

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, № 3

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

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

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

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 № 9 от 28.08.2023 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

Андреева И. В., Григорьев А. С. ВОЗРАСТНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ГЕМОДИНАМИКИ ОБЩИХ СОННЫХ И ПОЗВОНОЧНЫХ АРТЕРИЙ	5
Andreeva I. V., Grigorev A. S. AGE-RELATED CHANGES IN HEMODYNAMIC PARAMETERS OF COMMON CAROTID AND VERTEBRAL ARTERIES	5
Грушевская Ю. В., Быков И. М., Шевченко А. С. ВЛИЯНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ ТЕРАПИИ НА МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ НАРУШЕНИЯ У БОЛЬНЫХ ЭНДОМЕТРИОЗОМ НА ФОНЕ ЖЕЛЕЗОДЕФИЦИТНОЙ АНЕМИИ	14
Grushevskaya Yu. V., Bykov I. M., Shevchenko A. S. INFLUENCE OF ANTIOXIDANT THERAPY ON METABOLIC DISORDERS IN PATIENTS WITH ENDOMETRIOSIS AND IRON DEFICIENCY ANEMIA	14
Коханов А. В., Рамазанова Л. Ш., Алуи Х., Скандрани М., Шамратов Р. З. ИЗУЧЕНИЕ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОГО ПЕПТИДА ЛАКТОФЕРРИЦИНА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ И СЛЕЗНОЙ ЖИДКОСТИ У ПАЦИЕНТОВ С ВОЗРАСТНОЙ И ДИАБЕТИЧЕСКОЙ КАТАРАКТОЙ.....	21
Kokhanov A. V., Ramazanova L. Sh., Alui H., Scandrani M., Shamratov R. Z. STUDY OF THE ANTIBACTERIAL PEPTIDE LACTOFERRICIN IN BLOOD SERUM AND LACRIMAL FLUID IN PATIENTS WITH AGE-RELATED AND DIABETIC CATARACTS.....	21
Мисирова И. А., Борукаева И. Х., Абазова З. Х., Карданова Л. Д., Куготов А. М. ОСОБЕННОСТИ КИСЛОРОДНОГО ОБЕСПЕЧЕНИЯ ОРГАНИЗМА ПАЦИЕНТОВ ПОСЛЕ ПЕРЕНЕСЕННОЙ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ COVID-19 СРЕДНЕЙ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ.....	28
Misirova I. A., Borukaeva I. Kh., Abazova Z. Kh., Kardanova L. D., Kugotov A. M. PECULIARITIES OF OXYGEN SUPPLY IN PATIENTS AFTER MODERATELY SEVERE COVID-19 CORONAVIRUS INFECTION	28
Морозов В. Н., Лузин В. И. МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ Фолликулов щитовидной железы крыс после 60-ти СУТОЧНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ БЕНЗОАТА НАТРИЯ И МОДЕЛИРОВАНИЯ ПЕРЕЛОМА БОЛЬШЕБЕРЦОВЫХ КОСТЕЙ	35
Morozov V. N., Luzin V. I. MORPHOLOGICAL CHANGES OF THE THYROID GLAND FOLLICLES IN RATS AFTER A 60-DAY EXPOSURE TO SODIUM BENZOATE AND MODELING OF TIBIAE FRACTURE	35
Харченко В. З., Алиев Л. Л., Скоромная Н. Н. ИЗМЕНЕНИЯ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКОЙ И АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ПРИ ДЕЙСТВИИ ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ	44
Kharchenko V. Z., Aliev L. L., Skoromnaya N. N. CHANGES IN PROTEOLYTIC AND ANTIOXIDANT ACTIVITY IN BLOOD SERUM UNDER INFLUENCE OF IONIZING RADIATION.....	44

Цатурян Л. Д., Товмасын В. Э., Карабекян Е. О., Табунщикова М. О.	
ОСОБЕННОСТИ ОСНОВНЫХ ПАРАМЕТРОВ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА, ЛИПИДНОГО ОБМЕНА, УРОВНЯ ГОМОЦИСТЕИНА И ВЕГЕТАТИВНОГО ОБЕСПЕЧЕНИЯ СЕРДЕЧНОГО РИТМА У ДЕВУШЕК РАЗНЫХ ЭТНИЧЕСКИХ ГРУПП СЕВЕРО-КАВКАЗСКОГО РЕГИОНА	51
Tsaturyan L. D., Tovmasyan V. E., Karabekyan E. O., Tabunshchikova M. O.	
FEATURES OF THE MAIN PARAMETERS OF THE HEMOSTASIS SYSTEM, LIPID METABOLISM, HOMOCYSTEINE LEVEL AND VEGETATIVE HEART RATE CONTROL IN GIRLS OF DIFFERENT ETHNIC GROUPS OF THE NORTH CAUCASUS REGION	51
Штыгашева О. В., Агеева Е. С., Первова Е. Н., Назар О. А.	
ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ COVID-19 НА ОСОБЕННОСТИ КЛИНИЧЕСКИХ И ЛАБОРАТОРНЫХ СИМПТОМОВ ПРИ ОСТРОМ ИНФАРКТЕ МИОКАРДА	59
Shtygasheva O. V., Ageeva E. S., Pervova E. N., Nazar O. A.	
PATHOGENETIC ACTION OF COVID-19 ON CLINICAL AND LABORATORY SYMPTOMS IN ACUTE MYOCARDIAL INFARCTION	59
Юрченко К. А.	
ОСОБЕННОСТИ ПОЛУЧЕНИЯ ПЕРВИЧНОЙ КУЛЬТУРЫ МЕЛАНОМЫ МЫШЕЙ	68
Yurchenko K. A.	
FEATURES OF OBTAINING A PRIMARY CULTURE OF MICE MELANOMA	68

ОБЗОРЫ

REVIEWS

Шатохина А. С., Быков И. М., Попов К. А., Курзанов А. Н., Цыган Н. А., Бабкин Р. А.	
РОЛЬ ГЕНА BRCA1, АССОЦИИРОВАННОГО С РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ В МОДУЛЯЦИИ ОКСИДАТИВНОГО ГОМЕОСТАЗА	73
Shatokhina A. S., Bykov I. M., Popov K. A., Kurzanov A. N., Tsygan N. A., Babkin R. A.	
ROLE OF BREAST CANCER ASSOCIATED GENE BRCA1 IN MODULATION OF OXIDATIVE HOMEOSTASIS	73

УДК 612.66:612.133

DOI: 10.29039/2224-6444-2023-13-3-5-13

ВОЗРАСТНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ГЕМОДИНАМИКИ ОБЩИХ СОННЫХ И ПОЗВОНОЧНЫХ АРТЕРИЙ

Андреева И. В., Григорьев А. С.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России), 390026, Рязань, Россия

Для корреспонденции: Андреева Ирина Владимировна, доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры общей хирургии ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России, e-mail: prof.andreeva.irina.2012@yandex.ru

For correspondence: Andreeva I. V., MD, Professor of the Common Surgery Department, Ryazan State Medical University named after academician I. P. Pavlov, e-mail: prof.andreeva.irina.2012@yandex.ru

Information about authors:

Andreeva I. V., <https://orcid.org/0000-0001-6946-3036>

Grigorev A. S., <https://orcid.org/0000-0001-7449-8583>

РЕЗЮМЕ

Актуальным вопросом современной науки является дифференциальная диагностика возрастных физиологических изменений организма и патологических нарушений гемодинамики. Цель исследования - изучить изменения показателей гемодинамики общих сонных и позвоночных артерий и их роли в кровоснабжении головного мозга у взрослых здоровых людей различного возраста. Материал и методы. Исследование проведено на 136 взрослых добровольцах, не имеющих клинических и лабораторных проявлений заболеваний сердечно-сосудистой системы. В первую группу вошло 27 человек, соответствующих юношескому возрасту, во вторую группу - 31 человек, принадлежащих к I периоду зрелого возраста, в третью - 28 человек II периода зрелого возраста, в четвертую - 24 человека пожилого возраста, в пятую - 25 человек старческого возраста. Всем обследованным выполняли ультразвуковое дуплексное сканирование ветвей дуги аорты с расчетом показателей гемодинамики в общих сонных и позвоночных артериях. Результаты. При увеличении возраста у здоровых людей происходило постепенное снижение показателей гемодинамики в общих сонных и позвоночных артериях, большинство из них не зависело от пола. Выявлено достоверное прогрессивное увеличение показателя толщины комплекса интима-медиа от I периода зрелого до старческого возраста на 71,43%. Общий объемный приток по общим сонным и позвоночным артериям снизился на 54,02%, общий объемный каротидный кровоток - на 51,54%, общий объемный вертебральный кровоток - на 19%. Каротидно-вертебральное соотношение уменьшилось на 11,27%. Обсуждение. Возрастное увеличение толщины комплекса интима-медиа подтверждает данные других авторов, однако не является следствием патологических изменений. Снижение показателей кровотока в сонных и позвоночных артериях отражает возрастные изменения гемодинамики брахиоцефальных артерий. Заключение. У людей без сердечно-сосудистых заболеваний происходит достоверное постепенное уменьшение показателей притока крови к головному мозгу по сонным и позвоночным артериям, что выражает возрастные изменения гемодинамики и не является признаком патологии.

Ключевые слова: ультразвуковое дуплексное сканирование, брахиоцефальные артерии, возрастные изменения, показатели гемодинамики.

AGE-RELATED CHANGES IN HEMODYNAMIC PARAMETERS OF COMMON CAROTID AND VERTEBRAL ARTERIES

Andreeva I. V., Grigorev A. S.

Ryazan State Medical University named after academician I. P. Pavlov, Ryazan, Russia

SUMMARY

An urgent issue of modern science is the differential diagnosis of age-related physiological changes in the body and pathological hemodynamic disorders. The aim of the study was to study changes in hemodynamic parameters of the common carotid and vertebral arteries and their role in blood supply to the brain in healthy adults of different ages. Material and methods. The study was conducted on 136 adult volunteers who do not have clinical and laboratory manifestations of diseases of the cardiovascular system. The first group included 27 people corresponding to adolescence, the second group - 31 people belonging to the I period of adulthood, the third - 28 people of the II period of adulthood, the fourth - 24 elderly people, the fifth - 25 senile people. All the examined patients underwent ultrasound duplex scanning of the branches of the aortic arch with the calculation of hemodynamic parameters in the common carotid and vertebral arteries. Results. With increasing age in healthy people, there was a gradual decrease in hemodynamic parameters in the common carotid and vertebral arteries, most of them did not depend on gender. A significant progressive increase in the thickness of the intima-media complex from the first period of adulthood to senility by 71.43% was revealed. The total volume inflow through the common carotid and vertebral arteries decreased by 54.02%, the total volume carotid blood flow - by 51.54%, the total volume vertebral blood flow - by 19%. The carotid-vertebral ratio decreased by 11.27%. Discussion. The age-related increase in the thickness of the intima-media complex confirms

the data of other authors, but is not a consequence of pathological changes. The decrease in blood flow in the carotid and vertebral arteries reflects age-related changes in the hemodynamics of the brachiocephalic arteries. Conclusion. In people without cardiovascular diseases, there is a significant gradual decrease in blood flow to the brain through the carotid and vertebral arteries, which expresses age-related changes in hemodynamics and is not a sign of pathology.

Key words: ultrasound duplex scanning, brachiocephalic arteries, age-related changes, hemodynamic parameters.

Одним из актуальных вопросов современной науки является дифференциальная диагностика возрастных физиологических изменений организма и появление патологических нарушений, которые могут привести к развитию сердечно-сосудистых и иных заболеваний [1; 2]. На сегодняшний момент концепция «сосудистого возраста» позволяет по-новому взглянуть на оценку сердечно-сосудистого риска [3]. Это особенно актуально для молодых людей [4].

Известно большое количество морфологических и функциональных исследований, посвященных изучению возрастных особенностей анатомии и гемодинамики головного мозга у здоровых людей [5]. Для исследования гемодинамики брахиоцефальных артерий на экстра- и интракраниальном уровнях в настоящее время методом первой линии является ультразвуковое доплеровское сканирование (УДС) [6-8]. Обнаружены изменения диаметра артерий, толщины сосудистой стенки, линейной и объемной скоростей кровотока, индексов периферического сопротивления и других параметров [9; 10]. При этом результаты различных авторов весьма противоречивы. Данные, полученные на аутопсийном материале, существенно отличаются от данных, полученных при прижизненных методах исследования [11]. Одним из показателей для оценки «сосудистого возраста» является толщина комплекса интима-медиа (ТКИМ) общей сонной артерии (ОСА) [3; 4]. Увеличение ТКИМ ОСА считают значимым фактором коронарных и цереброваскулярных осложнений в общей популяции [12; 13].

