАЗАТЕЛИ МИОСТАТИНА ПРИ СТРЕССОВОМ НЕДЕРЖАНИИ МОЧИ У ЖЕНЩИН В ПОСТМЕНОПАУЗЕ

Резниченко Н. А.¹, Геворкян Р. Р.²

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

²Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Республики Крым «Республиканская клиническая больница им. Н. А. Семашко» (ГБУЗ РК «РКБ им. Н. А. Семашко»), 295017, ул. Киевская, 69, Симферополь, Россия

Для корреспонденции: Геворкян Рудольф Рафаельевич, заведующий урологическим отделением ГБУЗ РК «РКБ им. Н. А. Семашко», e-mail: rudolf.gevorkyan@bk.ru

For correspondence: Gevorkyan Rudolf Rafael'evich, Head of the Urological Department, Republican Clinical Hospital named after N. A. Semashko, e-mail: rudolf.gevorkyan@bk.ru

Information about authors:

Reznichenko N. A., <https://orcid.org/0000-0003-3396-1046>

Gevorkyan R. R., <https://orcid.org/0000-0001-6281-4104>

РЕЗЮМЕ

Целью работы было определение сывороточных уровней миостатина у женщин постменопаузального возраста со стрессовым недержанием мочи (СНМ). Всего было обследовано 207 пациентов, из них 150 женщин в постменопаузе, страдающих СНМ, и 57 относительно здоровых женщин аналогичного возраста, составивших группу контроля. У всех лиц определяли сывороточные концентрации миостатина методом иммуноферментного анализа. Установлено, что женщины постклимактерического возраста, страдающие СНМ, характеризуются достоверно более высокими сывороточными уровнями миостатина по сравнению с группой контроля ($p < 0,001$). Полученные данные отражают важную патогенетическую роль миостатина в развитии симптомов СНМ у женщин в постменопаузе. Результаты проведенных исследований могут быть использованы для разработки персонализированных схем лечебно-профилактических мероприятий у женщин постклимактерического возраста с СНМ.

Ключевые слова: стрессовое недержание мочи; миостатин; постменопауза.

MYOSTATIN LEVELS IN POST-MENOPAUSAL WOMEN WITH STRESS URINARY INCONTINENCE

Reznichenko N. A.¹, Gevorkyan R. R.²

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

²Republican Clinical Hospital named after N. A. Semashko, Simferopol, Russia

SUMMARY

The aim of the work was to determine the serum levels of myostatin in postmenopausal women with stress urinary incontinence (SUI). A total of 207 patients were examined, including 150 postmenopausal women suffering from SUI and 57 relatively healthy women of the same age in the control group. Serum myostatin concentrations were determined in all patients by enzyme immunoassay. It was found that postmenopausal women suffering from SUI were characterized by significantly higher serum levels of myostatin compared with the control group ($p < 0,001$). The data obtained reflect the important pathogenetic role of myostatin in the development of SUI symptoms in postmenopausal women. The results of the conducted studies can be used to develop personalized schemes of therapeutic and preventive measures in postmenopausal women with SUI.

Key words: stress urinary incontinence; myostatin; postmenopause.

Стрессовое недержание мочи (СНМ) характеризуется произвольным подтеканием мочи при физической нагрузке, чихании или кашле. Распространенность СНМ растет во всем мире, уже сейчас затрагивая одну треть женщин в возрасте 40–59 лет [1]. Приблизительно 25% женщин в пременопаузе и 40% женщин в постменопаузе страдают данной патологией [2]. Хотя СНМ не вызывает каких-либо болезненных ощущений и не является жизнеугрожающим со-

стоянием, инконтиненция представляет важную гигиеническую и социальную проблему, имеет неблагоприятные последствия для качества жизни больных, может привести к утрате трудовых функций и даже изоляции от общества [1].

Статистические данные ясно говорят о том, что недержание мочи является серьезной медицинской, социальной и экономической проблемой [1, 2]. Процент женщин, страдающих инконтиненцией, увеличивается с возрастом и

со временем это состояние часто усугубляется [3]. Известно, что риск развития заболеваний тазового дна любого рода значительно возрастает именно в постменопаузе. Данный период является критическим отрезком в жизни женщины и неизбежно сопровождается рядом метаболических изменений, влияющих на общее состояние здоровья [4-9]. Старение связано с прогрессирующим снижением мышечной силы и массы, описываемым как саркопения [3]. Особое значение имеют дегенеративные процессы, вовлекающие наружный сфинктер уретры, половой нерв и мышцы тазового дна, включая связки и фасциальные поддерживающие структуры. Негативные эффекты старения приводят к снижению мышечной силы тазового дна и снижению порога удержания мочи [1]. Снижение мышечной массы тазового дна обусловлено различными механизмами, в том числе атрофией миофибрилл II типа в результате гибели двигательных нейронов, гормональными изменениями, снижением калорийности и белкового питания, продукцией медиаторов воспаления, стрессом, снижением физической активности, а также изменением синтеза различных эффекторных белков, включая миостатин [10].

Следует, однако, отметить, что несмотря на общность патогенетических процессов, протекающих в постменопаузе, развитие СНМ происходит не у всех женщин данной категории и носит, скорее, индивидуальный характер. В связи с этим, актуальным и перспективным направлением представляется поиск диагностических биомаркеров, которые могли бы использоваться как предикторы возникновения симптомов СНМ, а в перспективе и как потенциальные мишени для лечения инконтиненции. В настоящем исследовании в качестве потенциальной маркерной молекулы, участвующей в развитии симптомов СНМ у женщин в постменопаузе, был изучен миостатин.

Цель настоящего исследования – определить сывороточные уровни миостатина у женщин постменопаузального возраста со стрессовой формой недержания мочи.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Всего было обследовано 207 пациентов. От всех участников исследования было получено письменное добровольное информированное согласие.

Основную группу составили 150 женщин постменопаузального возраста. Отбор их в исследование производился с учетом критериев включения и исключения. Критериями включения были: женский пол, постменопауза (стойкое отсутствие менструаций сроком минимум 12 ме-

сяцев), стрессовое недержание мочи. Критерии исключения: другие формы недержания мочи (ургентное, смешанное и др.), инфекции мочевыводящих путей, сопутствующая патология нижних мочевыводящих путей и органов малого таза (травмы спинного мозга, последствия хирургических вмешательств, опухоли, урогенитальные свищи и др.); прием гормональных препаратов, витамина D и иммунодепрессантов (глюкокортикоиды и др.). Также из исследования исключали пациентов при наличии у них аутоиммунной, эндокринной патологии; метаболических расстройств, хронических заболеваний почек и печени; онкологических, гематологических и психических заболеваний; хронических воспалительных заболеваний (неспецифический язвенный колит и др.).

Контрольную группу составили 57 женщин аналогичного возраста, не имеющих симптомов недержания мочи.

Все женщины, входящие в группу исследования и группу контроля, были обследованы лабораторно. В утренних образцах сыворотки периферической крови определялись концентрации миостатина с помощью иммуноферментных тест-систем производства «Immundiagnostik AG» (Германия), обладающих аналитической чувствительностью 0,37 нг/мл и диапазоном измерений 0-32,5 нг/мл. Учет результатов осуществлялся при помощи иммуноферментного анализатора «LabLine-022» (LABLINE Diagnostics, Австрия).

Статистическая обработка полученных результатов выполнялась на персональном компьютере с помощью электронных таблиц «Microsoft Excel» и пакета прикладных программ «MedStat». Поскольку характер распределения выборок был отличным от нормального, расчет описательной статистики осуществлялся с применением непараметрических методов. Описательная статистика включала расчет медианы, 25% и 75% квартилей (Q1; Q3). Для сравнения центральных тенденций двух независимых выборок использовали U-тест Манна-Уитни. Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Проведение сравнительного анализа центральных тенденций уровней миостатина в сыворотке крови показало наличие статистически значимых различий ($p < 0,001$) значений показателя в основной и контрольной группах (рисунок 1).

Так, сывороточные уровни миостатина у женщин постменопаузального возраста, страдающих стрессовым недержанием мочи, состави-

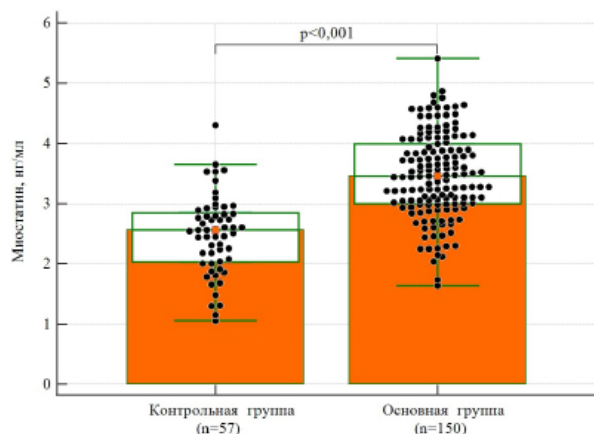


Рис. 1. Уровни миостатина в сыворотке крови у женщин постменопаузального возраста со стрессовым недержанием мочи

ли 3,46 (3,00; 3,98) нг/мл, что было достоверно выше показателей в контрольной группе относительно здоровых лиц, у которых концентрации миостатина в сыворотке крови составили 2,56 (2,04; 2,83) нг/мл.

ОБСУЖДЕНИЕ

Миостатин, известный как фактор роста и дифференцировки-8 (GDF-8), является членом суперсемейства трансформирующего фактора роста- β (TGF- β). Миостатин представляет собой белок, продуцируемый собственно клетками скелетных мышц, который попадая в системный кровоток, оказывает ингибирующее действие на рост мышечной массы. Ген миостатина действует как медиатор экспрессии генов, контролирует образование мышечных волокон и подавляет рост мышц, ингибируя пролиферацию миобластов [11]. Уровень миостатина увеличивается в периоды бездействия скелетных мышц, а ингибирование сывороточного миостатина увеличивает мышечную силу и мышечную массу [12; 13].

Мышца сфинктера уретры, которая является основной мышцей, отвечающей за контроль над актом мочеиспускания, состоит из тонкого внутреннего слоя гладкой мускулатуры и толстого внешнего слоя поперечно-полосатой мускулатуры. Апоптоз клеток наружного рабдосфинктера считается одной из основных причин развития стрессового недержания мочи [14]. В ранее проведенных исследованиях в культурах клеток авторами из Японии было показано, что миостатин способен ингибировать пролиферацию сателлитных клеток рабдосфинктера уретры человека, посредством фосфорилирования белка Smad2 и остановки клеточного цикла [15].

Вышеописанные патогенетические механизмы участия миостатина в развитии симптомов СНМ полностью согласуются с полученными

нами данными о более высоких сывороточных концентрациях миостатина у женщин, страдающих СНМ, по сравнению с показателями контрольной группы ($p < 0,001$). Результаты нашего исследования также подтверждаются рядом экспериментальных и клинических работ зарубежных авторов [16-20].

Так, в экспериментальном исследовании, проведенном Yuan H. и соавт. (2020), в модели ассоциированного с ожирением СНМ у крыс было продемонстрировано, что снижение продукции миостатина сочетается со значительным усилением миогенеза *in vitro* и *in vivo*. Подавление экспрессии миостатина в миобластах рабдосфинктера уретры значительно увеличивает давление в точке подтекания мочи, толщину слоя поперечно-полосатой мускулатуры, соотношение поперечно-полосатой и гладкой мускулатуры, а также количество нервно-мышечных соединений, что сопровождается уменьшением выраженности недержания мочи [16]. В другой экспериментальной работе в модели СНМ на крысах с двойной травмой (раздавливание полового нерва с последующим растяжением влагалища) были исследованы эффекты ингибитора миостатина – бимагрумаба. Yang J. и соавт. (2020) показали, что ингибирование миостатина способствует восстановлению поврежденного наружного сфинктера уретры и мышц тазового дна. Использование бимагрумаба оказалось эффективным средством повышения уретрального давления и удержания мочи [1]. Усиление миогенеза, опосредованное ингибированием миостатина, также было показано в исследованиях на культурах клеток [17].

Анализ литературных источников позволил обнаружить единичные работы последних лет, посвященные изучению влияния тренировки мышц тазового дна (ТМТД) на концентрацию миостатина и тяжесть инконтиненции [18; 19]. Исследователями из Польши на примере 40 женщин пожилого возраста с СНМ было показано, что эффективная ТМТД вызывает статистически значимое снижение концентрации миостатина ($p < 0,0001$) и уменьшение тяжести недержания мочи ($p < 0,0001$) [18]. Аналогичные результаты были получены авторами при исследовании влияния ТМТД на лечение СНМ у мужчин после лапароскопической радикальной простатэктомии. Результаты исследования показали статистически значимое снижение концентрации миостатина ($p < 0,001$), а также статистически значимое улучшение качества жизни пациентов ($p < 0,005$) в группе лиц, выполняющих ТМТД [19].

Представляются интересными данные, полученные Weber-Rajek M. и соавт. (2018). Авторами было проведено рандомизированное

контролируемое пилотное исследование по изучению влияния экстракорпоральной магнитной иннервации на лечение СНМ у женщин пожилого возраста. Как показал анализ результатов исследования, в экспериментальной группе, состоящей из 52 пациентов, было установлено статистически значимое снижение тяжести недержания мочи ($p=0,001$) и тяжести депрессии ($p=0,006$), а также снижение концентрации миостатина ($p\leq 0,001$) [20].

Таким образом, полученные нами результаты подтверждают данные литературы о важной патогенетической роли миостатина в формировании симптомов СНМ. Важно подчеркнуть, что, несмотря на относительно малые объемы исследованных выборок, а также значительные различия в дизайне проанализированных работ, представленные авторами данные полностью согласуются между собой и с современными представлениями о значимой роли миостатина в процессах мышечного метаболизма. Полученные результаты указывают на возможность использования миостатина, как ценного диагностического биомаркера и потенциальной мишени для терапевтических воздействий у женщин постменопаузального возраста, страдающих СНМ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, установлено, что женщины постклимактерического возраста, страдающие СНМ, характеризуются достоверно более высокими сывороточными уровнями миостатина по сравнению с группой контроля - 3,46 (3,00; 3,98) нг/мл против 2,56 (2,04; 2,83) нг/мл ($p<0,001$). Полученные данные отражают важную патогенетическую роль миостатина в развитии симптомов СНМ у женщин в постменопаузе. Результаты проведенных исследований могут быть использованы для разработки персонализированных схем лечебно-профилактических мероприятий у женщин постклимактерического возраста с СНМ.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

ЛИТЕРАТУРА

1. Yang J., Balog B., Deng K. Therapeutic potential of muscle growth promoters in a stress urinary incontinence model. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2020;319(3):F436–F446. doi:10.1152/ajprenal.00122.2020
2. Lukacz E. S., Santiago-Lastra Y., Albo M. E., Brubaker L. Urinary incontinence in women: a review. *JAMA.* 2017;318:1592–1604. doi:10.1001/jama.2017.12137

3. Witham M. D., Aihie Sayer A. Introduction to the Age and Ageing sarcopenia collection. *Age Ageing.* 2016;45(6):752–753.

4. Поворожнюк В. В., Резниченко Н. А., Майлян Э. А. Регуляция эстрогенами ремоделирования костной ткани. *Репродуктивная эндокринология.* 2014;1:14–18.

5. Майлян Э. А. Современные представления об этиологии и патогенезе постменопаузального остеопороза. *Проблемы остеологии.* 2015;18(2):3–11.