С возрастом имеется тенденция к снижению скорости кровотока при стабильных показателях пульсаторного индекса и индекса периферического сопротивления. Это явление объясняют снижением сердечного выброса в старших возрастных группах [14]. При оценке скоростных параметров кровотока основное внимание уделяется значению пиковой систолической скорости (V_{ps}), так как ее изменение является одним из чувствительных критериев нарушения кровотока [11; 15]. Именно для мозгового кровотока важное клиническое значение может иметь оценка объемной скорости кровотока [14]. Однако показатели линейной скорости кровотока зависят от модели сканера и действия физиологических и

патологических факторов, таких как гематокрит, лихорадка, гипогликемия, нарушения сердечного ритма и проводимости, изменение артериального давления, регулярные физические нагрузки [16-18]. При этом отмечены множественные ограничения доплеровских методик в определении степени стеноза внутренней сонной артерии (ВСА) и оценке скорости кровотока. Диагностические критерии степеней стеноза ВСА могут быть некорректны при аритмиях, артериальной гипертензии, множественных атеросклеротических бляшках, пролонгированном стенозе, патологической извитости, артериовенозной мальформации, опухолях шеи, неудовлетворительной визуализации (короткая и толстая шея, высокая бифуркация ОСА, кальцинированные атеромы, гипервентиляция) [14]. Учитывая актуальность проблемы роста сердечно-сосудистых заболеваний в молодом возрасте, целесообразно провести комплексное исследование взаимосвязи показателей центральной и периферической гемодинамики, микроциркуляции и функции эндотелия у здоровых людей в возрастном аспекте.

Цель настоящего исследования – изучить изменения показателей гемодинамики общих сонных и позвоночных артерий и их роли в кровоснабжении головного мозга у взрослых здоровых людей различного возраста.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследование проведено на 136 взрослых добровольцах, не имеющих клинических и лабораторных проявлений заболеваний сердечно-сосудистой систем, на базе ГБУ Рязанской области «Городская клиническая больница скорой медицинской помощи». Протокол исследования был одобрен этическим комитетом ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России (протокол №25 от 18.02.2021 г.). Настоящая работа является частью комплексного исследования, посвященного взаимосвязи показателей центральной и периферической гемодинамики, микроциркуляции и функции эндотелия у здоровых людей в возрастном аспекте.

В исследование включали практически здоровых людей, не имеющих выраженных хронических заболеваний, не принимающих медикаменты в постоянном режиме, преимущественно ведущих здоровый образ жизни, давших пись-

менное информированное согласие на участие в исследовании. Из исследования исключали лица, имеющие органические заболевания сердечно-сосудистой и нервной системы, врожденные краниовертебральные аномалии и аномалии развития сосудов головы и шеи, перенесшие острые сердечно-сосудистые события, а также имеющие инфекционные, эндокринные, гематологические заболевания, выраженные поражения печени, почек, дыхательной, опорно-двигательной системы, беременных и находящихся в процессе лактации женщин, по данным обследований в медицинской карте и результатов ежегодных лабораторных обследований.

Изученный материал был распределен в соответствии с возрастной периодизацией онтогенеза человека, принятой на VII Всесоюзной конференции по проблемам возрастной морфологии, физиологии и биохимии АМН СССР (Москва, 1965) на пять возрастных групп. В первую группу вошло 27 человек, соответствующих юношескому возрасту, во вторую группу – 31 человек, принадлежащих к I периоду зрелого возраста, в третью – 28 человек II периода зрелого возраста, в четвертую – 24 человека пожилого возраста, в пятую – 25 человек старческого возраста. Мужчины составили 50,73%, женщины – 49,27%. Группы были сопоставимы по количеству, полу и антропометрическим показателям. Выбор классификации был продиктован ее соответствием возрастным изменениям гемодинамики. Планируется проведение сопоставления с возрастной периодизацией ВОЗ (2017).

УДС ветвей дуги аорты выполняли на ультразвуковом сканере Vivid iq GE (Китай) на экстрацеребральном уровне линейным датчиком ML6-15-RS, на интракраниальном – фазированным датчиком 3Sc-RS по общепринятой методике [1; 9]. При исследовании в спектральном доплеровском режиме в ОСА и ПА оценивали количественные показатели кровотока: пиковую систолическую скорость кровотока (V_{ps}); максимальную конечную диастолическую скорость кровотока (V_{ed}); усредненную по времени среднюю скорость кровотока ($TAMX$); индекс периферического сопротивления (RI) [9]. Кроме того, рассчитывали дополнительные параметры: площадь поперечного сечения сосуда (S), cm^2 , $S = \pi \times D^2 / 4$ [16]; объемную скорость кровотока (Q_{cp}), мл/мин, $Q_{cp} = S \times TAV \times 60$ [16]; общий объемный приток (Total Blood Flow, TBF), мл/мин, равен сумме объемной скорости кровотока в обеих ОСА и ПА; общий объемный каротидный кровоток (Total Carotid Blood Flow, TCarBF), мл/мин, равен сумме объемной скорости кровотока в обеих ОСА; общий объемный вертебральный

кровоток (Total Vertebral Blood Flow, TVertBF), мл/мин, равен сумме объемной скорости кровотока в обеих ПА; каротидно-вертебральное соотношение ($Ratio_{Car/Vert}$) – соотношение суммы объемной скорости кровотока в обеих ОСА к сумме объемной скорости кровотока в обеих ПА.

Цифровые данные обрабатывали методами вариационной статистики с использованием методов параметрического и непараметрического анализа с помощью пакета статистических программ JASP 0.16.4.0 (Университет Амстердама), матрицу готовили в программе Microsoft Excel for MAC ver. 16.24 (ID 02984-001-000001). На первом этапе работы исследовали показатели описательной статистики. Проведен анализ данных на соответствие условиям нормального распределения с расчетом критерия Шапиро-Уилка. При описании количественных показателей в случае их ненормального распределения использовали медиану (Me) и квартили (25% квартиль: 75% квартиль). Для проверки статистических гипотез о наличии линейной связи между группами использован расчет коэффициента ранговой корреляции Спирмена. Для сравнения независимых совокупностей использовали непараметрический U-критерий Манна-Уитни. Критический уровень значимости всех используемых статистических критериев составил $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В исследуемых группах не обнаружено отклонений в количестве, положении и строении обеих общих, наружных и внутренних сонных артерий и ПА.

Проанализированы возрастные изменения показателей гемодинамики в обеих ОСА и ПА. Установлено, что показатель ТКИМ ОСА прогрессивно увеличивался с возрастом. В I возрастной группе он составил Me 0,700 мм (0,600:0,790), во II – 0,700 мм (0,600:0,800), в III – 0,800 мм (0,675:1,050), в IV – 0,900 мм (0,700:1,100), в V – 1,200 мм (1,100:1,800). По критерию Манна-Уитни выявлены статистически значимые различия между показателями ТКИМ ОСА между I и III группами ($U=211,5$, $p=0,005$), между I и IV группами ($U=223,5$, $p=0,002$), между I и V группами ($U=20$, $p<0,001$).

Показатель D ОСА незначительно изменялся в возрастных группах (Табл. 1). Выявлены статистически значимые различия между показателями D OCA_d по полу [$U=2800$, $p=0,033$]. Показатели V_{ps} , V_{ed} , $TAMX$, RI и Q обеих ОСА прогрессивно снижались с возрастом. По критерию Манна-Уитни выявлены статистически значимые различия между соответствующими показателями в возрастных группах ($p < 0,05$) (Табл. 1).

Таблица 1. Показатели гемодинамики правой общей сонной артерии в возрастных группах.
Table 1. Hemodynamic parameters of the right common carotid artery in age groups.

Показатель	Группы	Me	Q25	Q75	Критерий Манна-Уитни	Критерий достоверности
D, см	I	0,680	0,600	0,730		
	II	0,640	0,590	0,680	UI/II=577	p=0,014
	III	0,650	0,610	0,680	UI/III=474	p>0,05
	IV	0,660	0,610	0,702	UI/IV=451,5	p>0,05
	V	0,640	0,600	0,680	UI/V=434	p>0,05
Vps, см/с	I	104,00	96,50	113,90		
	II	87,30	74,80	95,35	UI/II=669,5	p<0,001
	III	67,70	58,70	77,40	UI/III=723,5	p<0,001
	IV	61,90	56,73	69,00	UI/IV=718,5	p<0,001
	V	62,40	51,50	67,80	UI/V=630	p<0,001
Ved, см/с	I	19,50	16,25	23,80		
	II	19,50	15,45	21,40	UI/II=479,5	p>0,05
	III	18,90	13,70	21,40	UI/III=462,5	p>0,05
	IV	15,45	13,70	18,08	UI/IV=527	p<0,05
	V	17,70	13,40	21,60	UI/V=387,5	p>0,05
TAMX, см/с	I	63,50	56,80	67,48		
	II	53,45	48,28	57,65	UI/II=666,5	p<0,001
	III	42,75	38,40	50,65	UI/III=704	p<0,001
	IV	40,08	35,06	43,16	UI/IV=706	p<0,001
	V	39,45	32,15	45,25	UI/V=626	p<0,001
RI, усл.ед.	I	0,80	0,77	0,84		
	II	0,78	0,75	0,83	UI/II=502,5	p>0,05
	III	0,74	0,67	0,77	UI/III=620	p<0,001
	IV	0,74	0,69	0,77	UI/IV=582,5	p<0,01
	V	0,69	0,60	0,76	UI/V=591	p<0,001
Q, мл/мин	I	1388,41	970,45	1579,22		
	II	956,62	825,77	1123,96	UI/II=636,5	p<0,001
	III	829,82	721,65	920,85	UI/III=655	p<0,001
	IV	784,96	658,02	959,72	UI/IV=647	p<0,001
	V	717,24	641,60	935,85	UI/V=595	p<0,001

Примечание: D, см – диаметр; Vps, см/с – пиковая систолическая скорость кровотока; Ved, см/с – конечная диастолическая скорость кровотока; TAMX, см/с – усредненная по времени средняя скорость кровотока; RI, усл.ед. – индекс резистентности; Q, мл/мин – объемная скорость кровотока; а Me – медиана, Q25 – квартиль 25%, Q75 – квартиль 75%, UI/II – критерий Манна-Уитни при сравнении групп I и II.

Показатель D правой ПА незначительно изменялся в возрастных группах (Табл. 2). Показатели Vps, Ved, TAMX, RI и Q обеих ПА прогрессивно снижались с возрастом. По критерию Манна-Уитни выявлены статистически значимые различия между соответствующими показателями в возрастных группах (p<0,05) (Табл. 2).

Показатель TBF прогрессивно снижался с возрастом: в I возрастной группе показатель TBF составил Me 3170,04 мл/мин (2286,21:3481,99), во II – 2222,16 мл/мин (2007,89:2484,36), в III – 1969,31 мл/мин (1768,19:2141,65), в IV – 1926,25 мл/мин (1630,23:2017,68), в V – 1712,38 мл/мин (1514,98:2041,60). По критерию Манна-Уитни

Таблица 2. Показатели гемодинамики правой позвоночной артерии в возрастных группах.
Table 2. Hemodynamic parameters of the right vertebral artery in age groups.

Показатель	Группы	Me	Q25	Q75	Критерий Манна-Уитни	Критерий достоверности
D, см	I	0,350	0,330	0,385		
	II	0,330	0,300	0,365	UI/II=536	p>0,05
	III	0,320	0,300	0,340	UI/III=565	p<0,01
	IV	0,330	0,315	0,350	UI/IV=411	p>0,05
	V	0,320	0,300	0,380	UI/V=425	p>0,05
Vps, см/с	I	45,00	38,40	53,95		
	II	41,80	37,00	52,05	UI/II=486	p>0,05
	III	37,80	33,60	45,70	UI/III=552	p<0,01
	IV	37,70	31,80	41,55	UI/IV=541,5	p<0,05
	V	38,70	34,50	42,80	UI/V=484	p<0,001
Ved, см/с	I	16.40	10.65	20.40		
	II	13.80	10.50	17.10	UI/II=499,5	p>0,05
	III	12.90	10.20	16.13	UI/III=509,5	p>0,05
	IV	12.40	11.68	14.33	UI/IV=518	p<0,05
	V	14.60	11.70	18.20	UI/V=349	p>0,05
TAMX, см/с	I	30,25	25,58	36,60		
	II	29,05	24,80	31,98	UI/II=470	p>0,05
	III	25,05	22,30	30,25	UI/III=557	p<0,01
	IV	25,23	21,38	28,51	UI/IV=538	p<0,05
	V	27,40	23,35	28,35	UI/V=438,5	p>0,05
RI, усл.ед.	I	0.650	0.600	0.700		
	II	0.690	0.555	0.770	UI/II=389	p>0,05
	III	0.650	0.600	0.740	UI/III=385	p>0,05
	IV	0.655	0.568	0.710	UI/IV=366	p>0,05
	V	0.580	0.480	0.700	UI/V=435	p>0,05
Q, мл/мин	I	182,50	144,65	227,54		
	II	146,26	110,23	202,22	UI/II=532	p>0,05
	III	128,74	106,19	156,77	UI/III=597,5	p<0,001
	IV	130,51	112,43	160,21	UI/IV=520	p<0,05
	V	147,59	109,15	176,55	UI/V=458	p<0,05

Примечание: D, см – диаметр; Vps, см/с – пиковая систолическая скорость кровотока; Ved, см/с – конечная диастолическая скорость кровотока; TAMX, см/с – усредненная по времени средняя скорость кровотока; RI, усл.ед. – индекс резистентности; Q, мл/мин – объемная скорость кровотока; а Me – медиана, Q25 – квартиль 25%, Q75 – квартиль 75%, UI/II – критерий Манна-Уитни при сравнении групп I и II.

выявлены статистически значимые различия между показателями TBF во всех возрастных группах (p<0,001).

Показатель TCarBF прогрессивно снижался с возрастом: в I возрастной группе показатель TCarBF составил Me 2802,90 мл/мин (2003,71:2983,74), во II – 1974,20 мл/

мин (1622,37:2171,26), в III – 1676,82 мл/мин (1471,64:1870,56), в IV – 1566,52 мл/мин (1359,96:1778,42), в V – 1444,60 мл/мин (1294,05:1731,65). По критерию Манна-Уитни выявлены статистически значимые различия между показателями TCarBF во всех возрастных группах (p<0,001).

Показатель TVertBF прогрессивно снижался с возрастом: в I возрастной группе показатель TVertBF составил Me 367,14 мл/мин (292,29:478,27), во II – 287,55 мл/мин (246,88:372,47), в III – 280,72 мл/мин (220,63:312,15), в IV – 275,48 мл/мин (227,33:325,86), в V – 297,12 мл/мин (213,30:320,03). По критерию Манна-Уитни выявлены статистически значимые различия между показателями TVertBF во всех возрастных группах ($p < 0,001$).

Показатель Ratio Car/Vert неравномерно снижался с возрастом: в I возрастной группе показатель Ratio Car/Vert составил Me 6,30 (5,97:7,57), во II – 6,06 (5,04:8,14), в III – 5,97 (4,69:7,44), в IV – 6,82 (4,55:7,39), в V – 5,59 мл/мин (4,85:6,10). По критерию Манна-Уитни выявлены статистически значимые различия между показателями Ratio Car/Vert во всех возрастных группах ($p < 0,001$).

ОБСУЖДЕНИЕ

Нами обнаружено прогрессивное уменьшение показателей гемодинамики сонных и позвоночных артерий при увеличении возраста у здоровых людей.

Большинство показателей гемодинамики обеих ОСА и ПА не имело статистически значимой зависимости от пола за исключением показателей диаметра ($U=2800$, $p=0,033$) и индекса резистентности правой ОСА ($U=2888,5$, $p=0,012$), которые были больше у мужчин, и показателя конечной диастолической скорости кровотока, который был больше у женщин ($U=1677,5$, $p=0,006$). По данным исследования О. В. Филатовой, А.А. Сидоренко [11] у лиц от 1 года до 74 лет значения диаметра ВСА у лиц мужского пола статистически значимо выше, чем у лиц женского пола в течение всех исследуемых периодов за исключением раннего детства и пожилого возраста. Индекс сосудистого сопротивления имеет более высокие значения у лиц мужского пола, чем у лиц женского пола в периоды от первого детства до второго зрелого возраста. Объемная скорость кровотока у лиц мужского пола выше в правой ВСА в периоде второго детства, подростковом, юношеском, первом зрелом возрасте, в левой ВСА – в периоде раннего детства и юношеском возрасте. Показатели линейной скорости кровотока у лиц мужского пола имеют более высокие значения, чем у лиц женского пола в периоде раннего детства, а от первого периода зрелого возраста до пожилого возраста – более низкие значения [11].

Обе ВСА обеспечивают 2/3, а обе ПА – 1/3 притока крови к головному мозгу [1; 9]. Нами установлено, что показатель Ratio Car/Vert составил в I возрастной группе Me 6,30 (5,97:7,57),

во II – 6,06 (5,04:8,14), в III – 5,97 (4,69:7,44), в IV – 6,82 (4,55:7,39), в V – 5,59 мл/мин (4,85:6,10). При этом было рассчитано соотношение между объемной скоростью кровотока в ОСА и ПА. Между системой сонных и позвоночных артерий существует связь, направленная на сохранение адекватного мозгового кровотока при снижении диаметра одних артерий и увеличении диаметра других, что свидетельствует о компенсаторно-приспособительной взаимообусловленности двух магистралей кровоснабжения головного мозга [10; 12]. В период с юношеского до II периода зрелого возраста показатель Ratio Car/Vert снижался, затем в пожилом возрасте увеличивался и в старческом вновь снижался, что связано с большим уменьшением объемной скорости кровотока в ОСА, чем в ПА.

При исследовании взаимосвязей между исследуемыми показателями выявлена корреляционная зависимость между показателем ТКИМ и другими показателями: Vps OCA_d ($R=-0,335$, $p < 0,001$), Vps OCA_s ($R=0,334$, $p < 0,001$), RI OCA_d ($R=-0,355$, $p < 0,001$), RI OCA_s ($R=0,406$, $p < 0,001$), Q OCA_d ($R=-0,185$, $p < 0,05$), Q OCA_s ($R=-0,240$, $p < 0,01$). При оценке этих данных видна разнонаправленная (прямая и обратная) корреляция справа и слева для показателей Vps и RI и обратная корреляция между ТКИМ и Q с обеих сторон. Вероятно, можно полагать, что увеличение ТКИМ с возрастом приводит к уменьшению диаметра ОСА и, соответственно, к уменьшению объемной скорости кровотока. По данным О. В. Филатовой, А.А. Сидоренко (2015), линейная скорость кровотока и напряжение сдвига в ВСА градуально уменьшаются с возрастом, снижаясь к пожилому возрасту на 45–50 % по сравнению с периодом раннего детства [10]. По нашим данным, линейная скорость кровотока в ОСА от I периода зрелого до старческого возраста снизилась на 40% [11].

Увеличение ТКИМ ОСА считают значимым фактором коронарных и цереброваскулярных осложнений в общей популяции [11; 13]. Тем не менее, по нашим данным, ТКИМ ОСА увеличилась от I периода зрелого до старческого возраста на 71,43%. При этом ни у одного из обследованных сердечно-сосудистых заболеваний не было выявлено. Средняя величина ТКИМ лишь в старческом возрасте превышала 1 мм, что значительно ниже, чем в общей популяции [1; 7-9].

При исследовании ОСА выявлены корреляционные взаимосвязи между показателем Q OCA_d и D OCA_d ($R=0,593$, $p < 0,001$), ТКИМ ($R=-0,185$, $p < 0,05$), Vps OCA_d ($R=0,728$, $p < 0,001$), RI OCA_d ($R=0,193$, $p=0,024$) – прямые корреляции между объемной скоростью кровотока, диаметром и линейной скоростью кровотока. Также обнаружены корреляционные взаимосвязи между показате-

телем RI OCA_d и возрастом ($R=-0,203$, $p<0,05$), ТКИМ ($R=-0,355$, $p<0,001$), Vps OCA_d ($R=0,513$, $p<0,001$), полом ($R=-0,203$, $p<0,05$). Это свидетельствует о том, что с увеличением возраста RI снижается. Показатель RI находится в обратной зависимости от ТКИМ и пола (больше у мужчин, чем у женщин) и в прямой зависимости от Vps (увеличивается при увеличении Vps). По данным литературы, наблюдаются некоторые разночтения при интерпретации данных, касающихся индексов сосудистого сопротивления. Ряд авторов отмечают стабильность показателей сосудистого сопротивления, начиная от юношеского и до старческого возраста, другие авторы указывают либо на его снижение, либо на повышение к пожилому и старческому возрасту [11; 14].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При увеличении возраста у здоровых людей происходит постепенное снижение показателей гемодинамики в ОСА и ПА, большинство из них не зависит от пола. Выявлено достоверное прогрессивное увеличение показателя ТКИМ ОСА от I периода зрелого до старческого возраста на 71,43%, снижение показателей Vps ОСА на 40%, ТАМХ на 37,87%, RI на 13,75%, Q на 48,34%. Изменение показателей D и Ved ОСА с возрастом статистически недостоверно. Возрастное снижение показателей кровотока в ПА было выражено несколько меньше: показатель D уменьшился на 8,57%, Vps на 14%, ТАМХ на 9,42%, Q на 19,13%. Изменение показателей Ved и RI ПА с возрастом статистически недостоверно. Общий объемный приток по ОСА и ПА снизился на 54,02%, общий объемный каротидный кровоток – на 51,54%, общий объемный вертебральный кровоток – на 19%. Каротидно-вертебральное соотношение уменьшилось на 11,27%. Возрастное увеличение толщины комплекса интима-медиа подтверждает данные других авторов, однако не является следствием патологических изменений. Снижение показателей кровотока в сонных и позвоночных артериях отражает возрастные изменения гемодинамики брахиоцефальных артерий. Таким образом, у людей без сердечно-сосудистых заболеваний происходит достоверное постепенное уменьшение показателей притока крови к головному мозгу по сонным и позвоночным артериям, что выражает возрастные изменения гемодинамики и не является признаком патологии. Эти данные можно использовать в клинической практике как вариант нормы для лиц соответствующей возрастной группы при сравнении с пациентами, страдающими – метаболическими заболеваниями, поражающими стенку сосудов, – атеросклерозом и сахарным диабетом, что требует углубленных исследований.