6. Майлян Э. А., Игнатенко Г. А., Резниченко Н. А. Сывороточные уровни цитокинов при постменопаузальном остеопорозе. *Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины.* 2018;8(1):36–42.

7. Майлян Э. А., Игнатенко Г. А., Резниченко Н. А. Уровни гормонов и маркеров костного обмена при постменопаузальном остеопорозе. *Медико-социальные проблемы семьи.* 2018;23(1):41–48.

8. Чурилов А. В., Майлян Э. А., Джеломанова Е. С., Лесниченко Д. А. Ассоциации дефицита витамина D с клиническими проявлениями климактерического синдрома. *Медико-социальные проблемы семьи.* 2022;27(2):20–27.

9. Золотухин С. Е., Резниченко Н. А., Ткаченко К. Е. Гормональный дисбаланс у женщин с климактерическим синдромом. *Медико-социальные проблемы семьи.* 2022;27(2):36–40.

10. Cruz-Jentoft A. J., Baeyens J. P., Bauer J. M. et al. Sarcopenia: European consensus on definition and diagnosis: Report of the European Working Group on Sarcopenia in Older People. *Age Ageing.* 2010;39(4):412–423. doi: 10.1093/ageing/afq034

11. Shin S., Song Y., Ahn J. et al. A novel mechanism of myostatin regulation by its alternative splicing variant during myogenesis in avian species. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2015;309(10):C650–C659. doi: 10.1152/ajpcell.00187.2015

12. Joulia-Ekaza D., Cabello G. Myostatin regulation of muscle development: molecular basis, natural mutations, physiopathological aspects. *Exp Cell Res.* 2006;312(13):2401–2414. doi: 10.1016/j.yexcr.2006.04.012

13. Lee S. J. Targeting the myostatin signaling pathway to treat muscle loss and metabolic dysfunction. *J Clin Invest.* 2021;131(9):e148372. doi:10.1172/JCI148372

14. Ko I. G., Jeong J. W., Kim Y. H. Aerobic exercise affects myostatin expression in aged rat skeletal muscles: a possibility of antiaging effects of aerobic exercise related with pelvic floor muscle and urethral rhabdosphincter. *Int Neurourol J.* 2014;18(2):77–85. doi:10.5213/inj.2014.18.2.77.

15. Akita Y., Sumino Y., Mori K., Nomura T., Sato F., Mimata H. Myostatin inhibits proliferation of human urethral rhabdosphincter satellite cells. *Int J Urol.* 2013;20(5):522–529. doi:10.1111/j.1442-2042.2012.03186.x.
16. Yuan H., Ruan Y., Tan Y. Regenerating Urethral Striated Muscle by CRISPRi/dCas9-KRAB-Mediated Myostatin Silencing for Obesity-Associated Stress Urinary Incontinence. *CRISPR J.* 2020;3(6):562–572. doi:10.1089/crispr.2020.0077.
17. Chen Y., Banie L., Breyer B. N. Enhanced Myogenesis by Silencing Myostatin with Nonviral Delivery of a dCas9 Ribonucleoprotein Complex. *CRISPR J.* 2022;5(4):598–608. doi:10.1089/crispr.2022.0009.
18. Radzińska A., Weber-Rajek M., Strączyńska A. et al. The impact of pelvic floor muscle training on the myostatin concentration and severity of urinary incontinence in elderly women with stress urinary incontinence - a pilot study. *Clin Interv Aging.* 2018;13:1893–1898. doi:10.2147/CIA.S177730.
19. Strojek K., Weber-Rajek M., Strączyńska A. Randomized-Controlled Trial Examining the Effect of Pelvic Floor Muscle Training in the Treatment of Stress Urinary Incontinence in Men after a Laparoscopic Radical Prostatectomy Pilot Study. *J Clin Med.* 2021;10(13):2946. doi:10.3390/jcm10132946.
20. Weber-Rajek M., Radzińska A., Strączyńska A. A randomized-controlled trial pilot study examining the effect of extracorporeal magnetic innervation in the treatment of stress urinary incontinence in women. *Clin Interv Aging.* 2018;13:2473–2480. doi:10.2147/CIA.S176588.
21. Maylyan E. A., Ignatenko G. A., Reznichenko N. A. Serum levels of cytokines in postmenopausal osteoporosis. *Crimean Journal of Experimental and Clinical Medicine.* 2018;8(1):36–42.
22. Maylyan E. A., Ignatenko G. A., Reznichenko N. A. Levels of hormones and markers of bone metabolism in postmenopausal osteoporosis. *Medico-social problems of the family.* 2018;23(1):41–48.
23. Churilov A. V., Maylyan E. A., Dzhelomanova E. S., Lesnichenko D. A. Associations of vitamin D deficiency with clinical manifestations of menopausal syndrome. *Medico-social problems of the family.* 2022;27(2):20–27.
24. Zolotukhin S. E., Reznichenko N. A., Tkachenko K. E. Hormonal imbalance in women with menopausal syndrome. *Medico-social problems of the family.* 2022;27(2):36–40.
25. Cruz-Jentoft A. J., Baeyens J. P., Bauer J. M. et al. Sarcopenia: European consensus on definition and diagnosis: Report of the European Working Group on Sarcopenia in Older People. *Age Ageing.* 2010;39(4):412–423. doi:10.1093/ageing/afq034.
26. Shin S., Song Y., Ahn J. et al. A novel mechanism of myostatin regulation by its alternative splicing variant during myogenesis in avian species. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2015;309(10):C650–C659. doi:10.1152/ajpcell.00187.2015.
27. Joulia-Ekaza D., Cabello G. Myostatin regulation of muscle development: molecular basis, natural mutations, physiopathological aspects. *Exp Cell Res.* 2006;312(13):2401–2414. doi:10.1016/j.yexcr.2006.04.012.
28. Lee S. J. Targeting the myostatin signaling pathway to treat muscle loss and metabolic dysfunction. *J Clin Invest.* 2021;131(9):e148372. doi:10.1172/JCI148372.
29. Ko I. G., Jeong J. W., Kim Y. H. Aerobic exercise affects myostatin expression in aged rat skeletal muscles: a possibility of antiaging effects of aerobic exercise related with pelvic floor muscle and urethral rhabdosphincter. *Int Neurourol J.* 2014;18(2):77–85. doi:10.5213/inj.2014.18.2.77.
30. Akita Y., Sumino Y., Mori K., Nomura T., Sato F., Mimata H. Myostatin inhibits proliferation of human urethral rhabdosphincter satellite cells. *Int J Urol.* 2013;20(5):522–529. doi:10.1111/j.1442-2042.2012.03186.x.
31. Yuan H., Ruan Y., Tan Y. Regenerating Urethral Striated Muscle by CRISPRi/dCas9-KRAB-Mediated Myostatin Silencing for Obesity-Associated Stress Urinary Incontinence. *CRISPR J.* 2020;3(6):562–572. doi:10.1089/crispr.2020.0077.
32. Chen Y., Banie L., Breyer B. N. et al. Enhanced Myogenesis by Silencing Myostatin with

REFERENCES

Nonviral Delivery of a dCas9 Ribonucleoprotein Complex. *CRISPR J.* 2022;5(4):598–608. doi:10.1089/crispr.2022.0009.

18. Radzińska A., Weber-Rajek M., Strączyńska A. The impact of pelvic floor muscle training on the myostatin concentration and severity of urinary incontinence in elderly women with stress urinary incontinence - a pilot study. *Clin Interv Aging.* 2018;13:1893–1898. doi:10.2147/CIA.S177730.

19. Strojek K., Weber-Rajek M., Strączyńska A. et al. Randomized-Controlled Trial Examining

the Effect of Pelvic Floor Muscle Training in the Treatment of Stress Urinary Incontinence in Men after a Laparoscopic Radical Prostatectomy Pilot Study. *J Clin Med.* 2021;10(13):2946. doi:10.3390/jcm10132946.

20. Weber-Rajek M., Radzińska A., Strączyńska A. et al. A randomized-controlled trial pilot study examining the effect of extracorporeal magnetic innervation in the treatment of stress urinary incontinence in women. *Clin Interv Aging.* 2018;13:2473-2480. doi:10.2147/CIA.S176588.

ПРОЛИФЕРАТИВНО-АПОПТОТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ЭПИТЕЛИОЦИТОВ ТОЛСТОЙ КИШКИ ПОСЛЕ ОБЛУЧЕНИЯ ЭЛЕКТРОНАМИ В ДОЗЕ 2 ГР

Саакян С. В.¹, Шаповалова Е. Ю.¹, Каракаева Э. Б.-Г.¹, Зорин И. А.²

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

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

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

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

Information about authors:

Saakian S. V., <https://orcid.org/0000-0001-8606-8716>

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

Karakaeva E. B.-G., <https://orcid.org/0000-0001-9833-3433>

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

РЕЗЮМЕ

Развитие и усовершенствование методов мультимодальной диагностики и лечения злокачественных новообразований позволило значительно продлить срок жизни у онкологических пациентов; таким образом вопрос предотвращения и коррекции побочных эффектов противоопухолевой терапии стало одной из основных проблем при оказании онкологической помощи в последние несколько десятилетий. Одним из наиболее радиочувствительных органов является кишечник. На сегодняшний день в работах различных авторов описаны эффекты облучения на здоровые ткани кишечника при использовании других методов излучения. В то же время информации о влиянии облучения электронами на структуры толстой кишки недостаточно: молекулярные механизмы пролиферативно-апоптотических процессов остаются неизученными и требуют значительного дополнения. Цель исследования – иммуногистохимическая оценка апоптоза и пролиферации эпителия толстой кишки после локального облучения электронами в дозе 2 Гр. Материалы и методы. Фрагменты толстой кишки половозрелых крыс линии Вистар (n=30) двух групп: I – контрольная (n=10); II – опытная группа (n=20; локальное однократное облучение электронами в дозе 2 Гр) исследовали методом световой микроскопии, используя окрашивание гематоксилином и эозином и иммуногистохимические реакции с антителами к Ki-67 и Cas3. Результаты. На 1 сутки количество каспаза-3-позитивных эпителиоцитов было увеличено в 1,33 раза по сравнению с контрольными значениями ($44.61 \pm 3.68\%$ против $33.48 \pm 2.35\%$). Пролиферативный индекс (Ki-67) через 24 часа после эксперимента был в 1.36 раза ниже в опытной группе, чем в контрольной ($36.14 \pm 3.16\%$ против $49.27 \pm 4.53\%$). На 3 сутки количество каспаза-3- и Ki-67-позитивных эпителиоцитов толстой кишки приблизились к контрольным значениям. Заключение. При локальном облучении электронами толстой кишки в дозе 2 Гр отмечается редукция эпителиоцитов на первых сутках с последующим восстановлением на третьих сутках.

Ключевые слова: радиотерапия, электроны, облучение, каспаза-3, Ki-67

PROLIFERATIVE-APOPTOTIC FEATURES OF COLONIC EPITHELIOCYTES AFTER IRRADIATED WITH ELECTRONS AT A DOSE OF 2 GY

Saakian S. V.¹, Shapovalova E. Y.¹, Karakaeva E. B.-G.¹, Zorin I. A.³

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

²I. M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia

SUMMARY

The development and improvement of multimodal diagnosis and treatment of malignant neoplasms has significantly prolonged the life span of cancer patients; thus, the issue of prevention and correction of the side effects of antitumor therapy has become one of the main problems in cancer care over the past few decades. One of the most radiosensitive organs is the intestine. To date, the effects of radiation on healthy bowel tissue have been described in the works of various authors when other radiation methods are used. At the same time, the information on the effect of ionizing radiation on lower sections of the gastrointestinal tract is insufficient: the molecular mechanisms of proliferative-apoptotic processes remain unstudied and require significant supplementation. The aim of the investigation was immunohistochemical estimation of colon epithelium apoptosis and proliferation after local electron irradiation in dose 2 Gy. Materials and methods. Animals – sexually mature Wistar rats (n=30) were divided into two groups: I –

control (n=10); II – experimental group (n=20), local single electron irradiation at a dose of 2 Gy. Immunohistochemical method and hematoxylin and eosin staining were used to study colon fragments. Results. On day 1, the number of caspase-3 positive cells was 1.33 times higher than the control values ($44.61 \pm 3.68\%$ vs. $33.48 \pm 2.35\%$). The proliferative index (Ki-67) 24 hours after the experiment was 1.36 times lower in the experimental group than in the control group ($36.14 \pm 3.16\%$ vs. $49.27 \pm 4.53\%$). On day 3, the number of caspase-3- and Ki-67-positive cells approached the control values. Conclusion. Under local electron irradiation of the colon at the dose of 2 Gy, there was a reduction of epithelial cells on the 1st day, with a subsequent recovery on the 3rd day.

Key words: radiotherapy, electrons, irradiation, caspase-3, Ki-67

Развитие и усовершенствование методов мультимодальной диагностики и лечения злокачественных новообразований позволило значительно продлить срок жизни у онкологических пациентов; таким образом, вопрос предотвращения и коррекции побочных эффектов противоопухолевой терапии стало одной из основных проблем при оказании онкологической помощи в последние несколько десятилетий [1; 2]. На сегодняшний день больше половины всех пациентов со злокачественными новообразованиями на одном из этапов лечения сталкиваются с радиационной терапией. Наиболее распространенной остается экстракорпоральная тазовая лучевая терапия (ЭТЛТ), которая используется при неоплазиях желудочно-кишечной и мочеполовой системы. ЭТЛТ может применяться в качестве неоадьювантной терапии перед хирургическим вмешательством, совместно с химиотерапией или являться самостоятельным методом терапии [3]. Однако облучение оказывает цитотоксическое действие не только на клетки опухоли, но и на окружающие здоровые ткани. Радиационная терапия характеризуется прямым действием на клеточную ДНК, за счет чего происходит необратимое нарушение структуры генетического материала и происходит гибель клетки, и опосредованным действием за счет ионизации внутриклеточных молекул [4].

Одним из наиболее радиочувствительных органов является кишечник [5]. Во-первых, из-за большой протяженности органа, возможны обширные участки повреждения. Во-вторых, эпителий кишечника является одной из наиболее активно делящихся и часто обновляемых тканей организма. Как известно, именно стволовые клетки наиболее уязвимы для воздействия радиационной терапии, за счет своей высокой митотической активности [6; 7].

Учитывая распространенность лучевой терапии брюшной и тазовой областей и уязвимость кишечника, радиационно-индуцированные травмы кишечника являются одним из наиболее распространенных осложнений в повседневной практике. Особенно поражение нижних отделов желудочно-кишечного тракта – постлучевой колит [8].

Одним из новейших методов лучевой терапии является ионизирующее облучение электро-

нами. На сегодняшний день в работах ряда авторов описаны эффекты облучения на здоровые ткани кишечника при использовании других методов излучения. В то же время информации о влиянии ионизирующего излучения на нижние отделы желудочно-кишечного тракта недостаточно: молекулярные механизмы пролиферативно-апоптотических процессов остаются неизученными и требуют значительного дополнения.

Цель исследования – иммуногистохимическая оценка апоптоза и пролиферации эпителия толстой кишки после локального облучения электронами в дозе 2 Гр.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Животные – половозрелые крысы линии Вистар (n=30) были поделены на две группы: I – контрольная (n=10); II – опытная группа (n=20), локальное однократное облучение электронами в дозе 2 Гр.

Облучение животных проводили в отделе радиационной биофизики МРНЦ имени А.Ф. Цыба (г. Обнинск, Россия) на линейном акселераторе “NOVAC-11” (мощность дозы 1 Гр/мин, энергия 10 МэВ и частота 9 Гц, размер поля – Ø 100 мм).

По половине животных из каждой группы выводили из эксперимента на 1 и 3 сутки.

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

Фрагменты толстой (ободочной) кишки фиксировали в забуференном формалине, заливали в парафиновые блоки, нарезали на микротоме толщиной 3 мкм, окрашивали гематоксилином и эозином. Микроскопический анализ выполняли с помощью системы видео-микроскопии (микроскоп Leica DM2000, Германия; камера Leica ICC50 HD).

Имуногистохимическое исследование проводили по стандартному протоколу в автоматическом режиме в иммуногистостейнере Bond-Max («Leica», Германия). Первичные антитела: к каспаза-3 (Invitrogen/ Thermo Fisher Scientific; 74T2, 1:50) и Ki-67 (Abcam; ab15580, 1:100);

вторичные – универсальные антитела (HiDef Detection™ HRP Polymer system, «Cell Marque», США). Количество иммунопозитивных клеток подсчитывали в 10 полях зрения, на увеличении $\times 400$. Для оценки индекса пролиферации на основе Ki-67 рассчитывали процент окрашенных клеток на одну крипту.

Полученные данные обрабатывали при помощи компьютерной программы SPSS 10.0 for Windows statistical software package (IBM Analytics, США) и вычислением средней арифметической, ошибки средней, критерия Стьюдента. Значимыми считали различия между средними показателями при $p \leq 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

При макроскопическом исследовании толстого кишечника опытной группы на первых и третьих сутках после локального однократного облучения электронами не выявили признаков воспалительного процесса, опухолевого роста, и деструктивных изменений.

При гистологическом исследовании микропрепаратов толстой кишки (ободочной) через 1 сутки наблюдали слабую редукцию бокаловидных клеток с тенденцией к восстановлению на 3 сутки. Количество эпителиоцитов толстой кишки с фигурами митоза на 3 сутки было увеличено по сравнению с 1 сутками.

При иммуногистохимическом исследовании изучали количество каспаза-3- и Ki-67-позитивных клеток.

На 1 сутки количество каспаза-3 позитивных клеток было увеличено в 1.33 раза по сравнению с контрольными значениями ($44.61 \pm 3.68\%$ против $33.48 \pm 2.35\%$). Пролиферативный индекс (Ki-67) через 24 часа после эксперимента был в 1,36 раза ниже в опытной группе, чем в контрольной ($36.14 \pm 3.16\%$ против $49.27 \pm 4.53\%$).

На 3 сутки количество каспаза-3- и Ki-67-позитивных клеток приблизились к контрольным значениям. Статистически значимой разницы не наблюдали, $p < 0.05$ (табл. 1, рис. 1).

Таблица 1

Количество ИГХ-позитивных эпителиоцитов, в %, средняя \pm стандартное отклонение

Маркер	2 Гр (II)		Контроль (I)
	1 сутки	3 сутки	
каспаза-3	$44.61 \pm 3.68a$	33.97 ± 3.96	33.48 ± 2.35
Ki-67	$36.14 \pm 3.16a$	41.99 ± 7.90	49.27 ± 4.53

Примечание: ^aконтроль (I) и II группа; $p < 0.05$

ОБСУЖДЕНИЕ

Настоящая работа посвящена исследованию эффектов локального облучения электронами в дозе 2 Гр на эпителий толстой кишки экспериментальных животных.

При гистологическом изучении образцов толстой кишки обнаружили признаки радиационно-индуцированного повреждения, такие как редукция эпителиоцитов и слабая воспалительная инфильтрация. Стоит отметить, что такие изменения не являются клинически значимыми и не приводят к развитию кишечной недостаточности, однако являются чрезвычайно важными для понимания влияния ионизирующего излучения на эпителий толстой кишки [9]. Для более подробной характеристики клеточных процессов при облучении электронами мы исследовали уровень каспазы-3 и Ki-67.

При облучении электронами в дозе 2 Гр в эпителиоцитах толстой кишки отметили снижение каспаза-3 позитивных клеток. Такие результаты, по всей видимости, обусловлены цитоток-

сическим действием радиационного излучения, которые способны поражать не только клетки опухоли, но и здоровые ткани. Увеличение экспрессии каспазы-3 позволяет предположить механизм гибели энтероцитов толстого кишечника при остром лучевом повреждении: посредством запуска апоптотического каскада. Как известно, каскадный комплекс реализуется через внутренний и внешний путь, которые опосредованы и регулируются различными молекулами. Однако, каспаза-3 является терминальной эффекторной молекулой для обоих путей [10; 11].

Оценку пролиферативной и регенеративной способности проводили на основании митотического индекса, оцененного с помощью Ki-67. На 1 сутки после облучения митотический индекс снижался, однако уже на 3 сутки приближался к контрольным значениям. На основании полученных данных можно предположить, что облучение электронами в дозе 2 Гр не приводит к полному истощению пула стволовых клеток и толстый кишечник может полностью восстановить свою функцию в кратчайшие сроки [12; 13].

Особенно стоит обратить внимание, что после локального облучения электронами в дозе 2 Гр на 3 сутки наблюдается практически полное восстановление эпителия толстой кишки и молекулярного гомеостаза. Известно, что увеличение экспрессии Ki-67 способно приводить к повышению числа митозов, и, как следствие, возможному развитию неоплазий [14]. В то же время чрезвычайно важно, чтобы количество каспаза-3 оставалось на оптимальном уровне для элиминации клеток с поврежденной ДНК [15; 16].

Таким образом, в настоящей работе мы выявили, что после однократного локального облучения электронами в дозе 2 Гр у экспериментальных животных отмечаются признаки радиационного поражения и запуск апоптотических процессов. Однако такие повреждения являются обратимыми за счет сохранения стволовых клеток и высокой митотической активности эпителия.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При локальном облучении электронами толстой кишки в дозе 2 Гр отмечается редукция эпителиоцитов на 1 сутки с последующим восстановлением на 3 сутки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Bentzen S. M. Preventing or reducing late side effects of radiation therapy: radiobiology meets molecular pathology. *Nat Rev Cancer*. 2006 Sep;6(9):702–13. doi: 10.1038/nrc1950.
- Birgisson H., Pählman L., Gunnarsson U., Glimelius B. Late adverse effects of radiation therapy for rectal cancer – a systematic overview. *Acta Oncol*. 2007 Jan 1;46(4):504–16. doi:10.1080/02841860701348670.
- Bertholet J., Knopf A., Eiben B., McClelland J., Grimwood A., Harris E., Menten M., Poulsen P., Nguyen D. T., Keall P., Oelfke U. Real-time intrafraction motion monitoring in external beam radiotherapy. *Phys Med Biol*. 2019 Aug;64(15):15TR01. doi:10.1088/1361-6560/ab2ba8.
- Fiorino C., Valdagni R., Rancati T., Sanguineti G. Dose–volume effects for normal tissues in external radiotherapy: Pelvis. *Radiation Oncol*. 2009 Nov 1;93(2):153–67. doi: 10.1016/j.radonc.2009.08.004.
- Andreyev H. J. N. Gastrointestinal Problems after Pelvic Radiotherapy: the Past, the Present and the Future. *Clin Oncol*. 2007 Dec 1;19(10):790–9. doi: 10.1016/j.clon.2007.08.011.
- Lu L., Li W., Chen L., Su Q., Wang Y., Guo Z., Lu Y., Liu B., Qin S. Radiation-induced intestinal damage: latest molecular and clinical developments. *Future Oncol*. 2019 Dec;15(35):4105–18. doi:10.2217/fon-2019-0416.
- McBride WH, Schaefer D. Radiation-induced tissue damage and response. *J Pathol*. 2020;250(5):647–655. doi:10.1002/path.5389.
- Ahmed M, Ahmed R. Radiation in Gastroenterology. *Gastroenterol Res*. 2022 Dec 17;15(6):285–96. doi:10.14740/gr1567.
- Prieto S. P., Reed C. L., James H. M., Quinn K. P., Muldoon T. J. Differences in colonic crypt morphology of spontaneous and colitis-associated murine models via second harmonic generation imaging to quantify colon cancer development. *BMC Cancer*. 2019 May 9;19(1):428. doi:10.1186/s12885-019-5639-8.
- Brentnall M., Rodriguez-Menocal L., De Guevara R. L., Cepero E., Boise L. H. Caspase-9, caspase-3 and caspase-7 have distinct roles during intrinsic apoptosis. *BMC Cell Biol*. 2013 Jul 9;14(1):32. doi:10.1186/1471-2121-14-32.
- Gu Q., Jiao S., Duan K., Wang Y. X., Petralia R. S., Li Z. The BAD-BAX-Caspase-3 Cascade Modulates Synaptic Vesicle Pools via Autophagy. *J Neurosci Off J Soc Neurosci*. 2021 Feb 10;41(6):1174–90. doi:10.1523/JNEUROSCI.0969-20.2020.
- Kanth P., Rajan T. Chromogranin A and Ki67 Marker in Normal Colon, Serrated Polyp and Colorectal Tubular Adenoma: 1470. *Off J Am Coll Gastroenterol ACG*. 2011 Oct;106:S562. doi:10.14309/00000434-201110002-01470.
- Akedo I., Ishikawa H., Ioka T., Kaji I., Narahara H., Ishiguro S., Suzuki T., Otani T. Evaluation of epithelial cell proliferation rate in normal-appearing colonic mucosa as a high-risk marker for colorectal cancer. *Cancer Epidemiol Biomark Prev Publ Am Assoc Cancer Res Cosponsored Am Soc Prev Oncol*. 2001 Sep;10(9):925–30.
- Andrés-Sánchez N., Fisher D., Krasinska L. Physiological functions and roles in cancer of the proliferation marker Ki-67. *J Cell Sci*. 2022 Jun 8;135(11):jcs258932. doi: 10.1242/jcs.258932.
- Zhou M., Liu X., Li Z., Huang Q., Li F., Li C. Y. Caspase-3 regulates the migration, invasion and metastasis of colon cancer cells. *Int J Cancer*. 2018;143(4):921–930. doi: 10.1002/ijc.31374.
- Olsson M., Zhivotovsky B. Caspases and cancer. *Cell Death Differ*. 2011 Sep;18(9):1441–9. doi:10.1038/cdd.2011.30.

УДК: 612.015.32:612.398:577.11:[612.36+612.1+612.79]:613.2

DOI: 10.29039/2224-6444-2023-13-1-50-57

СДВИГИ В ОБМЕНЕ УГЛЕВОДСОДЕРЖАЩИХ БИОПОЛИМЕРОВ В КОЖЕ, ПЕЧЕНИ И КРОВИ КРЫС ПРИ ФРУКТОЗОБОГАЩЕННОЙ ДИЕТЕ

Терещенко М. В., Бутолин Е. Г.

Кафедра клинической биохимии и лабораторной диагностики, ФГБОУ ВО «Ижевская государственная медицинская академия» Минздрава России (Ижевская ГМА), 426034, ул. Коммунаров, д.281, Ижевск, Россия

Для корреспонденции: Терещенко Мария Васильевна, ассистент кафедры клинической биохимии и лабораторной диагностики, ФГБОУ ВО «Ижевская государственная медицинская академия», e-mail: tereshenkomaria@rambler.ru

For correspondence: Maria V. Tereshchenko, assistant of the Department of Clinical Biochemistry and Laboratory Diagnostics, Izhevsk State Medical Academy, e-mail: tereshenkomaria@rambler.ru

Information about authors:

Tereshchenko M. V., <http://orcid.org/0000-0001-6701-1095>

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

РЕЗЮМЕ

В последнее время в питании наблюдается увеличение доли легкоусвояемых углеводов в сочетании с гиподинамией, приводящее к нарушению углеводного и жирового обмена, возрастанию риска инсулинорезистентности и сердечно-сосудистых заболеваний. Ранее выявлена связь избыточного потребления фруктозы с развитием инсулинорезистентности, стеатогепатита, гипертриглицеридемии, нарушением содержания белков в межклеточном матриксе. Структурными компонентами соединительной ткани являются гликозаминогликаны. Изучению метаболизма гликозаминогликанов в условиях фруктозообогащенной диеты посвящены лишь единичные исследования. Целью работы было выявление особенностей в обмене гликозаминогликанов в коже, печени и крови крыс при фруктозообогащенной диете. Исследования проведены на 48 белых беспородных крысах-самцах с начальной массой тела 170-210 г. Опытная группа (24 крысы) в течение 35 дней получала фруктозообогащенную диету (57,6% фруктозы) и далее переводилась на стандартный рацион вивария. Контрольная группа (24 крысы) содержалась на стандартном рационе питания. Из эксперимента крыс выводили под кратковременным эфирным наркозом путем декапитации на 21, 35, 60 дни от начала исследования, измеряя до этого массу тела. В сыворотке крови определяли уровень гликемии, инсулина, содержание общего холестерина, липопротеинов низкой и высокой плотности, триглицеридов, активность аланинаминотрансферазы, аспартатаминотрансферазы, лактатдегидрогеназы, рассчитывали индексы атерогенности, инсулинорезистентности HOMA и CARO, коэффициент де Ритиса. В гомогенатах изучаемых тканей, а также в сыворотке крови определяли содержание общих гликозаминогликанов и их фракций. В ходе эксперимента фруктозообогащенная диета способствовала развитию гипергликемии, инсулинорезистентности, дислипидемии, активации цитолитических ферментов с преимущественным поражением клеток печени. Изменения сохранялись после отмены диеты. Масса тела опытных животных не имела статистически значимого прироста по сравнению с контрольной группой. Рост количества общих гликозаминогликанов в изучаемых гомогенатах тканей и сыворотке крови при фруктозообогащенной диете свидетельствует об усилении одновременно как синтетических, так и катаболических процессов.

Ключевые слова: углеводный обмен, фруктозообогащенная диета, гликозаминогликаны, крысы.

CHANGES IN THE METABOLISM OF CARBOHYDRATE-CONTAINING BIOPOLYMERS IN RATS' SKIN, LIVER AND BLOOD IN FRUCTOSE-ENRICHED DIET

Tereshchenko M. V., Butolin E. G.

Izhevsk State Medical Academy, Izhevsk, Russia

SUMMARY

Recently, there has been an increase in the proportion of easily digestible carbohydrates in the diet combined with hypodynamia, leading to impaired carbohydrate and fat metabolism and an increased risk of insulin resistance and cardiovascular disease. Earlier, the connection of excessive fructose consumption with the development of insulin resistance, steatohepatitis, hypertriglyceridemia, violation of protein content in the intercellular matrix was revealed. The structural components of the connective tissue are glycosaminoglycans. Only few studies have been devoted to the study of glycosaminoglycan metabolism under conditions of a fructose-rich diet. The aim of the work was to reveal the peculiarities in the metabolism of glycosaminoglycans in the skin, liver, and blood of rats on a fructose-enriched diet. The studies were performed on 48 male white mongrel rats with an initial body weight of 170-210 g. The experimental group (24 rats) received a fructose-enriched diet (57.6% fructose) for 35 days and then were transferred to a standard vivarium diet. The control group (24 rats) was kept on the standard diet. The rats were removed from the experiment under short-term ether anesthesia by decapitation on days 21, 35, and 60 from the beginning of the study, measuring body weight before that. Blood serum levels of glycemia, insulin, total cholesterol, low- and high-density lipoproteins,

triglycerides, alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, lactate dehydrogenase activity were determined; atherogenicity, HOMA and CARO insulin resistance indices, de Ritis coefficient were calculated. The content of total glycosaminoglycans and their fractions were determined in homogenates of the tissues studied, as well as in blood serum. During the experiment, fructose-rich diet contributed to the development of hyperglycemia, insulin resistance, dyslipidemia, activation of cytolytic enzymes with predominant lesions of liver cells. The changes persisted after the diet was cancelled. Body weight of the experimental animals had no statistically significant increase compared to the control group. An increase in the amount of total glycosaminoglycans in the studied tissue homogenates and blood serum under the fructose-rich diet indicates an increase in both synthetic and catabolic processes simultaneously.