В перспективе дальнейших исследований целесообразно изучить взаимосвязи показателей центральной и периферической гемодинамики, микроциркуляции и функции эндотелия у здоровых людей в возрастном аспекте.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

ЛИТЕРАТУРА

1. Куликов В. П. Основы ультразвукового исследования сосудов. М.: Видар; 2015.
2. Кондараки А. В., Чупин А. В., Алесян Б. Г., Кульбак В. А. Достижения и перспективы сосудистой хирургии в лечении вертебробазиллярной недостаточности. Российский медико-биологический вестник имени академика И. П. Павлова. 2022;30(4):563–574. doi:10.17816/PAVLOVJ109601.
3. Синкевич Д. А., Протасов К. В., Дзизинский А. А. Концепция «сосудистого возраста» как новый подход к оценке сердечно-сосудистого риска. Сибирский медицинский журнал. 2011;6:9-13.
4. Троицкая Е. А., Вельмакин С. В., Кобалава Ж. Д. Концепция сосудистого возраста: новый инструмент оценки сердечно-сосудистого риска. Артериальная гипертензия. 2017;23(2):160–171.
5. Кулагин П. А., Лапкин М. М., Трутнева Е. А. Особенности гемодинамики головного мозга и вариабельности сердечного ритма у молодых мужчин при выполнении моделируемой когнитивной деятельности с неодинаковой результативностью. Российский медико-биологический вестник имени академика И. П. Павлова. 2023;31(1):79–88. doi:10.17816/PAVLOVJ109281.
6. Тимина И. Е., Бурцева Е. А. Ультразвуковое исследование брахиоцефальных артерий. Серия «Лучшие практики лучевой и инструментальной диагностики». Вып. 28. 2-е изд., перераб. и доп. М.; 2019.
7. Национальные рекомендации по ведению пациентов с заболеваниями брахиоцефальных артерий. URL: http://www.angiolsurgery.org/recommendations/2013/recommendations_brachiocephalic.pdf. (Дата обращения: 03.04.2023).
8. Ловрикова М. А., Жмеренецкий К. В., Рудь С. С. Атеросклероз брахиоцефальных сосудов: классификация, ультразвуковая диагностика, стандарты лечения. Дальневосточный медицинский журнал. 2015;4:118-123.
9. Лелюк В. Г., Лелюк С. Э. Ультразвуковая ангиология. 2-е изд., перераб. и доп. М.: Реальное время; 2003.
10. Абрамова М. Ф., Новоселова С. Н., Степанова И. А. Показатели нормы и особенности

- проведения ультразвуковых исследований брахиоцефальных сосудов у детей в возрастном аспекте. *Детские болезни сердца и сосудов*. 2014;4:15-24.
11. Филатова О. В., Сидоренко А. А. Возрастные и половые особенности гемодинамических характеристик артерий головного мозга. *Acta Biologica Sibirica*. 2015;1(3-4):199-243. doi:10.14258/abs.v1i3-4.922.
12. Медведев Д. А., Махамат Й. К., Ефимова В. П., Сафарова А. Ф., Кобалава Ж. Д. Морфофункциональные особенности артерий у молодых пациентов с сахарным диабетом 1 типа. *Трудный пациент*. 2018;16(3):32-36.
13. Syed M. B., Fletcher A. J., Forsythe R. O., Kaczynski J., Newby D. E., Dweck M. R., van Beek E. J. Новые методы визуализации атеросклероза. *Digital Diagnostics*. 2021;2(3):386-409. doi:10.17816/DD71633.
14. Ультразвуковая диагностика сосудистых заболеваний : рук. для врачей / под. ред. В. П. Куликова. 2-е изд. М. : Стром; 2011.
15. Храменко Н. В., Воеводин С. М., Андропова Н. В. Изменение церебральной гемодинамики при различных формах артериальной гипертензии в третьем триместре беременности. *Акушерство и гинекология*. 2017;4:81-86.
16. Шумилина М. В., Стрелкова Т. В. Влияние гиперкапнии на системную и церебральную гемодинамику у здоровых пациентов. *Клиническая физиология регионального кровообращения*. 2014;4:33-39.
17. Куликов В. П., Кузнецова Д. В. Цереброваскулярная реактивность у юношей с артериальной гипертензией. *Клиническая физиология регионального кровообращения*. 2013;1:61-67.
18. Радченко А. С., Давыдов В. В., Калинин А. Н. Многолетняя циклическая аэробная тренировка сохраняет здоровье мозга человека в пожилом возрасте (Краткий обзор иностранной литературы). *Российский медико-биологический вестник имени академика И. П. Павлова*. 2016;4:152-156.
19. Troitskaya E. A., Velmakin S. V., Kobalava J. D. The concept of vascular age: a new tool for assessing cardiovascular risk. *Arterial hypertension*. 2017;23(2):160-171. (In Russ.).
20. Kulagin P. A., Lapkin M. M., Trutneva E. A. Features of brain hemodynamics and heart rate variability in young men when performing simulated cognitive activity with unequal effectiveness. *Russian Medico-Biological Bulletin named after Academician I. P. Pavlov*. 2023;31(1):79-88. (In Russ.). doi:10.17816/PAVLOVJ109281.
21. Timina I. E., Burtseva E. A. Ultrasound examination of brachiocephalic arteries. The series «Best practices of radiation and instrumental diagnostics». Issue 28. 2nd edition, revised and expanded. M.; 2019. (In Russ.).
22. National guidelines for the management of patients with diseases of the brachiocephalic arteries. URL: http://www.angiolsurgery.org/recommendations/2013/recommendations_brachiocephalic.pdf. (Accessed April 3, 2023). (In Russ.).
23. Lovrikova M. A., Zhmerenetsky K. V., Rud S. S. Atherosclerosis of brachiocephalic vessels: classification, ultrasound diagnostics, treatment standards. *Far Eastern Medical Journal*. 2015;4:118-123. (In Russ.).
24. Lelyuk V. G., Lelyuk S. E. Ultrasound angiology. 2nd edition, revised and expanded. M.: Real time; 2003. (In Russ.).
25. Abramova M. F., Novoselova S. N., Stepanova I. A. Indicators of the norm and features of ultrasound examinations of brachiocephalic vessels in children in the age aspect. *Children's heart and vascular diseases*. 2014;4:15-24. (In Russ.).
26. Filatova O. V., Sidorenko A. A. Age and sex features of hemodynamics parameters of brain arteries. *Acta Biologica Sibirica*. 2015;1(3-4):199-243. (In Russ.). doi:10.14258/abs.v1i3-4.922.
27. Medvedev D. A., Mahamat Y. K., Efimova V. P., Safarova A. F., Kobalava J. D. Morphofunctional features of arteries in young patients with type 1 diabetes mellitus. *A difficult patient*. 2018;16(3):32-36. (In Russ.).
28. Syed M. B., Fletcher A. J., Forsythe R. O., Kaczynski J., Newby D. E., Dweck M. R., van Beek E. J. New methods of atherosclerosis visualization. *Digital Diagnostics*. 2021;2(3):386-409. (In Russ.). doi:10.17816/DD71633.
29. Ultrasound diagnostics of vascular diseases. Chief editor V. P. Kulikov. 2nd edition. M.: Strom; 2011. (In Russ.).
30. Khranchenko N. V., Voevodin S. M., Andronova N. V. Changes in cerebral hemodynamics in various forms of arterial hypertension in the third trimester of pregnancy. *Obstetrics and gynecology*. 2017;4:81-86. (In Russ.).

REFERENCES

1. Kulikov V. P. Fundamentals of ultrasound examination of vessels. M.: Vidar, 2015. (In Russ.).
2. Kondaraki A. V., Chupin A. V., Alekyan B. G., Kulbak V. A. Achievements and prospects of vascular surgery in the treatment of vertebrobasilar insufficiency. *Russian Medico-Biological Bulletin named after Academician I.P. Pavlov*. 2022;30(4):563-574. (In Russ.). doi: 10.17816/PAVLOVJ109601.
3. Sinkevich D. A., Protasov K. V., Dzizinsky A. A. The concept of «vascular age» as a new approach to the assessment of cardiovascular risk. *Siberian Medical Journal*. 2011;6:9-13. (In Russ.).

16. Shumilina M. V., Strelkova T. V. The effect of hypercapnia on systemic and cerebral hemodynamics in healthy patients. *Clinical physiology of regional blood circulation*. 2014;4:33-39. (In Russ.).

17. Kulikov V. P., Kuznetsova D. V. Cerebrovascular reactivity in young men with arterial hypertension *Clinical physiology of regional blood circulation*. 2013;1:61-67. (In Russ.).

18. Radchenko A. S., Davydov V. V., Kalinichenko A. N. Long-term cyclic aerobic training preserves the health of the human brain in old age (A brief review of foreign literature). *Russian Medico-Biological Bulletin named after Academician I. P. Pavlov*. 2016;4:152-156. (In Russ.).

УДК: 612.015.3:615.27:[618.145-007:616.155.194.8]

DOI: 10.29039/2224-6444-2023-13-3-14-20

ВЛИЯНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ ТЕРАПИИ НА МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ НАРУШЕНИЯ У БОЛЬНЫХ ЭНДОМЕТРИОЗОМ НА ФОНЕ ЖЕЛЕЗОДЕФИЦИТНОЙ АНЕМИИ

Грушевская Ю. В., Быков И. М., Шевченко А. С.

ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» МЗ РФ (ФГБОУ ВО КубГМУ), 350063, ул. Митрофана Седина 4, Краснодар, Россия

Для корреспонденции: Быков Илья Михайлович, доктор медицинских наук, заведующий кафедрой фундаментальной и клинической биохимии ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России, e-mail: ilya.bh@mail.ru

For correspondence: Ilya M. Bykov, MD, Head of the Department of Fundamental and Clinical Biochemistry, Kuban state medical university, e-mail: ilya.bh@mail.ru

Information about authors:

Grushevskaya Yu. V., <https://orcid.org/0000-0002-4489-3512>

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

Shevchenko A. S., <https://orcid.org/0000-0002-2218-4205>

РЕЗЮМЕ

Женщины репродуктивного возраста, подверженные менструальным кровопотерям, особенно на фоне нарушений менструального цикла, попадают в группу высокого риска развития железодефицитных состояний. Недостаток железа сопровождается нарушениями окислительного гомеостаза, ассоциированными с гипоксическими изменениями в тканях, а также использование железосодержащих препаратов способно индуцировать свободнорадикальные процессы. Целью проведенного нами исследования являлась оценка влияния терапевтического подхода с применением антиоксидантов на метаболические альтерации у больных эндометриозом с сопутствующей железодефицитной анемией. Материал и методы. В исследовании приняли участие 40 женщин с эндометриозом тела матки и анемией средней степени тяжести, разделенных на 2 подгруппы: получавших стандартный курс лечения и комплексное лечение с антиоксидантами (ретинол, α -токоферола ацетат, тиоктовая кислота, коэнзим Q10). Контрольную группу составили 20 относительно здоровых женщин. Результаты. Исследования показали, что перед началом терапии уровень антиоксидантной активности плазмы крови больных был снижен на 31-32%, содержание тиоловых групп – на 16%, а концентрация глутатиона – на 10-11% относительно контроля. В этих же условиях содержание ТБК-реактивных продуктов было увеличенным на 25-28%. После 3-х месячного курса терапии в каждой из подгрупп больных отмечалась тенденция к нормализации прооксидантно-антиоксидантного дисбаланса. Однако на фоне стандартной терапии все изученные показатели по-прежнему отличались от контрольных значений, тогда как для 2-й подгруппы была характерна практически полная нормализация состояния окислительного гомеостаза. Продолжение наблюдения в течение еще 3-х месяцев продемонстрировало частичное восстановление окислительного стресса, скорректированного ранее, в том числе после антиоксидантной терапии. Заключение. Полученные данные свидетельствуют о необходимости разработки более эффективных способов или схем терапии, способных поддерживать прооксидантно-антиоксидантный баланс с течением более длительного времени. Это необходимо с позиции формирования благоприятного фона для ремиссии заболевания и создания оптимальных условий коррекции железодефицитного состояния.

Ключевые слова: эндометриоз, железодефицитная анемия, окислительный стресс, антиоксидантная терапия.

INFLUENCE OF ANTIOXIDANT THERAPY ON METABOLIC DISORDERS IN PATIENTS WITH ENDOMETRIOSIS AND IRON DEFICIENCY ANEMIA

Grushevskaya Yu. V., Bykov I. M., Shevchenko A. S.

Kuban state medical university, Krasnodar, Russia

SUMMARY

Women of reproductive age susceptible to menstrual blood loss, especially against the background of menstrual irregularities, are at high risk of developing iron deficiency. Iron deficiency is accompanied by disturbances in oxidative homeostasis associated with hypoxic changes in tissues. The administration of iron-containing drugs can induce free radical processes. The aim of the study was to evaluate the nature of the antioxidant therapy effect on metabolic disorders in patients with endometriosis against the background of iron deficiency anemia. Material and methods. The study is conducted with the participation of 40 women with endometriosis of the uterine body and moderate anemia, who are divided into 2 groups: those receiving standard treatment and those undergoing complex treatment with antioxidants (including retinol, α -tocopherol acetate, thiocetic acid, and coenzyme Q10). The control group consists of 20 relatively healthy women. Results and discussion. As a result of the studies, it is revealed that at the initial stage the level of antioxidant activity in the blood plasma of patients is reduced by 31-32%, the content of thiol groups by 16%, and the concentration of glutathione by 10-11% compared to the control group. Under the same conditions, the content of TBA-reactive products increases by 25-28%. After a 3-month course of therapy, each of the groups reveals a tendency towards normalization of the prooxidant-antioxidant imbalance. Against the background of standard therapy,

all the studied indicators still differ from the control values, while the 2nd group is characterized by almost complete normalization of oxidative homeostasis. Continued observation for another 3 months demonstrates the partial restoration of oxidative stress effects corrected earlier after antioxidant therapy. Conclusion. The data obtained indicate the need to develop more effective methods or treatment regimens that can maintain the pro-oxidant-antioxidant balance over a longer period of time. This is necessary from the standpoint of creating a favorable background for remission of the disease and creating optimal conditions for correcting the iron deficiency.