Key words: carbohydrate metabolism, fructose-rich diet, glycosaminoglycans, rats.

В мире за последние 30 лет наблюдается тенденция к увеличению неинфекционных заболеваний, ключевым моментом которых являются метаболические нарушения, связанные с отсутствием физической активности и нездоровым питанием [1]. Рост метаболического синдрома (МС) среди населения зафиксирован во многих странах. Так по данным исследования ЭССЕ-РФ-2, МС выявлен у 33% россиян в возрасте 25-64 лет [2]; в США по данным NHANES (National Health and Nutrition Examination Survey) - за период 1988-2012 гг его частота возросла с 25,3 до 34,2% [3]; в азиатско-тихоокеанском регионе порядка 1/5 взрослой популяции страдают МС [4]. В течение этого времени произошли изменения пищевого рациона с преобладанием легкоусвояемых углеводов. В сочетании с низкой физической активностью эти изменения способствуют нарушению углеводного и жирового обмена, вследствие чего возрастает риск инсулинорезистентности (ИР) и сердечно-сосудистых заболеваний, занимающих в РФ лидирующие позиции в структуре смертности [5]. Также возрастает вероятность формирования сахарного диабета 2 типа, при этом ожидается, что к 2030 году число людей с диагнозом СД2 во всем мире превысит 360 миллионов человек [1]. Легкоусвояемые углеводы, в том числе фруктоза, добавляемые в безалкогольные напитки, соки и хлебобулочные изделия, составляет значительную долю в питании детей, подростков и молодых людей. В ряде научных работ выявлена связь избыточного потребления фруктозы с развитием инсулинорезистентности, внутрипеченочным накоплением липидов и гипертриглицеридемией, нарушением содержания белков в межклеточном матриксе [6;7]. При этом изучению метаболизма гликозаминогликанов (ГАГ) в условиях высококалорийной, в том числе фруктозообогащенной диеты посвящены лишь единичные исследования [6].

Цель исследования - выявить особенности в обмене гликозаминогликанов в коже, печени и крови крыс при фруктозообогащенной диете.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Эксперименты проведены на 48 белых беспородных крысах-самцах с начальной массой тела 170-210 г. Работу выполняли руководству-

ясь правилами GLP, Приказом Министерства здравоохранения Российской Федерации от 01.04.2016 №199н «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики», а также требованиями локального этического комитета ФГБОУ ВО «Ижевская государственная медицинская академия» Минздрава России (протокол №713 от 23.03.2021).

Животные содержались в стандартных условиях вивария: температура воздуха 19-21°C, световой режим 12ч: 12ч и свободный доступ к пище и воде. Животных разделили на 2 группы. Для контрольной группы (24 крысы) использовали стандартный рацион вивария, из расчета 74,4 ккал/сутки на одну крысу. Опытная группа (24 крысы) получала фруктозообогащенную диету (ФД), содержащую 57,6% фруктозы от калорийности суточного рациона, что соответствовало 166 ккал/сутки на крысу.

Эксперимент продолжался в течение 35 дней. Далее животных опытной группы переводили на стандартный рацион питания. Из эксперимента крыс выводили под кратковременным эфирным наркозом путем декапитации на 21, 35, 60 дни от начала эксперимента. Кровь, собранную в пробирки, центрифугировали (3000 об/мин, 15 мин.) и в полученной сыворотке определяли: уровень гликемии, содержание общего холестерина (Хс), липопротеинов низкой (Хс-ЛПНП) и высокой плотности (Хс-ЛПВП), триглицеридов (ТГ), активность ферментов – аланинаминотрансферазы (АЛТ), аспартатаминотрансферазы (АСТ), лактатдегидрогеназы (ЛДГ) с помощью автоматического биохимического анализатора AU-480 («Beckman Coulter», США) с использованием реактивов этого же производителя; концентрацию инсулина - на иммуноферментном анализаторе StatFax-2100 («Awareness Technology», США) реактивами компании ООО «Вектор-Бест», РФ. Измеряли массу тела животных до начала эксперимента, а также на 21-, 35- и 60 дни опыта. По результатам биохимических исследований рассчитывали: индекс атерогенности $IA = (Хс - Хс - ЛПВП) / Хс - ЛПВП$; индексы инсулинорезистентности $HOMA = (глюкоза \text{ натощак} \times \text{инсулин натощак}) / 22,5$; $CARO = \text{глюкоза натощак} / \text{инсулин натощак}$; коэффициент де Ритиса $= АСТ / АЛТ$. В гомогенатах тканей печени и кожи, а также

в сыворотке крови определяли содержание общих ГАГ по уровню гексуриновых кислот [8] в модификации П. Н. Шараева (1987), содержание сульфатированных ГАГ (сГАГ) – по методу Е. В. Карякиной (патент SU 1125548, 1984 г.), количество несulfатированных ГАГ (н/сГАГ) рассчитывали по формуле $n/cГАГ = \text{общие ГАГ} - \text{сГАГ}$.

Статистическую обработку данных выполняли в программе SPSS Statistica 10. Достоверность определяли с помощью непараметрического критерия Манна-Уитни, принимая различия между группами статистически значимыми при $p < 0,05$. Результаты исследований представляли в виде медианы и интерквартильного размаха $Me [Q1; Q2]$, а также вычисляли разницу в процентах по отношению к контролю.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В ходе эксперимента у крыс, получающих фруктозообогащенную диету, не наблюдалось

статистически значимого прироста массы тела по сравнению с контрольной группой (таблица 1). Так на 21, 35 и 60 дни прибавка массы тела опытной группы составила 4,3%, 13,6% и 12,7%, а в контрольной группе в эти же дни – 9,5%, 9% и 9,9% соответственно. Полученные результаты не противоречат ранее проведенным исследованиям [7; 9].

Повышение уровня глюкозы и инсулина в сыворотке крови опытных крыс отмечалось во все дни эксперимента (таблица 2); наибольший прирост глюкозы был отмечен на 35 день на 34,7% ($p < 0,05$), инсулина – на 60 день на 340% ($p < 0,05$).

Одновременно наблюдались изменения индексов НОМА и CARO с максимальными значениями на 60 день: увеличение НОМА в 5,2 раза с одновременным снижением индекса CARO в 3,4 раза по сравнению с контролем ($p < 0,05$).

Таблица 1

Изменения массы тела крыс при фруктозообогащенной диете по сравнению с контрольной группой

Срок эксперимента, сут.	21-й день		35-й день		60-й день	
	контроль (n=8)	опыт (n=8)	контроль (n=8)	опыт (n=8)	контроль (n=8)	опыт (n=8)
Прирост массы тела, %	9,5	4,3; p=1	9	13,6; p=1	9,9	12,7; p=1

Примечание: * - $p < 0,05$ при сравнении с контрольной группой; +/-% - разница в процентах по отношению к контролю.

Таблица 2

Показатели углеводного обмена в сыворотке крови крыс при фруктозообогащенной диете. (Me[Q1;Q2])

Показатели	21-й день эксперимента		35-й день эксперимента		60-й день эксперимента	
	Контроль (n=8)	Опыт (n=8)	Контроль (n=8)	Опыт (n=8)	Контроль (n=8)	Опыт (n=8)
глюкоза (ммоль/л)	6,48 [6,18;6,72]	8,01* [7,18;8,56] +23,6%	6,36 [5,92;6,71]	8,57* [7,97;10,28] +34,7%	6,53 [6,45;6,75]	7,87* [7,53;8,46] +20,5%
инсулин, мкЕд/мл	1,75 [1,45;2,10]	2,60* [2,35;3,05] +48,6%	1,65 [1,40;2,00]	3,60* [3,45;3,95] +118%	1,67 [1,52;2,00]	7,35* [4,90;8,50] +340%
НОМА, усл. ед.	0,50 [0,40;0,63]	0,91* [0,77;1,16]	0,47 [0,37;0,60]	1,37* [1,20;1,82]	0,49 [0,44;0,60]	2,57* [1,66;3,20]
CARO, усл. ед.	3,73 [3,21;4,31]	3,00* [2,81;3,12]	3,74 [3,36;4,39]	2,41* [2,31;2,60]	3,89 [3,43;4,10]	1,13* [0,99;1,68]

Примечание: * - достоверно значимые отличия ($p < 0,05$) по сравнению с контролем. +/-% - разница в процентах по отношению к контролю.

В ходе эксперимента у животных опытной группы также отмечались сдвиги показателей жирового обмена. Так, концентрация Хс и Хс-ЛПВП была выше контрольных значений во все дни эксперимента, ($p < 0,05$), с максимальным приростом к 60 дню на 73,9% и 143,5% соответственно, ($p < 0,05$). Статистически значимые изменения ТГ наблюдались на 35 и 60 день на 24,4% и

26,8% соответственно (таблица 3, рисунок 1). Известно, что у крыс, отмечается высокое содержание Хс-ЛПВП, которое поддерживается даже при избытке жиров в питании [9]. Возможно, этим объясняется повышение этих липопротеинов в наших опытах. Тем не менее, показатели ИА достоверно увеличились к 35 дню и сохранили свои значения после отмены диеты (на 60 день).

Таблица 3

Показатели липидного обмена в сыворотке крови крыс при фруктозообогащенной диете. (Ме[Q1;Q2])

Показатели	21-й день эксперимента		35-й день эксперимента		60-й день эксперимента	
	Контроль (n=8)	Опыт (n=8)	Контроль (n=8)	Опыт (n=8)	Контроль (n=8)	Опыт (n=8)
Хс (ммоль/л)	0,88 [0,82;0,94]	1,34* [0,91;1,60] + 52,3%	0,85 [0,79;0,93]	1,36* [1,28;1,81] +54,5 %	0,89 [0,84;0,95]	1,53* [1,27;1,77] +73,9 %
Хс-ЛПВП (ммоль/л)	0,47 [0,40;0,48]	0,66* [0,47;0,82] +40,4%	0,48 [0,41;0,50]	0,63* [0,54;0,85] +34%	0,46 [0,41;0,49]	0,67* [0,54;0,78] +42,5%
Хс-ЛПНП (ммоль/л)	0,23 [0,22;0,28]	0,44* [0,29;0,59] +91,3%	0,22 [0,20;0,25]	0,41* [0,29;0,51] +78,2%	0,25 [0,24;0,29]	0,56* [0,38;0,76] +143,5%
ТГ (ммоль/л)	0,41 [0,36;0,45]	0,47 [0,40;0,55] +14,6%	0,40 [0,36;0,43]	0,51* [0,50;0,83] +24,4%	0,41 [0,36;0,43]	0,52* [0,42;0,63] +26,8%
ИА, усл.ед.	0,93 [0,83;1,12]	0,94 [0,89;1,03]	0,84 [0,75;0,97]	1,21* [1,05;1,43]	0,95 [0,91;1,04]	1,27* [1,25;1,34]

Примечание: * - достоверно значимые отличия ($p < 0,05$) по сравнению с контролем. +/-% - разница в процентах по отношению к контролю.

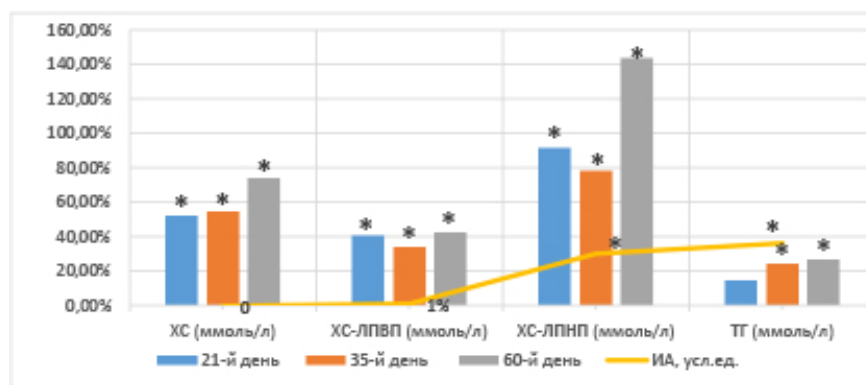


Рис.1. Изменение содержания показателей липидного обмена в сыворотке крови крыс при ФД (прирост в процентах по отношению к контролю).

Примечание: * - достоверно значимые отличия ($p < 0,05$) по сравнению с контролем.

Отмечалась повышенная активность АЛТ в сыворотке крови на 21, 35 и 60 дни на 32, 36 и 26% соответственно, ($p < 0,05$). Одновременно в эти же дни наблюдалось достоверное повышение

ЛДГ на 33, 98 и 110% ($p < 0,05$) соответственно. Коэффициент де Ритиса при этом статистически значимо снижался во все дни эксперимента в опытной группе (рисунок 2).

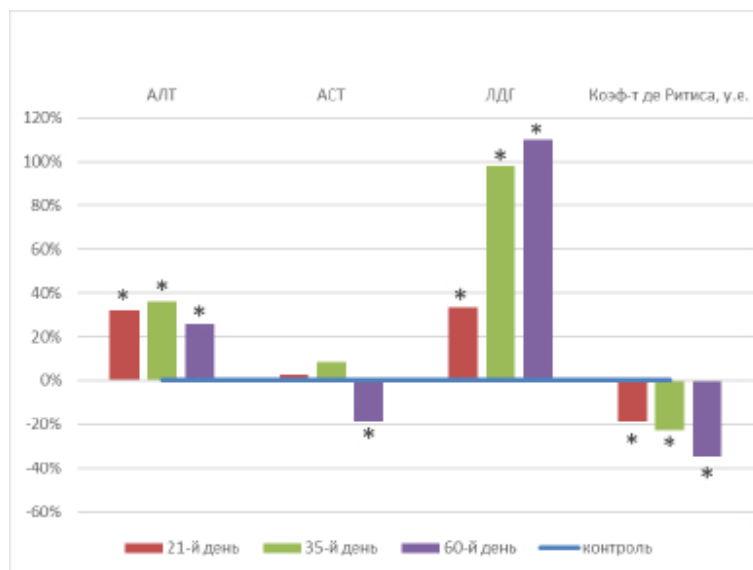


Рис.2. Изменения активности печеночных ферментов в сыворотке крови крыс при фруктозообогащенной диете (ФД) (прирост в процентах по отношению к контролю).

Примечание: * - достоверно значимые отличия ($p < 0,05$) по сравнению с контролем.

Фруктозообогащенная диета способствовала изменению содержания углеводсодержащих биополимеров в изучаемых тканях. Так, отмечалось снижение количества общих ГАГ в сыворотке крови крыс на 21 день на 26,3% ($p < 0,05$), с последующим нарастанием на 35 и 60 день на 41,5 и 45,7% ($p < 0,05$) по сравнению с контролем. Полученные данные обусловлены изменением в основном сульфатированной фракции ГАГ (рисунок 3).

В гомогенатах ткани печени статистически значимое нарастание общих ГАГ, наблюдаемое с 35 и 60 дня на 70,1% и 154,6% ($p < 0,05$) соответственно, связано с увеличением н/сГАГ. В гомогенатах кожи количество общих ГАГ было повышено во все дни эксперимента с максимальным значением на 21 день на 225,8% ($p < 0,05$) за счет сульфатированных ГАГ, в дальнейшем повышение было обусловлено за счет несulfатированной фракции.

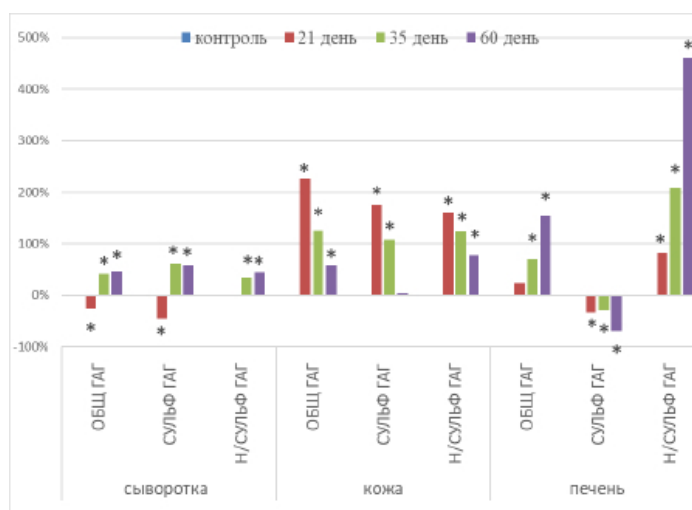


Рис. 3. Содержание общих гликозаминогликанов и их фракций в сыворотке крови, ткани печени и коже животных при фруктозообогащенной диете (прирост в процентах по отношению к контролю).

ОБСУЖДЕНИЕ

Повышение глюкозы в крови при фруктозообогащенной диете обусловлено, вероятно, осо-

бенностями метаболизма фруктозы. Поступая с пищей в больших количествах, часть фруктозы уже в кишечнике подвергается изомеризации с образованием глюкозы, другая ее часть - всасы-

вается в кишечнике с помощью белков-переносчиков и поступает в печень, где участвует в глюконеогенезе. Оба механизма могут способствовать повышению глюкозы в крови [10; 11]. Несмотря на то, что фруктоза не вызывает активации синтеза инсулина напрямую, повышение глюкозы в крови рефлекторно усиливает этот процесс, что подтверждается нарастанием концентрации инсулина на 118% ($p < 0,05$) к 35 дню эксперимента. При отмене диеты инсулин продолжал нарастать (340% ($p < 0,05$) на 60 день). Учитывая сопутствующее увеличение индекса НОМА с одновременным снижением индекса CARO у опытных животных, можно констатировать формирование ИР. Таким образом, изменения в углеводном обмене, вызванные ФД, сохранялись после ее отмены с нарастанием показателей в отдаленные сроки (на 60 день).

Известно, что поступающая с пищей в больших количествах фруктоза метаболизируется в печени через пируват до ацетил-КоА. При этом, происходит бесконтрольный синтез пировиноградной кислоты, так как активность фруктокиназы не зависит от количества конечного продукта. В результате, образующийся ацетил-КоА идет на синтез холестерина, жирных кислот, кетонных тел. Таким образом, обмен фруктозы ускоряет синтез жирных кислот в печени и их этерификацию с последующим образованием триглицеридов (ТГ) [12], что объясняет гиперхолестеринемию и гипертриглицеридемию в нашем эксперименте.

Кроме того, гипергликемия и формирующаяся ИР ингибируют действие инсулина на липолиз в жировой ткани, способствуют гликированию Хс-ЛПНП, которые задерживаясь в кровотоке захватываются моноцитами, макрофагами, гладкомышечными клетками сосудов, способствуя накоплению в них липидов [12]. Нарастание индекса атерогенности (ИА) в нашем опыте в 1,4 раза на 35 день подтверждает вышесказанное (таблица 3).

Увеличение синтеза Хс, Хс-ЛПНП и ТГ в ходе эксперимента и депонирование липидов в различных органах и тканях способствует развитию окислительного стресса, нарастанию уровня продуктов перекисного окисления липидов [13] и вызывает повреждение гепатоцитов, что подтверждается нарастанием активности АЛТ, ЛДГ во все дни эксперимента. Полученные данные свидетельствуют об активации цитолитических ферментов с преимущественным поражением клеток печени, что подтверждается снижением коэффициента де Ритиса во все дни эксперимента (рисунок 2).

Уменьшение общих ГАГ (за счет сГАГ) в сыворотке крови крыс с максимальным их приростом в коже на 21 день связано, возможно, с преобла-

данием синтетических процессов. Последующее нарастание общих ГАГ на 35 и 60 день, отмеченное, как в сыворотке крови, так и в гомогенатах печени и кожи, объясняется одновременным усилением как синтетических, так и катаболических процессов. Прирост общих ГАГ за счет несультативной фракции в гомогенатах печени и кожи на 35 и 60 дни ($p < 0,05$), связан, вероятно, с активным захватом гиалуроновой кислоты из сыворотки крови и увеличением внеклеточного матрикса изучаемых тканей, вызванное воспалением и повреждением печени [14].

Таким образом, развивающаяся в результате ФД, ИР, дислипидемия, активация цитолитических ферментов с преимущественным поражением гепатоцитов способствует развитию субклинического хронического воспаления [6; 15; 16], сопровождающегося деструкцией, что подтверждается увеличением общих ГАГ в сыворотке крови крыс на 35 день и в отдаленные сроки (на 60 день) эксперимента. С другой стороны, развитие воспаления способствует формированию тканевой гипертрофии, активируя синтез одного из компонентов соединительной ткани – гликозаминогликанов, что подтверждается увеличением общих ГАГ в тканях печени и коже на 35 день и в отдаленные сроки (на 60 день).

ВЫВОДЫ

1. Применение фруктозообогащенной диеты в течение 35 дней и после ее отмены (на 60 день) способствовало развитию гипергликемии, инсулинорезистентности, дислипидемии и нарастанию нарушений липидного обмена.
2. Рост количества общих гликозаминогликанов в изучаемых гомогенатах тканей и сыворотке крови при фруктозообогащенной диете свидетельствует об усилении одновременно как синтетических, так и катаболических процессов.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

ЛИТЕРАТУРА

1. Jitender Sorout, Sudhanshu Kacker, Neha Saboo Metabolic syndrome and possible treatments (consecutive therapies): a literature review, Department of Physiology, RUHS College of Medical Sciences, Jaipur, India, *Mižnarodnij endokrinologičnij žurnal*. 2022;18(6):351-357. doi:10.22141/2224-0721.18.6.2022.1206.
2. Баланова Ю. А., Имаева А. Э., Куценко В. А., Капустина А. В., Муромцева Г. А., Евсти-

- феева С. Е., Максимов С. А., Карамнова Н. С., Яровая Е. Б., Шальнова С. А., Драпкина О. М. Метаболический синдром и его ассоциации с социально-демографическими и поведенческими факторами риска в российской популяции 25-64 лет. Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2020;19(4):2600. doi:10.15829/1728-8800-2020-2600.
3. Moore J. X., Chaudhary N., Akinyemiju T. Metabolic syndrome prevalence by race/ethnicity and sex in the United States, National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-2012. *Prev Chronic Dis.* 2017;14(3):160287. doi:10.5888/pcd14.160287.
4. Ranasinghe P., Mathangasinghe Y., Jayawardena R. Prevalence and trends of metabolic syndrome among adults in the Asia-pacific region: A systematic review. *BMC Public Health.* 2017;17(1):101. doi:10.1186/s12889-017-4041-1.
5. Бойцов С. А., Демкина А. Е., Ощепкова Е. В., Долгушева Ю. А. Достижения и проблемы практической кардиологии в России на современном этапе. *Кардиология.* 2019;59(3):53-59. <https://doi.org/10.18087/cardio.2019.3.10242>.
6. Гилева О. Г., Бутолин Е. Г., Терещенко М. В., Оксюзян А. В. Влияние высокофруктозной диеты на уровень фибронектина в сыворотке крови крыс. *Вопросы питания.* 2020;89(2):46-51. doi:10.24411/0042-8833-2020-10015.
7. Решетняк М. В., Хирманов В. Н., Зыбина Н. Н., Фролова М. Ю., Сакута Г. А., Кудрявцев В. Н. Модель метаболического синдрома, вызванного кормлением фруктозой: патогенетические взаимосвязи обменных нарушений. *Медицинский академический журнал.* 2011;11(3):23-27. doi: 10.17816/MAJ11323-27.
8. Биохимия нормальной и патологически измененной соединительной ткани. Л. И. Слущкий. Изд-во: М.: Медицина;1969.
9. Лещенко Д. В., Костюк Н. В., Белякова М. Б., Егорова Е. Н., Миняев М. В., Петрова М. Б. Диетически индуцированные животные модели метаболического синдрома (обзор литературы). *Верхневолжский медицинский журнал.* 2015;14:34-39.
10. Болезни цивилизации: системные метаболические поражения / В. А. Максимов, К. К. Далидович, А. М. Федорук и др. Москва: АдамантЪ; 2020.
11. Биохимия: учебник / под ред. Е. С. Северина. 5-е изд., испр. и доп. М. : ГЭОТАР-Медиа; 2019.
12. Клиническая лабораторная диагностика: в 2 т. Т. 1/под ред. профессора В. В. Долгова. М.: ООО «Лабдиаг»; 2017.
13. Медведев И. Н. Динамика нарушений внутрисосудистой активности тромбоцитов у крыс в ходе формирования метаболического синдрома с помощью фруктозной модели. *Вопросы питания.* 2016;85(1):42-46.
14. Юпатов Г. И., Прищепенко В. А., Корнилов А. В. Гиалуронидазная активность сыворотки крови пациентов с циррозом печени. *Вестник ВГМУ.* 2016;15(1):48-54. doi:10.22263/2312-4156.2016.1.48 .
15. Ковалева Ю. В. Гормоны жировой ткани и их роль в формировании гормонального статуса и патогенезе метаболических нарушений у женщин. *Артериальная гипертензия.* 2015;21(4):356-370. doi:10.18705/1607-419X-2015-21-4-356-370.
16. Бакалец Н. Ф., Порошина Л.А. Метаболический синдром как фактор риска кожной патологии. *Проблемы здоровья и экологии.* 2018;(4):9-15. doi:10.51523/2708-6011.2018-15-4-2.

REFERENCES

1. Jitender Sorout, Sudhanshu Kacker, Neha Saboo Metabolic syndrome and possible treatments (consecutive therapies): a literature review, Department of Physiology, RUHS College of Medical Sciences, Jaipur, India, *Mižnarodnij endokrinologičnij žurnal.* 2022;18(6):351-357. doi:10.22141/2224-0721.18.6.2022.1206.
2. Balanova Yu. A., Imaeva A. E., Kutsenko V. A., Kapustina A. V., Muromtseva G. A., Evstifeeva S. E., Maksimov S. A., Karamnova N. S., Yarovaya E. B., Shalnova S. A., Drapkina O. M. Metabolic syndrome and its associations with socio-demographic and behavioral risk factors in the Russian Federation the population is 25-64 years old. *Cardiovascular therapy and prevention.* 2020;19(4):2600. (In Russ.). doi:10.15829/1728-8800-2020-2600.
3. Moore J. X., Chaudhary N., Akinyemiju T. Metabolic syndrome prevalence by race/ethnicity and sex in the United States, National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-2012. *Prev Chronic Dis.* 2017;14(3):160287. doi:10.5888/pcd14.160287.
4. Ranasinghe P., Mathangasinghe Y., Jayawardena R. Prevalence and trends of metabolic syndrome among adults in the Asia-pacific region: A systematic review. *BMC Public Health.* 2017;17(1):101. doi:10.1186/s12889-017-4041-1.
5. Boytsov S. A., Demkina A. E., Oshchepkova E. V., Dolgusheva Yu. A. Progress and Problems of Practical Cardiology in Russia at the Present Stage. *Kardiologija.* 2019;59(3):53-59. (In Russ.). doi:10.18087/cardio.2019.3.10242.
6. Gileva O. G., Butolin E. G., Tereshchenko M. V., Oksuzyan A. V. The effect of a high-fructose diet on the level of fibronectin in the blood serum of

rats. Nutrition issues. 2020;89(2):46-51. (In Russ.). doi:10.24411/0042-8833-2020-10015.

7. Reshetnyak M. V., Khirmanov V. N., Zybina N. N., Frolova M. Y., Sakuta G. A., Kudryavtsev B. N. Fructose-fed model of the metabolic syndrome: pathogenetic relationships between metabolic disorders // Medical academic journal. 2011;11(3):23-27. (In Russ.). doi:10.17816/MAJ11323-27.

8. Slutsky L. I. Biochemistry of normal and pathologically altered connective tissue. Publishing house: M.: Medicine; 1969. (In Russ.).

9. Leshchenko D. V., Kostiuk N. V., Belyakova M. B., Egorova E.N., Miniaev M. V., Petrova M. B. Diet-induced animal models of metabolic syndrome (literature review). Verkhnevolzhsky medical journal. 2015;14:34-39. (In Russ.).

10. Diseases of civilization: systemic metabolic lesions / V. A. Maksimov, K. K. Dalidovich, A.M. Fedoruk, et al. Moscow: Adamant, 2020. (In Russ.).

11. Biochemistry: textbook / edited by E. S. Severin. 5th ed., ispr. and add. M.: GEOTAR-Media; 2019. (In Russ.).

12. Clinical laboratory diagnostics: in 2 t. t. 1 / edited by Professor V. V. Dolgov. M.: LLC «Labdiag», 2017. (In Russ.).

13. Medvedev I. N. Dynamics of violations of intravascular platelet activity in rats during the formation of metabolic syndrome using a fructose model. Nutrition issues. Volume 85, No. 1, 2016. 42-46. (In Russ.).

14. Yupatov G. I., Pryshchepenka V. A., Kornilov A. V. Hyaluronidase activity of blood serum in patients with hepatic cirrhosis. Vestnik of Vitebsk State Medical University. .-2016.-Volume 15, No. 1.-pp. 48-54. (In Russ.). doi:10.22263/2312-4156.2016.1.48 .

15. Kovalyova Y. V. Adipose tissue hormones and their role for female fertility and metabolic disorders. «Arterial'naya Gipertenziya» («Arterial Hypertension»). 2015;21(4):356-370. (In Russ.). doi:10.18705/1607-419X-2015-21-4-356-370.

16. Bakalets N. F., Poroshina L. A. Metabolic Syndrome as a Risk Factor for Skin Pathology. Health and Ecology Issues. 2018;(4):9-15. (In Russ.). doi:10.51523/2708-6011.2018-15-4-2.

СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О ГЕНЕТИКЕ ОСТЕОАРТРИТА

Федуличев П. Н.