Key words: endometriosis, iron deficiency anemia, oxidative stress, antioxidant therapy.

Эндометриоз встречается у каждой 10-й женщины репродуктивного возраста, до половины из которых страдают от хронической тазовой боли и бесплодия. Однако данное заболевание опасно не только своими медицинскими последствиями, но и влиянием на социальную и экономическую сферы жизни общества. Эндометриоз разных типов имеет общие патобиохимические механизмы развития, включающие ряд генетических, эндокринных, иммунологических, микробиотических и экологических факторов [1-3]. При различных процессах в женской репродуктивной системе существенную роль играет окислительный стресс, предполагающий интенсификацию свободнорадикальных процессов и/или снижение протективного потенциала антиоксидантного звена метаболизма. Источниками активных форм кислорода (АФК) при развитии эндометриоза могут быть эритроциты, апоптотическая ткань эндометрия, клеточный дебрис и рекрутируемые макрофаги [4]. Так при разрушении эритроцитов в перитонеальную среду высвобождается железо – металл с переменной валентностью, оказывающий прооксидантное действие [5]. Двухвалентное железо с перекисью водорода способно генерировать гидроксильные радикалы – наиболее реакционно-способные АФК, инициировать перекисное окисление липидов и окислительные модификации ДНК. У женщин с эндометриозом определяется высокий уровень экспрессии ксантинооксидазы, способной генерировать АФК. Окислительный стресс традиционно сопровождает развитие воспаления, эти два типовых патологических процесса способны взаимно усиливать друг друга [6]. Известно, что у женщин с эндометриозом увеличены маркеры воспаления и окислительного стресса как в крови, так и в перитонеальной жидкости [7].

Женщины репродуктивного возраста, подверженные менструальным кровопотерям, особенно на фоне нарушений менструального цикла, попадают в группу высокого риска развития железодефицитных состояний [8-10]. Как было указано выше обычно перегрузка железом может индуцировать свободнорадикальные реакции, однако и недостаток железа сопровождается нарушениями окислительного гомеостаза, ассоциированными с гипоксическими изменениями в тканях. Медика-

ментозное восполнение дефицита железа сопровождается локальными изменениями с индукцией свободнорадикальных процессов, поэтому некоторые исследователи отмечают необходимость дополнения такой терапии средствами антиоксидантной направленности действия [11-13]. Таким образом, вопрос взаимного влияния эндометриоза и железодефицитной анемии, терапии с использованием железосодержащих препаратов и антиоксидантов остается недостаточно проработанным.

Цель исследования – оценка влияния терапевтического подхода с применением антиоксидантов на метаболические нарушения у больных эндометриозом с сопутствующей железодефицитной анемией.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В исследование было включено 40 больных женщин с эндометриозом тела матки – узловая, очаговая или диффузная формы (возраст 20-40 лет, индекс массы тела 20-25). В качестве критерия включения была обозначена концентрация гемоглобина в крови 70-90 г/л, что соответствует анемии средней степени тяжести. Для коррекции анемии больные получали жевательные таблетки мальтофер (VIFOR, SA (Швейцария)). Путем простой рандомизации больные были разделены на 2 подгруппы по 20 человек в зависимости от схемы медикаментозного лечения. Больные второй подгруппы получали ретинол (100000 МЕ/сутки), α -токоферола ацетат (100 мг/сутки), тиоктовую кислоту (200 мг/сутки), коэнзим Q10 (500 мг/сутки). Медикаментозное лечение проводили в течение 3-х месяцев, наблюдение за больными осуществляли на этапе начала лечения, а также спустя 3 и 6 месяцев. Контрольную группу составили 20 относительно здоровых женщин, проходивших наблюдение в рамках ежегодной диспансеризации взрослого населения. На каждом этапе наблюдений выполняли забор крови из локтевой вены в вакуумные пробирки с этилендиаминтетрауксусной кислотой объемом не более 10 мл для последующего биохимического анализа прооксидантно-антиоксидантного баланса. Независимый этический комитет ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава РФ одобрил клиническое исследование на заседании 29 января 2021 г, протокол №

96. Все пациенты были включены в исследование при обязательном условии получения от них добровольного информированного согласия. Все выполняемые манипуляции и назначения соответствовали требованиям Хельсинкской Декларации ВМА (Форталеза, 2013) и Федерального закона Российской Федерации от 21 ноября 2011 г. № 323-ФЗ «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации». Исследование выполнено в течение 2021-2023 гг., на базе Клиники ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России.

Общую антиоксидантную активность (АОА) в плазме крови определяли методом, предполагающим оценку способности восстанавливать железо (железо-восстанавливающий метод, FRAP), а общее содержание тиоловых групп - по реакции с дитиобиснитробензойной кислотой. В отмытой эритроцитарной взвеси определяли концентрацию восстановленного глутатиона по реакции с дитиобиснитробензойной кислотой после осаждения белков и содержание продуктов перекисных модификаций биомолекул по реакции с тиобарбитуровой кислотой (ТБК-реактивные продукты) [14, 15].

Статистическую обработку данных выполняли с помощью программного обеспечения Stat Plus (AnalystSoft Inc., USA). Анализ был основан на использовании непараметрических критериев – Манна-Уитни для сравнения контрольной и опытной групп, Вилкоксона – для сравнения результатов опытной подгруппы на всех этапах наблюдения. Данные в статье представлены в виде медианы и квартилей: Me (Q1/Q3). Полученные результаты считали статистически значимыми при соблюдении условия $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведенных исследований было продемонстрировано снижение уровня общей антиоксидантной активности и концентрации метаболитов-антиоксидантов на фоне увеличения содержания продуктов окислительных модификаций биомолекул в плазме и эритроцитарной взвеси больных эндометриозом с анемией средней степени тяжести. Данные изменений показателей прооксидантно-антиоксидантного баланса представлены в таблице 1.

Таблица 1. Изменения показателей прооксидантно-антиоксидантного баланса в крови больных эндометриозом на фоне анемии и антиоксидантной терапии.

Table 1. Changes in the indicators of the prooxidant-antioxidant balance in the blood of patients with endometriosis against the background of anemia and antioxidant therapy.

Исследуемые показатели	Этап наблюдения, мес.	Исследуемые группы		
		1 (контроль)	2-1	2-2
ОАОА, мМ вит С	0	1,50 (1,44/1,55)	1,04 (0,99/1,10)*	1,02 (0,96/1,08)*
	3	1,55 (1,47/1,60)	1,14 (1,06/1,21)*^	1,65 (1,48/1,75)^
	6	1,55 (1,47/1,58)	1,18 (1,08/1,26)*	1,38 (1,28/1,46)*^
SH-группы, е.о.п.*100/г белка	0	0,62 (0,61/0,64)	0,52 (0,50/0,55)*	0,52 (0,49/0,54)*
	3	0,61 (0,60/0,63)	0,54 (0,52/0,57)*	0,62 (0,59/0,64)^
	6	0,61 (0,59/0,63)	0,55 (0,52/0,57)*	0,58 (0,55/0,60)^
ТБК-рп, усл. ед.	0	0,64 (0,58/0,71)	0,80 (0,76/0,85)*	0,82 (0,76/0,86)*
	3	0,62 (0,56/0,67)	0,73 (0,64/0,82)*	0,71 (0,63/0,75)*^
	6	0,62 (0,56/0,69)	0,71 (0,63/0,78)	0,68 (0,60/0,75)
Глутатион, мкмоль/мл	0	2,51 (2,42/2,64)	2,27 (2,20/2,35)*	2,24 (2,17/2,35)*
	3	2,56 (2,45/2,70)	2,33 (2,17/2,42)*	2,54 (2,38/2,64)^
	6	2,54 (2,45/2,64)	2,31 (2,20/2,42)*	2,42 (2,32/2,51)

Примечание: * – статистически значимые отличия ($p < 0,05$) при сравнении показателей контрольной и опытной групп; ^ – статистически значимые отличия ($p < 0,05$) при сравнении с ранее полученным значением показателя.

На этапе поступления больных на лечение в дневном стационаре уровень железо-восстанавливающей активности в плазме крови больных 2-й группы был снижен на 31-32% относитель-

но контроля, содержание общих тиоловых групп было ниже контроля на 16%, а концентрация глутатиона в эритроцитарной взвеси – на 10-11%. В этих же условиях содержание ТБК-реактивных

продуктов в эритроцитарной взвеси было увеличенным на 25-28% в сравнении со значением аналогичного маркера испытуемых лиц 1-й группы.

Сравнение эффектов, полученных после стандартной терапии или лечения с дополнительным использованием антиоксидантов показало наиболее значительную разницу сразу после 3-х месячного курса терапии и наблюдения. В каждой из подгрупп 2-й группы больных отмечалась тенденция к нормализации дисбаланса прооксидантно-антиоксидантной систем. Однако в 1-й подгруппе на фоне стандартной схемы терапии все изученные показатели по-прежнему отличались от контрольных значений, тогда как для 2-й группы была характерна практически полная нормализация состояния окислительного гомеостаза. Так уровень общей антиоксидантной активности в плазме крови больных 1-й подгруппы оставался сниженным на 26%, уровень тиоловых групп – на 11%, а концентрация глутатиона в эритроцитах – на 9%. Для 2-й подгруппы больных, также, как и для 1-й был характерен сравнительно высокий уровень ТБК-реактивных продуктов, превышающий контрольные цифры на 15-18%. Остальные показатели окислительного гомеостаза в крови больных 2-й подгруппы статистически значимо не отличались от значений аналогичных параметров группы практически здоровых испытуемых лиц.

Продолжение наблюдения в следующие 3 месяца после окончания 3-х месячного курса антиоксидантной терапии продемонстрировало частичное восстановление окислительного стресса, скорректированного ранее. При этом после традиционной терапии без включения антиоксидантов значения исследуемых маркеров состояния прооксидантно-антиоксидантного баланса сохранялись в основном в пределах уровня, установленного на предыдущем этапе наблюдения. Таким образом эти параметры указывали на сохранение низкоинтенсивного окислительного стресса, который, тем не менее, может быть фоном для очередного обострения заболевания. Во 2-й подгруппе больных на этапе 6 месяцев от начала исследования наблюдались статистически значимые изменения общей антиоксидантной активности и тиоловых групп плазмы крови относительно 3-х месячного этапа наблюдения. Железо-восстанавливающая способность в этих условиях снижалась на 16% и достигала значения также статистически значимо ниже уровня контрольной группы на 11%. Это с одной стороны может быть наглядным лабораторным симптомом ухудшения патобиохимической картины заболевания после прекращения антиоксидантной терапии, но с другой стороны такой эффект может быть следствием

отсутствия прямого действия антиоксидантов, поступающих в кровь в составе используемых лекарственных средств и биологически активных добавок. В любом случае показатель антиоксидантной активности плазмы крови больных 2-й подгруппы был на 17% выше значения аналогичного маркера больных 1-й подгруппы, что подтверждает эффективность используемой схемы метаболической коррекции в отдаленной перспективе. Аналогичные тенденции были выявлены и при анализе уровня тиоловых групп, который, однако, снижаясь не достигал статистически значимо более низких значений в сравнении с контрольной группой. Содержание ТБК-реактивных продуктов к 6-му месяцу наблюдения не возвращалось к росту, что может указывать на компенсированный характер окислительного стресса, проявляющегося в снижении защитного потенциала антиоксидантной системы, но без существенного увеличения интенсивности свободнорадикальных процессов. Кроме того, на этом этапе концентрация продуктов окислительных модификаций в эритроцитарной взвеси больных обеих подгрупп снижалась, достигая контрольных значений соответствующего показателя.