Кафедра топографической анатомии и оперативной хирургии, 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: Федуличев Павел Николаевич, к.м.н., доцент кафедры топографической анатомии и оперативной хирургии, Институт «Медицинская академия им. С. И. Георгиевского» ФГАОУ ВО «КФУ им. В. И. Вернадского», e-mail: p.fedulichev@gmail.com

For correspondence: Fedulichev Pavel Nikolaevich, PhD, Department of topographic anatomy and operative surgery, Institute «Medical Academy named after S. I. Georgievsky» of Vernadsky CFU, e-mail: p.fedulichev@gmail.com

Information about authors:

Fedulichev P. N., <https://orcid.org/0000-0002-5492-0270>

РЕЗЮМЕ

Исследования, связанные с генетикой, геномикой и эпигенетикой, за последние десятилетия выявили множество новых локусов риска, связанных с остеоартритом. Появляющиеся данные свидетельствуют о том, что локусы генетического риска остеоартрита играют важную роль в возникновении или прогрессировании заболевания, связаны с клиническими симптомами и могут использоваться в качестве многообещающих биомаркеров. В статье рассмотрены современные представления о генетических маркерах остеоартрита и оценке их значимости в развитии патологии суставов. Представлены сведения о наиболее значимых идентифицированных на сегодняшний день однонуклеотидных полиморфизмах, связанных с развитием заболевания. Приведены данные о величине отношения шансов возникновения и прогрессирования остеоартрита в случае наличия эффективного аллеля. Приведены данные о высокоэффективных генах, характеризующихся наивысшим уровнем достоверности в развитии заболевания. Описан ряд недавно установленных эффекторных генов, участвующих в развитии остеоартрита, с указанием для каждого однонуклеотидного варианта с эффективным аллелем величины шансов либо развития остеоартрита определенной локализации, либо перспективы тотального эндопротезирования сустава. Следует отметить, что современные исследователи генетики остеоартрита указывают, что остеоартрит является архетипическим примером распространенного полигенного заболевания, которое возникает из-за наследования множественных аллелей риска с умеренным индивидуальным воздействием. Знание роли генетических маркеров остеоартрита открывает перспективы развития персонализированного подхода – математическому прогнозированию степени предрасположенности к заболеванию у конкретного индивидуума задолго до манифестации заболевания, что даст возможность заблаговременно активно использовать потенциально защитные средства и подходы, ведущие к предупреждению или замедлению дегенеративно-дистрофического поражения суставов. В то же время, необходимо учитывать, что возникновение и прогрессирование патологии суставов обусловлено одновременным сочетанным влиянием генетических особенностей и целого ряда факторов риска заболевания.

Ключевые слова: остеоартрит, GWAS-исследования, эффекторные гены, полиморфизмы, отношение шансов.

MODERN CONCEPTS ABOUT THE GENETICS OF OSTEOARTHRITIS

Fedulichev P. N.

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

SUMMARY

Research related to genetics, genomics, and epigenetics over the past decades has identified many new risk loci associated with osteoarthritis. Emerging evidence suggests that genetic risk loci for osteoarthritis play an important role in the onset or progression of the disease, are associated with clinical symptoms, and can be used as promising biomarkers. The article discusses modern ideas about the genetic markers of osteoarthritis and the assessment of their significance in the development of joint pathology. Information is presented on the most significant single nucleotide polymorphisms identified to date associated with the development of the disease. The data on the value of the odds ratio of the occurrence and progression of osteoarthritis in the case of the presence of an effective allele are presented. The data on highly effective genes, characterized by the highest level of reliability in the development of the disease, are presented. A number of recently identified effector genes involved in the development of osteoarthritis are described, indicating for each single nucleotide variant with an effective allele the chances of either developing osteoarthritis of a certain localization, or the prospect of total joint replacement. It should be noted that modern researchers in the genetics of osteoarthritis point out that OA is an archetypal example of a common polygenic disease that arises from the inheritance of multiple risk alleles with a moderate individual impact. Knowledge of the role of genetic markers of osteoarthritis opens up prospects for the development of a personalized approach - mathematical prediction of the

degree of predisposition to the disease in a particular individual long before the manifestation of the disease, which will make it possible to actively use potentially protective agents and approaches leading to the prevention or slowdown of degenerative-dystrophic joint damage in advance. At the same time, it must be taken into account that the occurrence and progression of joint pathology is due to the simultaneous combined influence of genetic characteristics and a number of risk factors for the disease.

Key words: osteoarthritis, GWAS studies, effector genes, polymorphisms, odds ratio.

Остеоартрит (ОА) – тяжелое изнурительное заболевание, поражающее весь сустав и характеризующееся дегенерацией хряща, утолщением субхондральной кости, образованием остеофитов, синовиальным воспалением и структурными изменениями капсулы сустава, связок и связанных с ними мышц [1]. По оценкам, остеоартритом страдает более 500 миллионов человек во всем мире, а заболевание занимает 15-е место среди основных причин инвалидности [2]. Пожизненный риск развития симптоматического ОА коленного и тазобедренного суставов оценивается в 45 и 25% соответственно и характеризуется восходящей траекторией, коррелирующей с ростом ожирения и старением населения. В период с 2010 по 2019 год глобальная распространенность остеоартрита и связанные с ним годы, прожитые с инвалидностью, выросли на 27,5% [2]. Снижение физической активности, связанное с остеоартритом, приводит к стандартизированному коэффициенту смертности от всех причин, равному 1,55 (95% доверительный интервал от 1,41 до 1,70) по сравнению с общей популяцией [3].

Эпидемиологические факторы риска заболевания хорошо известны и включают пожилой возраст, женский пол, ожирение, морфологию и травмы суставов, семейный анамнез и др. [4; 5]. По оценкам, наследуемость ОА колеблется от 40% (для остеоартрита коленного сустава) до 60% (для остеоартрита тазобедренного сустава).

Исследования, связанные с генетикой, геномикой и эпигенетикой, за последние десятилетия выявили множество новых локусов риска, связанных с ОА. Появляющиеся данные свидетельствуют о том, что локусы генетического риска ОА играют важную роль в возникновении или прогрессировании заболевания, связаны с клиническими симптомами и могут использоваться в качестве многообещающих биомаркеров.

Благодаря быстрому развитию передовых высокопроизводительных технологий секвенирования (например, секвенирование нового поколения и секвенирование отдельных клеток) и методов омики (например, геномики, транскриптомики и метиломики) было получено множество данных о связях генетических факторов с возникновением ОА [6]. Кроме того, многие эффекторные гены были идентифицированы на основе анализа полногеномных ассоциатив-

ных исследований (GWAS), дифференциально экспрессируемых генов, областей дифференциального метилирования и секвенирования одноклеточной РНК [7]. При этом, несмотря на впечатляющий объем данных о генетических вариантах, связанных с ОА на сегодняшний день, текущая доля наследуемости, связанная с известными локусами риска ОА, составляет лишь чуть более 20% [8], что означает, что еще предстоит выявить большое количество неизвестных пока локусов.

Целью настоящего обзора явился анализ зарубежных и отечественных научных публикаций, посвященных изучению генетических маркеров остеоартрита и оценке их значимости в развитии патологии суставов.

При подготовке работы использовались научные публикации, вышедшие в период за 2000-2022 гг., представленные в электронных базах eLIBRARY, PubMedCentral, PubMed, GoogleScholar на английском и русском языках по ключевым словам «остеоартрит», «GWAS-исследования», «эффektorные гены», «полиморфизмы», «отношение шансов», «osteoarthritis», «GWAS studies», «effector genes», «polymorphisms», «odds ratio» и т.д.

По результатам проведенной работы установлено, что исследователи, проводящие GWAS, сосредотачивают свое внимание на случаях, когда диагностирована типичная возрастная форма заболевания, при которой дебют приходится на пятое десятилетие жизни. Кроме того, из анализа часто исключаются лица с посттравматическим ОА или другой явно негенетической природой заболевания. Логика здесь заключается в том, что группа будет состоять из лиц, у которых с большей вероятностью в основе заболевания будет лежать генетический компонент. Это наиболее распространенная форма ОА, которая, следовательно, представляет наибольшую актуальность.

Отбор случаев ОА в GWAS включает ряд диагностических инструментов, в том числе рентгенологические признаки сужения суставной щели, боль в суставах или необходимость замены пораженного сустава из-за тяжелого течения ОА. Случаи разделяются на подкатегории в зависимости от поражения конкретных участков скелета (в основном коленей, бедер, суставов рук) и GWAS выполняется как путем стратифи-

кации совместных участков, так и путем объединения всех случаев.

Исследования охватывают европейские когорты, лиц европейского происхождения, азиатские когорты и афроамериканцев. Чтобы повысить точность результатов, исследования проводятся совместно и обычно включают компонент открытия, за которым следуют репликация и метаанализ. Такая строгость позволила генетикам идентифицировать на сегодняшний день 223 однонуклеотидных полиморфизма (SNP), связанных с ОА, из которых 100 присущи только определенным фенотипам заболевания [9].

Величины эффектов аллелей, связанных с риском ОА, невелики, при этом подавляющее большинство отношений шансов составляют $<1,5$ [10], отсутствуют общие локусы с выраженным эффектом, наблюдаемые, например, в человеческом лейкоцитарном антигене при аутоиммунных заболеваниях, таких как ревматоидный артрит. Наибольшее отношение шансов (ОШ), зарегистрированное на сегодняшний день для ОА, составляет $16,70$ ($p = 4,00 \times 10^{-12}$) для SNP в гене олигомерного матриксного белка хряща (COMP) и для мутации сдвига рамки считывания rs532464664 в гене белка, подобного хондроагерину (CHADL) (ОШ = $7,70$, $p = 4,50 \times 10^{-18}$). Однако необходимо отметить, что данные полиморфизмы ограничены обширной исландской родословной и отсутствуют в других европейских популяциях [11]. Кроме того, достаточно высокое ОШ развития ОА тазобедренного сустава регистрируется для межгенного полиморфизма rs117018441 (ОШ = $5,89$, $p = 1,80 \times 10^{-25}$), полиморфизма rs143083812 гена белка Smoothed – неклассического трансмембранного рецептора, связанного с G-белком, опосредующим передачу сигналов в Hedgehog-пути (ОШ = $2,84$, $p = 7,90 \times 10^{-12}$) [12]. Также высокий риск развития у афроамериканцев ОА коленного сустава характерен для носителей полиморфизма межгенного rs7792864 (ОШ = $2,35$, $p = 4,00 \times 10^{-9}$) [13].

В целом, ОА является архетипическим примером распространенного полигенного заболевания, которое возникает из-за наследования множественных аллелей риска с умеренным индивидуальным воздействием. Это также согласуется с моделью «порога ответственности» полигенных заболеваний. Эта модель предусматривает, что существует непрерывный нормально распределенный признак, выражающий риск возникновения заболевания, полигенно подверженный влиянию многих генов, при этом у всех людей с силой комплекса влияющих факторов выше определенного значения развивается заболевание [10].

Существует два основных механизма, с помощью которых генетическая изменчивость может воздействовать на фенотип. Первый – это прямое влияние на структуру белка. Примером может служить результат генетического варианта, изменяющего код ДНК в кодирующей последовательности гена, что приводит к замене аминокислоты, в результате чего изменяется функция белка. Этот механизм характерен для многих менделевских заболеваний, однако он редко встречается при распространенных заболеваниях.

Второй механизм заключается в изменении регуляции экспрессии генов, что приводит к увеличению или снижению уровня мРНК гена, а затем и уровня кодируемого белка. Этот механизм реализуется подавляющим большинством генетических вариантов при распространенных заболеваниях. Генетические локусы, в которых генотипы SNP связаны с такими изменениями уровней экспрессии генов, называются локусами количественных признаков экспрессии. Следует отметить, что большинство генетических вариантов, которые до сих пор ассоциировались с распространенными заболеваниями, расположены в некодирующих областях генома. В частности, менее чем 10% всех SNP, ассоциированных с ОА, локализованы в последовательностях, кодирующих белок [10].

На данный момент идентифицировано 637 генов, по крайней мере, с одной линией доказательств, указывающих на предполагаемый эффекторный ген при ОА. Из них можно выделить 77 генов, имеющих как минимум 3 различных линии доказательств в поддержку их роли как эффекторного гена [9].

Наивысшим уровнем достоверности характеризуются три высокоэффекторных гена CHST3, SMAD3 и GDF5, каждый из которых имеет 6 различных линий доказательств в поддержку их участия в развитии ОА [9].

CHST3 (углеводная сульфотрансфераза 3) представляет собой недавно идентифицированный ген, который кодирует хондроитинсульфат. Хондроитинсульфат является основным протеогликаном, присутствующим в хрящах. Мутации в гене CHST3 связаны с низким ростом, врожденными вывихами суставов, косолапостью, синдромом Ларсена и дисплазией локтевых суставов, а также с дегенерацией дисков поясничного отдела. Также установлено, что полиморфизм rs3740129-А гена CHST3 ассоциирован с повышенным риском тотальной замены тазобедренного сустава вследствие ОА (ОШ = $1,08$, $p = 1,70 \times 10^{-11}$) [9].

SMAD3 кодирует одноименный белок из семейства SMAD, который представляет собой

ключевой внутриклеточный посредник передачи сигналов от рецепторов трансформирующего фактора роста β (transforming growth factor beta – TGF- β) в ядро хондроцита. Передача сигнала приводит к повышению синтеза коллагена II типа и протеогликана. Кроме того, данный фактор роста угнетает активность остеокластов, а также снижает экспрессию ферментов, вызывающих лизис хряща. Установлено, что полиморфизм rs12901372-С гена SMAD3 ассоциирован с повышенным риском развития ОА любой локализации (ОШ = 1,04, $p = 9,50 \times 10^{-9}$) [12].

Ген GDF5 кодирует одноименный специфичный для хрящевой ткани фактор дифференцировки роста 5. Сообщается о наличии ассоциации между мутациями вышеуказанного гена и многими скелетными дисплазиями, включая синдром Хантера-Томпсона, синдром Дюпана, хондродисплазию Гребе, брахидактилию типа С и типа А2 [14]. Полиморфизм rs143384-А гена GDF5 ассоциирован с повышенным риском развития ОА любой локализации (ОШ = 1,10, $p = 4,77 \times 10^{-23}$) [8].

Большинство эффекторных генов с высокой степенью достоверности связаны с развитием скелета (63 из 77) и деграцией суставов (50 из 77). Кратко остановимся на ряде эффекторных генов, участие которых в развитии ОА было установлено в течение последних нескольких лет. Три из них кодируют структурные белки: CHST3, COL2A1 и FBN2.

Ген COL2A1 кодирует альфа-1 цепь коллагена II типа – важный структурный компонент хряща, играющий существенную роль в формировании суставов и росте костей. С нарушением функции вышеуказанного гена связан широкий спектр заболеваний, включая аномалии хрящей и костей, такие как спондилоэпиметафизарная дисплазия, дисплазия Книста и остеоартрит с ранним началом. Носительство хотя бы одного минорного аллеля 33 интрона COL2A1 связано с повышенным риском ОА кистей (ОШ = 1,58, $p < 0,05$) и количеством пораженных суставов [15].

Ген FBN2 кодирует фибриллин 2 – гликопротеин, который образует микрофибриллы во внеклеточном матриксе и играет главную роль во время раннего морфогенеза. Фибриллины обладают выраженным регулирующим эффектом иммунного ответа, воспаления и тканевого гомеостаза, играют важную роль в ремоделировании кости и регулируют локальную доступность костного морфогенетического белка (bone morphogenetic protein – BMP) и TGF- β [16]. Полиморфизм rs17615906-Т гена FBN2 связан со сниженным риском развития ОА коленного и/или тазобедренного суставов (ОШ = 0,95, $p = 3,76 \times 10^{-11}$) [9].

Несколько генов связаны с сигнальными путями. Ген VGLL4 кодирует одноименный белок из рудиментарного семейства транскрипционных ко-факторов. Данный белок функционирует как регулятор передачи сигналов Wnt/ β -catenin, а снижение функции гена VGLL4 связано с активацией генов-мишеней канонического (β -катенин-зависимого) Wnt-сигнального пути [17]. Показано, что полиморфизм rs2276749-Т гена VGLL4 влияет на вероятность тотального эндопротезирования тазобедренного сустава при ОА (ОШ = 0,86, $p = 3,34 \times 10^{-9}$) [9].