Многочисленные исследования отечественных и зарубежных авторов подтверждают, что окислительный стресс играет ведущее значение в патогенезе бесплодия, в том числе ассоциированного с эндометриозом. При этом интенсивность генерации активных форм кислорода негативно влияет не только на процесс оплодотворения, но и на имплантацию, зависящую от полноценности лютеиновой фазы [16]. Обычно желтое тело содержит высокую концентрацию антиоксидантов – аскорбиновой кислоты, альфа-токоферола, каротиноидов, поэтому одним из факторов бесплодия может являться снижение защитного потенциала антиоксидантной системы. В нашей работе показано, что изменения этого звена окислительного гомеостаза играет первичную роль у больных эндометриозом, протекающем на фоне анемии средней степени тяжести. В таких условиях необходима медикаментозная поддержка с использованием средств антиоксидантной направленности действия. Кроме прямых метаболических эффектов, показанных в нашей работе, терапия с использованием таких веществ как ретинол, α -токоферола ацетат, тиоктовая кислота, коэнзим Q10, способствует улучшению эндометриального и субэндометриального кровотока [17]. Известно, что антиоксиданты витаминного происхождения способны эффективно снижать тяжесть дисменореи, уменьшать диспареунию и боли в области таза [18].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенных исследований было установлено, что в крови больных эндометриозом с железодефицитной анемией средней степени тяжести наблюдается дисбаланс прооксидантно-антиоксидантной системы. В первую очередь определяется низкий уровень антиоксидантных компонентов, сохраняющийся в течение как минимум полугода после начала стандартного курса медикаментозного лечения. Комплексная терапия, дополненная введением ретинола, α -токоферола, тиоктовой кислоты и коэнзима Q10, в течение 3-х месяцев способствовала поддержанию более высокого уровня общей антиоксидантной активности и концентрации тиоловых групп в плазме крови, содержания глутатиона в эритроцитарной взвеси. Однако прекращение антиоксидантной поддержки сопровождалось возвращением дисбаланса окислительного гомеостаза. Полученные данные подтверждают актуальность антиоксидантной коррекции метаболических нарушений у больных эндометриозом, но также свидетельствуют о необходимости разработки более эффективных способов или схем терапии, способных поддерживать прооксидантно-антиоксидантный баланс с течение более длительного времени. Это необходимо с позиции формирования благоприятного фона для ремиссии заболевания и создания оптимальных условий коррекции железодефицитного состояния.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

ЛИТЕРАТУРА

1. Matalliotaki C., Matalliotakis M., Ieromonachou P., Goulielmos G. N., Zervou M. I. Co-existence of benign gynecological tumors with endometriosis in a group of 1,000 women. *Oncol. Lett.* 2018;15:1529-1532. doi:10.3892/ol.2017.7449.
2. Zubrzycka A., Zubrzycki M., Perdas E., Zubrzycka M. Genetic, Epigenetic, and steroidogenic modulation mechanisms in endometriosis. *J. Clin. Med.* 2020;9:1309. doi: 10.3390/jcm9051309.
3. Malvezzi H., Marengo E.B., Podgaec S., Piccinato C.A. Endometriosis: Current challenges in modeling a multifactorial disease of unknown etiology. *J. Transl. Med.* 2020; 18:311. doi:10.1186/s12967-020-02471-0.
4. Assaf L., Eid A.A., Nassif J. Role of AMPK/mTOR, mitochondria, and ROS in the pathogenesis of endometriosis. *Life Sci.* 2022;306:120805. doi:10.1016/j.lfs.2022.120805.
5. Ansariniya H., Yavari A., Javaheri A., Zare F. Oxidative stress-related effects on various aspects of endometriosis. *Am. J. Reprod. Immunol.* 2022;88:e13593. doi: 10.1111/aji.13593.
6. Lu J., Wang Z., Cao J., Chen Y., Dong Y. A novel and compact review on the role of oxidative stress in female reproduction. *Reprod Biol Endocrinol.* 2018;16(1):80. doi: 10.1186/s12958-018-0391-5.
7. Amreen S., Kumar P., Gupta P., Rao P. Evaluation of oxidative stress and severity of endometriosis. *J. Hum. Reprod. Sci.* 2019;12:40-46. doi:10.4103/jhrs.JHRS_27_17.
8. Mansour D., Hofmann A., Gemzell-Danielsson K. A Review of clinical guidelines on the management of iron deficiency and iron-deficiency anemia in women with heavy menstrual bleeding. *Adv Ther.* 2021;38(1):201-225. doi:10.1007/s12325-020-01564-y.
9. Лещева М. Ю., Коротких И. Н. Роль анемии в профилактике рецидивов воспалительных заболеваний органов малого таза. Системный анализ и управление в биомедицинских системах. 2022; 21(3):159-162. doi:10.36622/VSTU.2022.21.3.023.
10. Куликов И. А., Геворкян Г. А. Анализ выявляемости латентного дефицита железа и железодефицитной анемии в гинекологической практике и данные результатов лечения. *Российский вестник акушера-гинеколога.* 2023;23(3):117-126. doi: 10.17116/rosakush202323031117.
11. Хаятова З. Б., Абдукадилова Н. Б., Якимова А. В. Особенности ферротерапии у женщин с железодефицитной анемией и воспалительными заболеваниями органов малого таза. *РМЖ. Мать и дитя.* 2019;2(2):108-112. doi:10.32364/2618-8430-2019-2-2-108-112.
12. Мелконьянц Т. Г., Быков И. М., Попов К. А. Эффективность антиоксидантной коррекции у больных с хронической воспалительной болезнью матки и метаболическим синдромом. *Медицинский вестник Северного Кавказа.* 2020;15(4): 535-538. doi:10.14300/mnnc.2020.15126.
13. McMillen S. A., Dean R., Dihardja E., Ji P., Lönnerdal B. Benefits and risks of early life iron supplementation. *Nutrients.* 2022;14(20):4380. doi:10.3390/nu14204380.
14. Быков И. М., Попов К. А., Егорова И. А., Сторожук А. П. Оценка показателей тиолового метаболизма плазмы крови больных воспалительными заболеваниями органов малого таза при проведении антиоксидантной коррекции. *Медицинский вестник Северного Кавказа.* 2018;13(2):402-406. doi:10.14300/mnnc.2018.13062.
15. Быков И. М., Любченко Д. А., Попов К. А. Изменения биохимических показателей у больных с зависимостью от психостимуляторов на фоне метаболической коррекции. *Медицинский*

вестник Северного Кавказа. 2019;14(2):352-355. doi: 10.14300/mnnc.2019.14086.

16. Оразов М. Р., Радзинский В. Е., Хамошина М. Б., Михалёва Л. М., Духин А. О., Волкова С. В. Бесплодие, ассоциированное с эндометриозом яичников: возможности комбинированной терапии. Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. 2020; 19(2):27-34. doi:10.20953/1726-1678-2020-2-27-34.

17. Хатламаджиян М. Г., Харитоновна Е. В., Щербаклова Л. Н. Роль антиоксидантов в комплексной терапии пациенток с эндометриоз-ассоциированным бесплодием. Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. 2020;19(6):28-33. doi: 10.20953/1726-1678-2020-6-28-33.

18. Zheng S. H., Chen X. X., Chen Y., Wu Z. C., Chen X. Q., Li X. L. Antioxidant vitamins supplementation reduce endometriosis related pelvic pain in humans: a systematic review and meta-analysis. *Reprod Biol Endocrinol*. 2023;21(1):79. doi:10.1186/s12958-023-01126-1.

REFERENCES

1. Matalliotaki C., Matalliotakis M., Ieromonachou P., Goulielmos G. N., Zervou M. I. Co-existence of benign gynecological tumors with endometriosis in a group of 1,000 women. *Oncol. Lett*. 2018;15:1529-1532. doi:10.3892/ol.2017.7449.

2. Zubrzycka A., Zubrzycki M., Perdas E., Zubrzycka M. Genetic, Epigenetic, and steroidogenic modulation mechanisms in endometriosis. *J. Clin. Med*. 2020;9:1309. doi: 10.3390/jcm9051309.

3. Malvezzi H., Marengo E.B., Podgaec S., Piccinato C.A. Endometriosis: Current challenges in modeling a multifactorial disease of unknown etiology. *J. Transl. Med*. 2020; 18:311. doi:10.1186/s12967-020-02471-0.

4. Assaf L., Eid A.A., Nassif J. Role of AMPK/mTOR, mitochondria, and ROS in the pathogenesis of endometriosis. *Life Sci*. 2022;306:120805. doi:10.1016/j.lfs.2022.120805.

5. Ansariniya H., Yavari A., Javaheri A., Zare F. Oxidative stress-related effects on various aspects of endometriosis. *Am. J. Reprod. Immunol*. 2022;88:e13593. doi: 10.1111/aji.13593.

6. Lu J., Wang Z., Cao J., Chen Y., Dong Y. A novel and compact review on the role of oxidative stress in female reproduction. *Reprod Biol Endocrinol*. 2018;16(1):80. doi: 10.1186/s12958-018-0391-5.

7. Amreen S., Kumar P., Gupta P., Rao P. Evaluation of oxidative stress and severity of endometriosis. *J. Hum. Reprod. Sci*. 2019;12:40-46. doi:10.4103/jhrs.JHRS_27_17.

8. Mansour D., Hofmann A., Gemzell-Danielsson K. A Review of clinical guidelines on the management of iron deficiency and iron-deficiency

anemia in women with heavy menstrual bleeding. *Adv Ther*. 2021;38(1):201-225. doi:10.1007/s12325-020-01564-y.

9. Leshcheva M. Yu., Korotkih I. N. The role of anemia in the prevention of recurrence of inflammatory diseases of the pelvic organs. *System analysis and management in biomedical systems*. 2022;21(3):159-162. (In Russ.). doi:10.36622/VSTU.2022.21.3.023.

10. Kulikov I. A., Gevorkyan G. A. Discussion on the detection of latent iron deficiency and iron deficiency anemia in gynecological practice and data on treatment outcomes. *Russian Bulletin of Obstetrician-Gynecologist*. 2023;23(3):117-126. (In Russ.). doi: 10.17116/rosakush202323031117.

11. Khaiatova Z. B., Abdukadirova N. B., Yakimova A. V. Iron therapy for iron-deficiency anemia and pelvic inflammatory disease. *Russian Journal of Woman and Child Health*. 2019; 2(2): 108–112. (In Russ.). doi:10.32364/2618-8430-2019-2-2-108-112.

12. Melkonians T. G., Bykov I. M., Popov K. A., Grushevskaya Yu. V., Storozhuk A. P. Effectiveness of antioxidant correction in patients with chronic inflammatory uterine disease and metabolic syndrome. *Medical News of North Caucasus*. 2020;15(4):535-538. (In Russ.). doi:10.14300/mnnc.2020.15126.

13. McMillen S. A., Dean R., Dihardja E., Ji P., Lönnerdal B. Benefits and risks of early life iron supplementation. *Nutrients*. 2022;14(20):4380. doi:10.3390/nu14204380

14. Bykov I. M., Popov K. A., Egorova I. A., Storozhuk A. P. Assessment of indicators of the thiol metabolism of blood plasma of patients with inflammatory diseases of the small pelvis organs at antioxidant correction. *Medical News of North Caucasus*. 2018;13(2): 402-406. (In Russ.). doi: 10.14300/mnnc.2018.13062

15. Bykov I. M., Lubchenko D. A., Popov K. A. The changes in biochemical indices of patients suffering from psychostimulant dependence against the background of metabolic correction. *Medical News of North Caucasus*. 2019;14(2):352-355. (In Russ.). doi: 10.14300/mnnc.2019.14086.

16. Orazov M. R., Radzinskiy V. E., Khamoshina M. B., Mikhaleva L. M., Dukhin A. O., Volkova S. V., Shustova V. B., Abitova M. Z. Endometriosis associated infertility: options of combined therapy. *Gynecology, Obstetrics and Perinatology*. 2020;19(2):27-34 (In Russ.). doi:10.20953/1726-1678-2020-2-27-34.

17. Khatlamadzhian M. G., Kharitonova E. V., Shcherbakova L. N., Kalenikova E. I., Medvedev O. S., Alekseenkova M. V., Panina O. B. The role of antioxidants in the complex therapy of patients with endometriosis-associated infertility. *Gynecology,*

Obstetrics and Perinatology. 2020;19(6):28–33. (In Russ.). doi:10.20953/1726-1678-2020-6-28-33.