Члены Wnt-семейства Wnt1 (ген WNT1) и Wnt10B (ген WNT10B) участвуют в Wnt-сигнальном пути, для которого установлена важная роль в патогенезе ОА. Мутации в гене WNT10B обнаруживают связи с дефектами конечностей и аномалиями зубов, а мутации в гене WNT1 связаны с незавершенным остеогенезом [18]. Также установлено, что полиморфизм rs7967762-Т гена WNT10B связан с повышенной вероятностью тотального эндопротезирования коленного сустава (ОШ = 1,11; $p = 4,41 \times 10^{-10}$) [9].

Рецептор инсулиноподобного фактора роста 1 (ген IGF1R) обладает тирозинкиназной активностью, опосредует действие инсулиноподобного фактора роста и регулирует минерализацию хряща [19]. Полиморфизм rs12914479-С гена IGF1R связан с развитием ОА коленного сустава (ОШ = 1,04; $p = 7,12 \times 10^{-9}$) [9].

Синтаза оксида азота 3 (ген NOS3) кодирует изоформу синтазы оксида азота эндотелия сосудов. Изменения в гене NOS3 ассоциированы со спорадическими дефектами конечностей у мышей. Доказано, что этот фермент участвует в ремоделировании костей у крыс. Полиморфизм rs7787744-А гена NOS3 обуславливает повышенный риск тотального эндопротезирования коленного сустава при ОА (ОШ = 1,08; $p = 1,29 \times 10^{-9}$) [9].

Ген LMX1B кодирует LIM гомеобокс транскрипционный фактор 1 бета. Мутации в LMX1B вызывают редкое аутосомно-доминантное заболевание, характеризующееся дистрофией ногтей, гипоплазией или отсутствием надколенников и дисплазией локтей и подвздошных рогов [20]. Полиморфизм rs62578126-Т гена LMX1B сопровождается снижением риска тотального эндопротезирования тазобедренного сустава (ОШ = 0,92, $p = 1,39 \times 10^{-12}$) [9].

Ген PTCH1 кодирует одноименный белок-рецептор, являющийся компонентом пути передачи внутриклеточного сигнала Hedgehog, и играет важную роль в контроле пролиферации хондроцитов, а также в стимуляции остеогенеза во время формирования эндохондральной

кости и продольного роста [21]. Полиморфизм rs76340814-А гена PTCN1 связан с вероятностью тотального эндопротезирования коленного и/или тазобедренного суставов из-за ОА левого, правого или обоих суставов (ОШ = 0,89; $p = 1,87 \times 10^{-9}$) [9].

Еще несколько недавно идентифицированных эффекторных генов, с высокой степенью достоверности связанных с ОА, играют важную роль в развитии нервной ткани. Аугурин, белок, кодируемый геном C2orf40 (также ген именуется как ECRG4), участвует в развитии центральной нервной системы и демонстрирует связь с нейропатологическими особенностями болезни Альцгеймера и связанной с ней деменций [22]. Полиморфизм rs66989638-А гена C2orf40 связан с увеличением риска выполнения тотального эндопротезирования тазобедренного сустава (ОШ = 1,12; $p = 3,31 \times 10^{-11}$) [9].

SNV вблизи TSEN15 были тесно связаны с антропометрическими признаками, которые имеют эпидемиологическую связь с остеоартритом. От активности гена зависят такие показатели как рост, распределение жира в организме, скорректированная окружность талии [23]. Полиморфизм rs1327123-С гена TSEN15 сопровождается снижением вероятности проведения тотального эндопротезирования тазобедренного сустава вследствие ОА (ОШ = 0,91, $p = 2,44 \times 10^{-16}$) [9].

Гомеодоменный белок Cux1 (ген CUX1) является транскрипционным фактором, участвующим в дифференцировке и синаптогенезе нейронов головного мозга [24]. Экспрессия этого белка также наблюдается в хондрогенных интерзонах во время развития конечностей, что подтверждает регуляторную роль молекул Cux1 и в формировании суставов. Полиморфизм rs116934101-А гена CUX1 связан с частотой выполнения тотального эндопротезирования коленного и/или тазобедренного суставов из-за ОА либо одного, либо обоих суставов (ОШ = 1,06; $p = 7,12 \times 10^{-9}$) [9].

Ген, продуктом которого является TRIO и f-актин-связывающий протеин (TRIOBP), кодирует несколько изоформ белка через 2 промотора. TRIOBP-1 повсеместно экспрессируется и играет решающую роль в морфогенезе нейронов, контролируя организацию актинового цитоскелета, подвижность и рост клеток [25]. Полиморфизм rs12160491-А гена TRIOBP сопровождается снижением риска тотального эндопротезирования тазобедренного сустава (ОШ = 0,93, $p = 1,28 \times 10^{-10}$) [9].

Белок 2, родственник миотубуларину (ген MTMR2), играет важную роль в обеспечении контакта с клеточной мембраной, везикулярном

транспорте и регуляции путей передачи сигнала. Мутации в MTMR2 вызывают болезнь Шарко-Мари-Тута типа 4В, которая характеризуется генерализованной потерей крупных миелиновых нервных волокон и фокально складчатыми миелиновыми оболочками, что приводит к неадекватной передаче нервных сигналов к мышцам, и, как следствие, мышечной слабости и атрофии [26]. Полиморфизм rs10831475-А гена MTMR2 связан с показателями тотального эндопротезирования коленного и/или тазобедренного суставов из-за ОА (ОШ = 1,08; $p = 5,89 \times 10^{-12}$) [9].

Повсеместно экспрессируемый CREB-связывающий белок (CREBBP), играет критическую роль во время развития, в частности, в регуляции размера мозга, правильной дифференцировке нервных клеток и миграции нервных клеток-предшественников [27]. Полиморфизм rs6500609-С гена CREBBP сопровождается снижением риска развития ОА коленного сустава (ОШ = 0,94, $p = 5,16 \times 10^{-9}$) [9].

Холинергический мускариновый рецептор 2 (CHRM2) участвует в опосредовании клеточных ответов. Обнаружена его продукция и в клетках нейробластомы человека. Нарушения функции гена CHRM2 предрасполагают к различным психоневрологическим заболеваниям и болезни Альцгеймера [28]. Полиморфизм rs571734653-А гена CHRM2 связан с развитием ОА коленного и/или тазобедренного суставов (ОШ = 6,03; $p = 5,56 \times 10^{-9}$) [9].

Белок, ассоциированный с синаптосомами, (ген SNAP47) представляет собой один из компонентов белков прикрепления (SNARE), участвующих в слиянии внутриклеточных транспортных везикул с клеточной мембраной или органеллой-мишенью, такой как лизосома. Слияние, опосредованное SNARE, является важным механизмом, который управляет синаптической передачей, развитием и ростом нейронов. SNAP47 играет роль в экзоцитарном режиме и морфогенезе нейронов [29]. Полиморфизм rs11588850-А гена SNAP47 сопровождается снижением риска развития ОА большого пальца (ОШ = 0,87, $p = 3,53 \times 10^{-10}$) [9].

Некоторые гены кандидаты для ОА, обеспечивают продукцию иммунных или воспалительных факторов. Например, ген TLR4 кодирует toll-like рецептор 4 (TLR4), который играет фундаментальную роль в распознавании патогенов и активации врожденного иммунного ответа [30]. TLR4 также активируется собственными молекулами организма, в том числе генерируемыми поврежденными тканями при различной скелетно-мышечной патологии. TLR4 характеризуется экспрессией в хондроцитах, остеобластах и синовиоцитах. По всей видимости, это и объ-

ясняет ассоциации между мутациями гена TLR4 и такими заболеваниями, как ревматоидный артрит, остеоартрит, остеопороз. Причем ген TLR4 или его продукт могут выступать мишенями для новых разрабатываемых лечебных средств, направленных на модуляцию или ингибирование TLR4. Полиморфизм rs10983775-Т гена TLR4 связан с развитием ОА тазобедренного сустава (ОШ = 0,95; $p = 4,65 \times 10^{-9}$) [9].

Активация Т-лимфоцитов может стимулировать остеокластогенез и усиливать резорбцию кости путем влияния на экспрессию члена суперсемейства лигандов фактора некроза опухоли 11 (TNFSF11). TNFSF11 кодирует активатор рецептора лиганда ядерного фактора каппа- β (RANKL), цитокина, который является важнейшим стимулятором остеокластогенеза [31-33]. Установлено, что с повышенными уровнями RANKL связана тяжесть артрита, а полиморфизм rs58973023-А гена TNFSF11 увеличивает риск развития заболевания коленного сустава (ОШ = 1,06; $p = 4,72 \times 10^{-10}$) [9].

Первый член С-группы ядерных рецепторов третьего подсемейства (ген NR3C1) представляет собой глюкокортикоидный рецептор, который циркулирует в цитоплазме и участвует в воспалительной реакции. При остеоартрите эндогенная передача сигналов глюкокортикоидов в остеобластах и хондроцитах отрицательно влияет на течение заболевания [34]. Полиморфизм rs10062749-Т гена NR3C1 связан с развитием ОА суставов кисти (ОШ = 1,08; $p = 2,04 \times 10^{-9}$) [9].

Фосфофруктокиназа (ген PFKM) играет важную роль в функционировании мышечной ткани. PFKM кодирует мышечный изофермент, который катализирует фосфорилирование фруктозо-6-фосфата во время гликолиза. Мутации в этом гене приводят к болезни Таруи (болезнь накопления гликогена 7 типа), которая представляет собой аутосомно-рецессивное нарушение обмена веществ, клинически характеризующееся непереносимостью физической нагрузки, мышечными спазмами, миопатией физической нагрузки и компенсированным гемолизом [35]. Полиморфизм rs7967762-Т гена PFKM обнаруживает связь с повышенной частотой тотального эндопротезирования коленного сустава при ОА (ОШ = 1,11; $p = 4,41 \times 10^{-10}$) [9].

Таким образом, обобщая современные представления о генетике остеоартрита, необходимо отметить, что благодаря достаточно строгому в плане критериев включения и исключения анализу полногеномных ассоциативных исследований, накоплен большой объем знаний о роли генетических факторов в развитии и прогрессировании ОА. На данный момент идентифицировано 223

однонуклеотидных полиморфизмов, связанных с ОА, из которых 100 присущи только определенным фенотипам заболевания. Также идентифицировано 637 генов, по крайней мере, с одной линией доказательств, указывающих на предполагаемый эффекторный ген при остеоартрите. 77 генов имеют как минимум 3 различных линии доказательств в поддержку их роли эффекторного гена при ОА. При этом акцентируется внимание, что ОА является архетипическим примером распространенного полигенного заболевания, которое возникает из-за наследования множественных аллелей риска с умеренным индивидуальным воздействием. Наивысшим уровнем достоверности в развитии остеоартрита характеризуются высокоэффекторные гены CHST3, SMAD3 и GDF5. Большинство эффекторных генов с высокой степенью достоверности связаны с развитием скелета (63 из 77) и деградацией суставов (50 из 77). В целом, эффекторные гены, участвующие в развитии ОА, кодируют широкий спектр молекул, включающий структурные белки, сигнальные пептиды, ферменты, рецепторы, регуляторы иммунного ответа и воспаления.

Знание роли генетических маркеров остеоартрита открывает перспективы развития персонализированного подхода – математическому прогнозированию степени предрасположенности к заболеванию у конкретного индивидуума задолго до манифестации заболевания, что даст возможность заблаговременно активно использовать потенциально защитные средства и подходы, ведущие к предупреждению или замедлению дегенеративно-дистрофического поражения суставов. В то же время, необходимо учитывать, что возникновение и прогрессирование патологии суставов обусловлено одновременным сочетанным влиянием генетических особенностей и целого ряда факторов риска заболевания.

Финансирование. Исследование выполнено при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, программа «Приоритет-2030».

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

ЛИТЕРАТУРА

1. Hunter D. J., Bierma-Zeinstra S. Osteoarthritis. *Lancet*. 2019;393(10182):1745-1759. doi: 10.1016/S0140-6736(19)30417-9.
2. GBD 2019 Diseases and Injuries Collaborators. Global burden of 369 diseases and injuries in 204 countries and territories, 1990-2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *Lancet*. 2020;396(10258):1204-1222. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30925-9.

3. Nüesch E., Dieppe P., Reichenbach S., Williams S., Iff S., Jüni P. All cause and disease specific mortality in patients with knee or hip osteoarthritis: population based cohort study. *BMJ*. 2011;342:d1165. doi: 10.1136/bmj.d1165.
4. Berseau J. P. Knee Pain from Osteoarthritis: Pathogenesis, Risk Factors, and Recent Evidence on Physical Therapy Interventions. *J Clin Med*. 2022;11(12):3252. doi: 10.3390/jcm11123252.
5. Sanchez-Lopez E., Coras R., Torres A., Lane N. E., Guma M. Synovial inflammation in osteoarthritis progression. *Nat Rev Rheumatol*. 2022;18(5):258-275. doi: 10.1038/s41584-022-00749-9.
6. Ratneswaran A., Kapoor M. Osteoarthritis year in review: genetics, genomics, epigenetics. *Osteoarthritis Cartilage*. 2021;29(2):151-160. doi: 10.1016/j.joca.2020.11.003.
7. Li J., Yang X., Chu Q., Xie L., Ding Y., Xu X., Timko M. P., Fan L. Multi-omics molecular biomarkers and database of osteoarthritis. *Database (Oxford)*. 2022;2022:baac052. doi: 10.1093/database/baac052.
8. Tachmazidou I., Hatzikotoulas K., Southam L., Esparza-Gordillo J., Haberland V. Identification of new therapeutic targets for osteoarthritis through genome-wide analyses of UK Biobank data. *Nat Genet*. 2019;51(2):230-236. doi: 10.1038/s41588-018-0327-1.
9. Boer C. G., Hatzikotoulas K., Southam L., Stefánsdóttir L., Zhang Y. Deciphering osteoarthritis genetics across 826,690 individuals from 9 populations. *Cell*. 2021;184(18): 4784-4818.e17. doi: 10.1016/j.cell.2021.07.038.
10. Aubourg G., Rice S. J., Bruce-Wootton P., Loughlin J. Genetics of osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage*. 2022;30(5):636-649. doi: 10.1016/j.joca.2021.03.002.
11. Styrkarsdóttir U., Helgason H., Sigurdsson A., Norddahl G. L., Agustsdóttir A. B. Whole-genome sequencing identifies rare genotypes in COMP and CHADL associated with high risk of hip osteoarthritis. *Nat Genet*. 2017;49(5):801-805. doi: 10.1038/ng.3816.
12. Styrkarsdóttir U., Lund S. H., Thorleifsson G., Zink F., Stefansson O. A. Meta-analysis of Icelandic and UK data sets identifies missense variants in SMO, IL11, COL11A1 and 13 more new loci associated with osteoarthritis. *Nat Genet*. 2018;50(12):1681-1687. doi: 10.1038/s41588-018-0247-0.
13. Liu Y., Yau M. S., Yerges-Armstrong L. M., Duggan D. J., Renner J. B. Genetic Determinants of Radiographic Knee Osteoarthritis in African Americans. *J Rheumatol*. 2017;44(11):1652-1658. doi: 10.3899/jrheum.161488.
14. Takahata Y., Hagino H., Kimura A., Urushizaki M., Yamamoto S., Wakamori K. Regulatory Mechanisms of Prg4 and Gdf5 Expression in Articular Cartilage and Functions in Osteoarthritis. *Int J Mol Sci*. 2022;23(9):4672. doi: 10.3390/ijms23094672.
15. Hämäläinen S., Solovieva S., Hirvonen A., Vehmas T., Takala E. P., COL2A1 gene polymorphisms and susceptibility to osteoarthritis of the hand in Finnish women. *Ann Rheum Dis*. 2009;68(10):1633-1637. doi: 10.1136/ard.2008.094706.
16. Nistala H., Lee-Arteaga S., Smaldone S., Siciliano G., Carta L., Ono R. N. Fibrillin-1 and -2 differentially modulate endogenous TGF- β and BMP bioavailability during bone formation. *J Cell Biol*. 2010;190(6):1107-1121. doi: 10.1083/jcb.201003089.
17. Jiao S., Li C., Hao Q., Miao H., Zhang L., Li L., Zhou Z. VGLL4 targets a TCF4-TEAD4 complex to coregulate Wnt and Hippo signalling in colorectal cancer. *Nat Commun*. 2017;8:14058. doi: 10.1038/ncomms14058.
18. Майлян Э. А. Мультифакторность этиопатогенеза остеопороза и роль генов канонического WNT-сигнального пути. *Остеопороз и остеопатии*. 2015;2:15-19.
19. Heilig J., Paulsson M., Zaucke F. Insulin-like growth factor 1 receptor (IGF1R) signaling regulates osterix expression and cartilage matrix mineralization during endochondral ossification. *Bone*. 2016;83:48-57. doi: 10.1016/j.bone.2015.10.007.
20. Marini M., Boccardi R., Gimelli S., Di Duca M., Divizia M. T. A spectrum of LMX1B mutations in Nail-Patella syndrome: new point mutations, deletion, and evidence of mosaicism in unaffected parents. *Genet Med*. 2010;12(7):431-439. doi: 10.1097/GIM.0b013e3181e21afa.
21. Alman B. A. The role of hedgehog signalling in skeletal health and disease. *Nat Rev Rheumatol*. 2015;11(9):552-560. doi: 10.1038/nrrheum.2015.84.
22. Beecham G. W., Hamilton K., Naj A. C., Martin E. R., Huentelman M. Genome-wide association meta-analysis of neuropathologic features of Alzheimer's disease and related dementias. *PLoS Genet*. 2014;10(9):e1004606. doi: 10.1371/journal.pgen.1004606.
23. Hübel C., Gaspar H. A., Coleman J. R. I., Finucane H., Purves K. L. Genomics of body fat percentage may contribute to sex bias in anorexia nervosa. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*. 2019;180(6):428-438. doi: 10.1002/ajmg.b.32709.
24. Cubelos B., Sebastián-Serrano A., Beccari L., Calcagnotto M. E., Cisneros E. Cux1 and Cux2 regulate dendritic branching, spine morphology, and