18. Zheng S. H., Chen X. X., Chen Y., Wu Z. C., Chen X. Q., Li X. L. Antioxidant vitamins

supplementation reduce endometriosis related pelvic pain in humans: a systematic review and meta-analysis. *Reprod Biol Endocrinol.* 2023;21(1):79. doi:10.1186/s12958-023-01126-1.

УДК: 617.741-053.9-08

DOI: 10.29039/2224-6444-2023-13-3-21-27

ИЗУЧЕНИЕ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОГО ПЕПТИДА ЛАКТОФЕРРИЦИНА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ И СЛЕЗНОЙ ЖИДКОСТИ У ПАЦИЕНТОВ С ВОЗРАСТНОЙ И ДИАБЕТИЧЕСКОЙ КАТАРАКТОЙ

Коханов А. В., Рамазанова Л. Ш., Алуи Х., Скандрани М., Шамратов Р. З.

Кафедра химии, кафедра оториноларингологии и офтальмологии, ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет Минздрава России», 414000, улица Бакинская, 121, Астрахань, Россия

Для корреспонденции: Коханов Александр Владимирович, доктор медицинских наук, профессор кафедры химии ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет Минздрава России», e-mail: kokhanov@mail.ru

For correspondence: Alexander V. Kokhanov, MD, professor of Department of Chemistry of the Astrakhan State Medical University, e-mail: kokhanov@mail.ru

Information about authors:

Kokhanov A. V., <http://orcid.org/0000-0002-4167-6299>

Ramazanova L. Sh., <http://orcid.org/0000-0002-4043-3674>

Alui H., <http://orcid.org/0000-0002-4167-6299>

Scandrani M., <http://orcid.org/0000-0002-8907-8133>

Shamratov R. Z., <http://orcid.org/0000-0003-4754-1544>

РЕЗЮМЕ

Катаракта является одной из причин слабовидения и слепоты. Среди больных катарактой наибольший удельный вес (76–80%) составляют лица пенсионного возраста. Целью данной работы было сравнение активности пептида лактоферрицина и белка лактоферрина в сыворотке крови (СК) и слезной жидкости (СЖ) у больных с возрастной (ВК) и диабетической катарактой (ДК). Материал и методы. Изучены образцы сывороток крови и слезной жидкости 20 пациентов с диабетической катарактой, 18 пациентов пожилого возраста с катарактой без клиники сахарного диабета и 30 доноров. В СЖ и СК с помощью иммуноферментной тест-системы изучали концентрации лактоферрина (ЛФ) и лактоферрицина (ЛФЦ). Результаты. Установлено, что концентрации ЛФЦ в СЖ во всех исследованных группах статистически достоверно выше уровней в СК. Что касается уровня ЛФ при катаракте, то в крови у пациентов с ДК он составлял 168% от донорского уровня и 234% - у пациентов ВК без диабета. Не установлено существенных различий по ЛФ между группами пациентов с ДК и ВК ни в СК, ни в СЖ. Что касается пептида ЛФЦ, то он позволил обнаружить в крови существенное различие между группами пациентов с ДК и ВК. Обсуждение. Результаты сравнения концентраций ЛФ и ЛФЦ в сыворотке крови и слезной жидкости у больных с возрастной и диабетической катарактой подтвердило связь ЛФ в СК с возрастом, а ЛФЦ с наличием у пациентов с катарактой сахарного диабета. Заключение. Полученные результаты исследования ЛФ и ЛФЦ слезной жидкости у больных с возрастной и диабетической катарактой могут повысить эффективности диагностики и лечения нарушений катарактогенеза.

Ключевые слова: возрастная и диабетическая катаракта, лактоферрин, лактоферрицин, изучение в крови и слезной жидкости.

STUDY OF THE ANTIBACTERIAL PEPTIDE LACTOFERRICIN IN BLOOD SERUM AND LACRIMAL FLUID IN PATIENTS WITH AGE-RELATED AND DIABETIC CATARACTS

Kokhanov A. V., Ramazanova L. Sh., Alui H., Scandrani M., Shamratov R. Z.

Astrakhan State Medical University, Astrakhan, Russia

SUMMARY

Cataract is one of the causes of low vision and blindness. Among patients with cataracts, the largest share (76–80%) is made up of people of retirement age. The aim of this work was to compare the activity of lactoferricin peptide and lactoferrin protein in blood serum and lacrimal fluid in patients with age-related and diabetic cataracts. The samples of blood serum and lacrimal fluid of 20 patients with diabetic cataract, 18 elderly patients with cataract without a diabetes mellitus clinic and 30 donors were studied. The concentrations of lactoferrin (LF) and lactoferricin (LFC) were studied in the tear fluid and blood serum using enzyme immunoassay systems. It was found that the concentrations of LFC in the tear fluid in all studied groups were statistically significantly higher than the levels in the blood serum. As for the level of LF in cataracts, in the blood of patients with DC it was 168% of the donor level and 234% in AC without diabetes. There were no significant differences in LF between the groups of patients with DC and AC, neither in the blood serum nor in the tear fluid. As for the LFC peptide, it allowed us to detect a significant difference in the blood between the groups of patients with DC and AC. The results of comparing the concentrations of LF and LFC in the blood serum and lacrimal fluid in patients with age-related and diabetic cataracts confirmed the association of LF in the tear fluid with age, and LFC with the presence of diabetes mellitus in patients with cataract. The obtained results of the study of LF and LFC of the lacrimal fluid in patients with age-related and diabetic cataracts can increase the efficiency of diagnosis and treatment of cataractogenesis disorders.

Key words: age-related and diabetic cataract, lactoferrin, lactoferricin, study in blood and lacrimal fluid.

Катаракта является одной из причин слабо-видения и слепоты. Удельный вес катаракты, по данным ВОЗ, составляет 47% от общего числа глазной заболеваемости. Среди больных катарактой наибольший удельный вес (76–80%) составляют лица пенсионного возраста. В то же время наметилась четкая тенденция к увеличению числа больных в группе трудоспособного возраста [1; 2]. В настоящее время ведущим методом лечения катаракты, в том числе диабетической катаракты, является радикальный – это хирургическое удаление помутневшего хрусталика различными способами, преимущественно заканчивающимися имплантацией интраокулярной линзы [3; 4]. Хирургия катаракты составляет наибольший объем работы любой офтальмохирургической клиники. Однако потребности населения в данной операции намного опережают имеющиеся возможности офтальмохирургических клиник. В связи с этим нередко пациентам приходится ожидать своей очереди на хирургическое вмешательство немалый срок.

Слезная жидкость является гетерогенной смесью белков, имеющих различное клеточное происхождение. Результаты многочисленных исследований показывают корреляционные связи между определёнными офтальмологическими заболеваниями и изменением белкового состава слезы. В слезной жидкости (СЖ) обнаружено высокое содержание белка (около 10 мг/мл), в силу физиологических особенностей в ней идут интенсивные биохимические процессы. Все это делает СЖ удобным диагностическим маркером [5].

Механизмы формирования окислительного стресса (ОС) при разных патологиях глаз довольно универсальны и связаны, в первую очередь, с нарушением гомеостаза и окислительно-восстановительных процессов в молекулах белков, липидов и нуклеиновых кислот. Один из способов, который может быть эффективен в офтальмологии, является применение антиоксидантов [6]. Группа природных антиоксидантов включает ферменты (супероксиддисмутаза, каталаза, глутатионовая система и др.), неферментные соединения – белки (альбумин, трансферрин, ферритин, лактоферрин, церулоплазмин), низкомолекулярные соединения (витамины Е и С, убихинон, билирубин, мочевая кислота, стероидные гормоны и др.) [7].

В ходе развития катаракты в хрусталике происходит значительное снижение эндогенных антиоксидантов глутатиона и карнозина. В клинических исследованиях была доказана эффективность применения для лечения катаракты дипептида N-ацетилкарнозина [8].

В состав слезной жидкости (СЖ) входят различные по генезу вещества, такие как иммуно-

глобулины (А, G, М, Е), фракции комплемента, лизоцим, лактоферрин, трансферрин, представители различных ферментативных групп, дефензины, некоторые компоненты системы гемостаза, а также ряд продуктов углеводного, белкового, жирового и минерального обмена тканей [9; 10].

Лактоферрин – это железо-связывающий гликопротеин. Он выполняет несколько биохимически важных функций, в том числе, связывание и поглощение железа, связывание бактериального липополисахарида, проявляет бактериостатическое и бактерицидное действия в отношении бактерий и грибов, а также, выполняет функции фактора роста [11- 13].

Было обнаружено, что структурным участком белка лактоферрина, ответственным за бактерицидные свойства, является короткий концевой пептид, называемый лактоферрицином [14; 15]. Установлено, что пептид лактоферрицин проявлял активность против большого числа бактерий (*E. coli*, *Klebsiella spp.*, *Pseudomonas spp.*, *Listeria spp.*, *Staphylococcus spp.*), в том числе, вызываемых устойчивыми к антибиотикам штаммами бактерий *Staphylococcus aureus* и *Klebsiella pneumoniae* [16].

Механизм антимикробного действия лактоферрицина, по-видимому, сходен с механизмом действия дефензинов, протегринов, бациленина и других антимикробных пептидов животного происхождения, синтезируемых в лизосомах нейтрофилов [17; 18]. Однако конкретных сведений, касающихся эффектов лактоферрицина в слезной жидкости человека в литературе не описано.

Патофизиологические процессы начала катаракты еще далеко не полностью установлены, и во всем мире продолжается изучение механизмов развития этого заболевания. Ведь знание этапов патогенеза возникновения возрастной катаракты необходимо для разработки эффективной медикаментозной терапии [19; 20].

Основной причиной диабетической ретинопатии является длительная гипергликемия, однако до сих пор недостаточно известно о точном патогенезе данного заболевания. По этой причине изучение состава слезной жидкости пациентов с диабетической ретинопатией стало предметом особого внимания нескольких исследований [21; 22].

Целью данной работы было сравнение активности пептида лактоферрицина и белка лактоферрина в сыворотке крови и слезной жидкости у больных с возрастной и диабетической катарактой.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Объектом нашего исследования являлись образцы слезной жидкости и сыворотки крови 20

больных с диабетической катарактой на фоне сахарного диабета II типа (10 мужчин и 10 женщин в возрасте от 65 до 86 лет) и 18 больных аналогичного возраста без подтвержденного сахарного диабета (8 мужчин и 10 женщин в возрасте от 68 до 83 лет), направленных на оперативное лечение катаракты в отделение лазерной хирургии Государственного учреждения здравоохранения «Александро-Мариинская областная клиническая больница» и 30 доноров (практически здоровых людей, не имеющих глазных болезней).

Исследование проведено на основании разрешения локального этического комитета Астраханского ГМУ № 4 от 19.05.2022 года, и информированного согласия всех пациентов на использование данных обследования в научных целях.

Всем пациентам проводили обследование с помощью стандартных клинических, лабораторных, инструментальных методов обследования. К специальным методам офтальмологического обследования пациентов относились визиометрия, тонометрия, биомикроскопия, офтальмоскопия. Из других методов исследование глазного дна применяли оптическую когерентную томографию с последующей электронной записью и архивацией данных.

Забор слезной жидкости (СЖ) без дополнительной стимуляции проводили в утренние часы до выполнения лечебных и диагностических процедур с помощью канюли МНТК микрохирургии глаза, которая помещалась в нижний свод конъюнктивального мешка. Одновременно методом венепункции забирали кровь из локтевой вены. Сыворотку крови (СК) получали путем центрифугирования крови при 3000 об/мин на центрифуге ОПН-3. Аликвоты СЖ и СК замораживали

и хранили в пластиковых пробирках типа «Эппендорф» при $t = -20^{\circ}\text{C}$ не более 3 месяцев до выполнения исследования.

Концентрацию лактоферрина в сыворотке крови и слезной жидкости у доноров и обеих групп пациентов определяли с помощью иммуноферментной тест-системы (ИФА Лактоферрин ЗАО «Вектор-Бест» г. Новосибирск). Чувствительность теста на ЛФ составляла 20 нг/мл. Концентрацию лактоферрина определяли с помощью разработанной в Астраханском ГМУ тест системы для непрямого твердофазного иммуноферментного анализа концентрации антибактериального пептида лактоферрина с чувствительностью тест-системы 1 нг/мл (патент РФ № 2795322).