synapses of the upper layer neurons of the cortex. *Neuron*. 2010;66(4):523-535. doi: 10.1016/j.neuron.2010.04.038.

25. Zaharija B., Samardžija B., Bradshaw N. J. The TRIOBP Isoforms and Their Distinct Roles in Actin Stabilization, Deafness, Mental Illness, and Cancer. *Molecules*. 2020;25(21):4967. doi: 10.3390/molecules25214967.

26. Volpatti J. R., Al-Maawali A., Smith L., Al-Hashim A., Brill J. A., Dowling J. J. The expanding spectrum of neurological disorders of phosphoinositide metabolism. *Dis Model Mech*. 2019;12(8):dmm038174. doi: 10.1242/dmm.038174.

27. Schoof M., Launspach M., Holdhof D., Nguyen L., Engel V. The transcriptional coactivator and histone acetyltransferase CBP regulates neural precursor cell development and migration. *Acta Neuropathol Commun*. 2019;7(1):199. doi: 10.1186/s40478-019-0849-5.

28. Rajji T. K., Chow T. W., Voineskos A. N., Links K. A., Miranda D. Cholinergic pathways and cognition in patients with schizophrenia: a pilot study. *Schizophr Res*. 2012;139(1-3):46-52. doi: 10.1016/j.schres.2012.06.006.

29. Urbina F. L., Menon S., Goldfarb D., Edwards R., Ben Major M., Brennwald P., Gupton S. L. TRIM67 regulates exocytic mode and neuronal morphogenesis via SNAP47. *Cell Rep*. 2021;34(6):108743. doi: 10.1016/j.celrep.2021.108743.

30. Tatematsu M., Yoshida R., Morioka Y., Ishii N., Funami K. Raftlin Controls Lipopolysaccharide-Induced TLR4 Internalization and TICAM-1 Signaling in a Cell Type-Specific Manner. *J Immunol*. 2016;196(9):3865-76. doi: 10.4049/jimmunol.1501734.

31. Майлян Э. А. Уровни цитокинов у женщин постменопаузального возраста в зависимости от полиморфизмов генов IL-6, TNFSF11 и TNFRSF11B. *Научные ведомости Белгородского государственного университета. Медицина. Фармация*. 2018;41(2):235-244. doi: 10.18413/2075-4728-2018-41-2-235-244.

32. Майлян Э. А. Показатели денситометрии костной ткани у женщин в постменопаузальном возрасте в зависимости от полиморфизма rs9594738 (C>T) гена TNFSF11. *Кубанский научный медицинский вестник*. 2017;2:104-109.

33. Майлян Э. А. Минеральная плотность костной ткани у женщин в постменопаузу в зависимости от полиморфизма rs9594759 гена TNFSF11. *Вестник Смоленской государственной медицинской академии*. 2017;16(2):22-27.

34. Macfarlane E., Seibel M. J., Zhou H. Arthritis and the role of endogenous glucocorticoids. *Bone Res*. 2020;8:33. doi: 10.1038/s41413-020-00112-2.

35. Raben N., Sherman J. B. Mutations in muscle phosphofructokinase gene. *Hum Mutat*. 1995;6(1):1-6. doi:10.1002/humu.1380060102.

REFERENCES

1. Hunter D. J., Bierma-Zeinstra S. Osteoarthritis. *Lancet*. 2019;393(10182):1745-1759. doi: 10.1016/S0140-6736(19)30417-9.

2. GBD 2019 Diseases and Injuries Collaborators. Global burden of 369 diseases and injuries in 204 countries and territories, 1990-2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *Lancet*. 2020;396(10258):1204-1222. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30925-9.

3. Nüesch E., Dieppe P., Reichenbach S., Williams S., Iff S., Jüni P. All cause and disease specific mortality in patients with knee or hip osteoarthritis: population based cohort study. *BMJ*. 2011;342:d1165. doi: 10.1136/bmj.d1165.

4. Berteau J. P. Knee Pain from Osteoarthritis: Pathogenesis, Risk Factors, and Recent Evidence on Physical Therapy Interventions. *J Clin Med*. 2022;11(12):3252. doi: 10.3390/jcm11123252.

5. Sanchez-Lopez E., Coras R., Torres A., Lane N. E., Guma M. Synovial inflammation in osteoarthritis progression. *Nat Rev Rheumatol*. 2022;18(5):258-275. doi: 10.1038/s41584-022-00749-9.

6. Ratneswaran A., Kapoor M. Osteoarthritis year in review: genetics, genomics, epigenetics. *Osteoarthritis Cartilage*. 2021;29(2):151-160. doi: 10.1016/j.joca.2020.11.003.

7. Li J., Yang X., Chu Q., Xie L., Ding Y., Xu X., Timko M. P., Fan L. Multi-omics molecular biomarkers and database of osteoarthritis. *Database (Oxford)*. 2022;2022:baac052. doi: 10.1093/database/baac052.

8. Tachmazidou I., Hatzikotoulas K., Southam L., Esparza-Gordillo J., Haberland V. Identification of new therapeutic targets for osteoarthritis through genome-wide analyses of UK Biobank data. *Nat Genet*. 2019;51(2):230-236. doi: 10.1038/s41588-018-0327-1.

9. Boer C. G., Hatzikotoulas K., Southam L., Stefánsdóttir L., Zhang Y. Deciphering osteoarthritis genetics across 826,690 individuals from 9 populations. *Cell*. 2021;184(18): 4784-4818.e17. doi: 10.1016/j.cell.2021.07.038.

10. Aubourg G., Rice S. J., Bruce-Wootton P., Loughlin J. Genetics of osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage*. 2022;30(5):636-649. doi: 10.1016/j.joca.2021.03.002.

11. Styrkarsdóttir U., Helgason H., Sigurdsson A., Norddahl G. L., Agustsdóttir A. B. Whole-genome sequencing identifies rare genotypes in COMP and CHADL associated with high risk of

- hip osteoarthritis. *Nat Genet.* 2017;49(5):801-805. doi: 10.1038/ng.3816.
12. Styrkarsdottir U., Lund S. H., Thorleifsson G., Zink F., Stefansson O. A. Meta-analysis of Icelandic and UK data sets identifies missense variants in SMO, IL11, COL11A1 and 13 more new loci associated with osteoarthritis. *Nat Genet.* 2018;50(12):1681-1687. doi: 10.1038/s41588-018-0247-0.
13. Liu Y., Yau M. S., Yerges-Armstrong L. M., Duggan D. J., Renner J. B. Genetic Determinants of Radiographic Knee Osteoarthritis in African Americans. *J Rheumatol.* 2017;44(11):1652-1658. doi: 10.3899/jrheum.161488.
14. Takahata Y., Hagino H., Kimura A., Urushizaki M., Yamamoto S., Wakamori K. Regulatory Mechanisms of Prg4 and Gdf5 Expression in Articular Cartilage and Functions in Osteoarthritis. *Int J Mol Sci.* 2022;23(9):4672. doi: 10.3390/ijms23094672.
15. Hämäläinen S., Solovieva S., Hirvonen A., Vehmas T., Takala E. P., COL2A1 gene polymorphisms and susceptibility to osteoarthritis of the hand in Finnish women. *Ann Rheum Dis.* 2009;68(10):1633-1637. doi: 10.1136/ard.2008.094706.
16. Nistala H., Lee-Arteaga S., Smaldone S., Siciliano G., Carta L., Ono R. N. Fibrillin-1 and -2 differentially modulate endogenous TGF- β and BMP bioavailability during bone formation. *J Cell Biol.* 2010;190(6):1107-1121. doi: 10.1083/jcb.201003089.
17. Jiao S., Li C., Hao Q., Miao H., Zhang L., Li L., Zhou Z. VGLL4 targets a TCF4-TEAD4 complex to coregulate Wnt and Hippo signalling in colorectal cancer. *Nat Commun.* 2017;8:14058. doi: 10.1038/ncomms14058.
18. Maylyan E. A. The multifactorial nature of the osteoporosis etiopathogenesis and the role of the canonical WNT-signaling pathway genes. *Osteoporosis and osteopathy.* 2015;(2):15-19. (In Russ.).
19. Heilig J., Paulsson M., Zaucke F. Insulin-like growth factor 1 receptor (IGF1R) signaling regulates osterix expression and cartilage matrix mineralization during endochondral ossification. *Bone.* 2016;83:48-57. doi: 10.1016/j.bone.2015.10.007.
20. Marini M., Bocciardi R., Gimelli S., Di Duca M., Divizia M. T. A spectrum of LMX1B mutations in Nail-Patella syndrome: new point mutations, deletion, and evidence of mosaicism in unaffected parents. *Genet Med.* 2010;12(7):431-439. doi: 10.1097/GIM.0b013e3181e21afa.
21. Alman B. A. The role of hedgehog signalling in skeletal health and disease. *Nat Rev Rheumatol.* 2015;11(9):552-560. doi: 10.1038/nrrheum.2015.84.
22. Beecham G. W., Hamilton K., Naj A. C., Martin E. R., Huentelman M. Genome-wide association meta-analysis of neuropathologic features of Alzheimer's disease and related dementias. *PLoS Genet.* 2014;10(9):e1004606. doi: 10.1371/journal.pgen.1004606.
23. Hübel C., Gaspar H. A., Coleman J. R. I., Finucane H., Purves K. L. Genomics of body fat percentage may contribute to sex bias in anorexia nervosa. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* 2019;180(6):428-438. doi: 10.1002/ajmg.b.32709.
24. Cubelos B., Sebastián-Serrano A., Beccari L., Calcagnotto M. E., Cisneros E. Cux1 and Cux2 regulate dendritic branching, spine morphology, and synapses of the upper layer neurons of the cortex. *Neuron.* 2010;66(4):523-535. doi: 10.1016/j.neuron.2010.04.038.
25. Zaharija B., Samardžija B., Bradshaw N. J. The TRIOBP Isoforms and Their Distinct Roles in Actin Stabilization, Deafness, Mental Illness, and Cancer. *Molecules.* 2020;25(21):4967. doi: 10.3390/molecules25214967.
26. Volpatti J. R., Al-Maawali A., Smith L., Al-Hashim A., Brill J. A., Dowling J. J. The expanding spectrum of neurological disorders of phosphoinositide metabolism. *Dis Model Mech.* 2019;12(8):dmm038174. doi: 10.1242/dmm.038174.
27. Schoof M., Launspach M., Holdhof D., Nguyen L., Engel V. The transcriptional coactivator and histone acetyltransferase CBP regulates neural precursor cell development and migration. *Acta Neuropathol Commun.* 2019;7(1):199. doi: 10.1186/s40478-019-0849-5.
28. Rajji T. K., Chow T. W., Voineskos A. N., Links K. A., Miranda D. Cholinergic pathways and cognition in patients with schizophrenia: a pilot study. *Schizophr Res.* 2012;139(1-3):46-52. doi: 10.1016/j.schres.2012.06.006.
29. Urbina F. L., Menon S., Goldfarb D., Edwards R., Ben Major M., Brennwald P., Gupton S. L. TRIM67 regulates exocytic mode and neuronal morphogenesis via SNAP47. *Cell Rep.* 2021;34(6):108743. doi: 10.1016/j.celrep.2021.108743.
30. Tatematsu M., Yoshida R., Morioka Y., Ishii N., Funami K. Raftlin Controls Lipopolysaccharide-Induced TLR4 Internalization and TICAM-1 Signaling in a Cell Type-Specific Manner. *J Immunol.* 2016;196(9):3865-76. doi: 10.4049/jimmunol.1501734.
31. Maylyan E. A. Cytokine levels in postmenopausal women depending on IL-6, TNFSF11 and TNFRSF11B genes polymorphisms. *Belgorod state university scientific bulletin.*

Medicine. Pharmacy. 2018;41(2):235-244 (In Russ). doi: 10.18413/2075-4728-2018-41-2-235-244.

32. Maylyan E. A. Bone densitometry indicators in postmenopausal women depending on TNFSF11 gene rs9594738 (C>T) polymorphism. Kuban Scientific Medical Bulletin. 2017;2:104-109 (In Russ.).

33. Maylyan E. A. Bone mineral density in postmenopausal women depending on TNFSF11

gene rs9594759 polymorphism. Bulletin of the Smolensk State Medical Academy. 2017;16(2):22-27 (In Russ.).

34. Macfarlane E., Seibel M. J., Zhou H. Arthritis and the role of endogenous glucocorticoids. Bone Res. 2020;8:33. doi: 10.1038/s41413-020-00112-2.

35. Raben N., Sherman J. B. Mutations in muscle phosphofructokinase gene. Hum Mutat. 1995;6(1):1-6. doi: 10.1002/humu.1380060102.