Учитывая полное различие групп доноров и больных по возрасту, заболеванию и осложнению их сравнение проводилось по непараметрическим показателям. Поэтому статистика изучаемых параметров между сравниваемыми группами представлена медианой и межквартильным интервалом между 25-м и 75-м квартилями. Значимость различий средних величин количественных признаков оценивалась непараметрическими методами по U-критерию Манна—Уитни для двух независимых групп. Различия считались достоверными в случае $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Обе группы пациентов с возрастной и диабетической катарактой включали пациентов от 65 до 83 лет и были сопоставимы по возрасту и полу, о чем свидетельствует табл. 1. Контролем служили образцы сыворотки крови и слезной жидкости 30 доноров.

Таблица 1. Распределение обследованных больных с возрастной и диабетической катарактой по возрасту и полу.

Table 1. Distribution of examined patients with age-related and diabetic cataracts by age and gender.

Группы пациентов	Возраст (лет)				Пол	
	20-60	61-70	71-80	Старше 80	М	Ж
Контрольная группа – доноры (n=30)	30	-	-	-	17	13
Катаракта на фоне диабета II типа (n=20)	-	4	13	3	10	10
Возрастная катаракта без клиники диабета (n=18)	-	2	14	2	8	10
Всего обследованных (n=68)	30	6	27	5	35	33

Средний возраст в контрольной группе 30 доноров составил $39,5 \pm 1,98$ года ($39,5 \pm 2,83$ для мужчин и $39,5 \pm 2,80$ для женщин). В группе пациентов с катарактой на фоне диабета II типа сред-

ний возраст составил $74,6 \pm 1,15$ года ($74,8 \pm 1,82$ и $74,4 \pm 1,51$), в группе пациентов с возрастной катарактой без подтвержденного диабета – $74,6 \pm 1,08$ лет ($74,8 \pm 1,60$ и $74,5 \pm 1,54$ соответственно). Та-

ким образом, контрольная группа доноров однородна по половым различиям, но статистически достоверно ($p < 0,05$) отличается по возрасту от обеих групп пациентов с катарактой. В тоже время группы пациентов с диабетической и возрастной катарактой полностью сопоставимы между собой по полу и возрасту (табл. 1).

У пациентов с возрастной (ВК) и диабетической катарактой (ДК), поступивших на оперативное лечение катаракты в отделение лазерной хирургии, одновременно в сыворотке крови (СК) и слезной жидкости (СЖ) проведено сравнительное изучение концентраций белка лактоферрина и пептида лактоферрицина (табл. 2).

Установлено, что концентрации ЛФ в СЖ многократно и статистически достоверно ($p < 0,001$) ниже сывороточных концентраций ЛФ (в 560 раз меньше у доноров, в 998 раз у пациентов с ВК и более чем в 1600 раз у пациентов с ДК), что вполне согласуется с известными литературными данными [23].

Наоборот, концентрации ЛФЦ в СЖ во всех исследованных группах статистически достоверно ($p < 0,001$) выше сывороточных концентраций ЛФЦ (в 3,1 раз у доноров, в 9 раз у пациентов с ВК и почти в 7 раз у пациентов с ДК). Эти информация по концентрации ЛФЦ в СЖ получена нами впервые и в литературе не встречается.

Что касается уровней ЛФ при катаракте (табл. 2), то в крови у пациентов с ДК он составлял

168% от донорского уровня и 234% при ВК без диабета (в данном случае различие с контролем достоверно, $p = 0,02$). В слезной жидкости при катаракте уровни ЛФ ниже донорских уровней до 95% и 80% (что статистически достоверно при $p = 0,026$ и $p = 0,014$, соответственно).

Наоборот, концентрации ЛФЦ при катаракте (табл. 2), в сыворотке крови падает почти в 2,5 раза от донорского уровня у пациентов с ДК (различие с контролем достоверно, $p < 0,0001$) и статистически недостоверно до 80% при ВК. В слезной жидкости при катаракте наблюдается повышение уровней ЛФЦ относительно донорских уровней до 121% и 172% (при этом, различия достоверно отличаются от контроля только при ВК, $p < 0,007$).

Представленные в табл. 2 данные позволили сравнить между собой группы пациентов с диабетической и возрастной катарактой. Не установлено существенных различий по ЛФ между группами пациентов с ДК и ВК ни в СК, ни в СЖ. Что касается пептида ЛФЦ, то его концентрация в СК позволила обнаружить существенное различие между группами пациентов с ДК и ВК ($p = 0,003$), в связи с максимальным угнетением синтеза ЛФЦ у пациентов с катарактой на фоне СД II типа. Что касается СЖ, то статистически значимых различий по ЛФЦ между группами пациентов с ДК и ВК не установлено.

Таблица 2. Активность лактоферрина и лактоферрицина в сыворотке крови и слезной жидкости больных с возрастной и диабетической катарактой

Table 2. Activity of lactoferrin and lactoferricin in blood serum and tear fluid of patients with age-related and diabetic cataracts

Биоматериал	Активность лактоферрина и лактоферрицина Me (Q25; Q75) в нг/мл и в % к контролю		
	Контроль n=30	Диабетическая катаракта СД II типа n=20	Возрастная катаракта без клиники СД n=18
ЛФ сыворотка крови	711 (353; 1431) 100%	1197 (539; 1962) 168%	1661* (1011; 2895) 234% $p = 0,02$
ЛФЦ сыворотка крови	3,40 (1,80; 4,35) 100%	1,40* (0,68; 2,03) 41% $p < 0,0001$	2,65 (1,60; 3,48) 78%
ЛФ слезная жидкость	1,27 (0,99; 2,67) 100%	1,20* (0,69; 1,66) 95% $p = 0,026$	1,02* (0,78; 1,73) 80% $p = 0,014$
ЛФЦ слезная жидкость	10,45 (8,43; 13,70) 100%	12,65 (7,15; 20,45) 121%	17,95* (10,20; 25,48) 172% $p = 0,007$

Примечание: * достоверные различия между опытными и контрольной группами

Результаты сравнения концентраций ЛФ у больных с ДК и ВК подтвердили факт увеличения концентрации ЛФ в сыворотке крови и снижения концентрации ЛФ в слезной жидкости. Наоборот, при сравнении концентрации ЛФЦ у больных с ДК и ВК статистически достоверное повышение концентрации ЛФЦ в СК наблюдается при ДК, а в СЖ – при ВК (табл. 2).

ОБСУЖДЕНИЕ

В ранее проведенных исследованиях нами сопоставлялись эффекты лактоферрина и лактоферрицина в различных биологических жидкостях: крови, моче, химусе, каловой эмульсии, перитонеальном экссудате [15, 24, 25]. При этом для определения концентрации ЛФЦ применяли косвенные спектрофотометрические методы неприемлемые для изучения слезной жидкости. В данной работе для определения уровня лактоферрицина в слезной жидкости мы впервые применили чувствительный иммуноферментный анализ (патент РФ № 2795322).

Известно, что лактоферрин и лактоферрицин, прежде всего, представляют интерес как антибактериальные агенты [11; 13; 14]. Антимикробные свойства лактоферрина связаны с возможностью отнимать железо у бактерий, но этот вариант не возможен для лактоферрицина, его бактерицидное действие определяется другими механизмами.

Вместе с тем в последние годы для ЛФ и ЛФЦ обнаружено много новых функций [11; 12; 14], в том числе таких, которые представляют интерес для офтальмологии [21]. В слезной жидкости осуществляются многие метаболические функции лактоферрицина [10; 13; 17]. Например, у ЛФЦ проявляется антиоксидантная активность [7; 18]. В силу особенностей обмена веществ биохимический состав слезной жидкости существенно отличается от сыворотки крови, что и подтверждено в нашем исследовании ЛФ и ЛФЦ при возрастной и диабетической катаракте.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты сравнения концентраций ЛФ и ЛФЦ в сыворотке крови и слезной жидкости у больных с возрастной и диабетической катарактой подтвердили связь ЛФ в СК с возрастом, а ЛФЦ с наличием у пациентов с катарактой сахарного диабета. Полученные результаты исследования ЛФ и ЛФЦ слезной жидкости у больных с возрастной и диабетической катарактой могут повысить эффективности диагностики и лечения нарушений катарактогенеза.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

ЛИТЕРАТУРА

1. Муранов К. О., Островский М. А. Биохимия хрусталика глаза: норма и катарактогенез. *Обзор. Биохимия.* 2022;87(2):177-193. doi: 10.31857/S0320972522020038.

2. Shih K. C., Lam K. S., Tong L. A systematic review on the impact of diabetes mellitus on the ocular surface. *Nutr Diabetes.* 2017;7(3):e251. doi:10.1038/nutd.2017.4.

3. Ковалевская М. А., Филина Л. А. Подходы к прогнозированию и профилактике осложнений хирургии различных видов катаракты. *Вестник экспериментальной и клинической хирургии.* 2017;10(3):246-252. doi:10.18499/2070-478X-2017-10-3-246-252.

4. Копаев С. Ю., Пыцкая Н. В., Копаева В. Г., Меньшиков А. Ю. Хирургия катаракты при сахарном диабете. *Практическая медицина.* 2017;2(9):103-106.

5. Алуи Х., Рамазанова Л. Ш., Скандрари М., Шамратов Р. З., Коханов А. В. Сравнение активности некоторых сывороточных ферментов в слезной жидкости пациентов с возрастной и диабетической катарактой. *Современные проблемы науки и образования.* 2023;1:78. doi:10.17513/spno.32442.

6. Земсков А. М., Ковалевская М. А., Донкарева О. В., Филина Л. А., Ведринцева Н. В. Влияние окислительного стресса на течение послеоперационного периода хирургии диабетической катаракты. *Российский иммунологический журнал.* 2017;20(2):324-330.

7. Hagan S., Martin E., Enríquez-de-Salamanca A. Tear fluid biomarkers in ocular and systemic disease: Potential use for predictive, preventive and personalised medicine. *EPMA J.* 2016;7(1):15. doi:10.1186/s13167-016-0065-3.

8. Ярыгина Е. Г., Прокопьева В. Д., Бохан Н. А. Окислительный стресс и его коррекция карнозином. *Успехи современного естествознания.* 2015;4:106-113.

9. Чупров А. Д., Казеннов А. Н., Маршинская О. В., Казакова Т. В. Изменение содержания лизоцима в слезной жидкости у пациентов с диабетической ретинопатией (пилотное исследование). *Acta biomedica scientifica.* 2022;7(1):59-66. doi:10.29413/ABS.2022-7.1.7

10. Яровая Г. А., Нешкова Е. А., Мошетова Л. К. Молекулярные маркеры протеолиза слезной жидкости при сосудистых заболеваниях глаза. *Аллергология и иммунология.* 2017;18(3):1:189.

11. Алешина Г. М. Лактоферрин – эндогенный регулятор защитных функций организма. *Медицинский академический журнал.* 2019;19(1):35-44. doi:10.17816/MAJ19135-44.

12. Кузнецов И. А., Потиевская В. И., Качанов И. В., Куралева О. О. Роль лактоферрина в биологических средах человека. Современные проблемы науки и образования. 2017;3. URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=26522>.
13. Mayeur S., Spahis S., Pouliot Y., Levy E. Lactoferrin, a pleiotropic protein in health and disease. *Antioxid. Redox Signal.* 2016; 24:813-836. doi:10.1089/ars.2015.6458.
14. Drago-Serrano M. E., Campos-Rodriguez R., Carrero J. C., de la Garza M. Lactoferrin and peptide derivatives: antimicrobial agents with potential use in nonspecific immunity modulation. *Curr. Pharm. Des.* 2018;24(10):1067-1078. doi:10.2174/1381612824666180327155929.
15. Чукарев В. С., Луцева О. А., Коханов А. В., Закаев К. Ю., Серебряков А. А., Догадина А. О., Сайдулаева В. А., Мехтиев К. Н., Мулдашева Н. Г. Антимикробный пептид лактоферрицин в сыворотке крови и фекальной эмульсии у больных с urgentной хирургической патологией. Современные проблемы науки и образования. 2022;5:91. doi:10.17513/spno.32035.
16. Arias M., McDonald L. J., Haney E. F., Nazmi K., Bolscher J. G., Vogel H. J. Bovine and human lactoferricin peptides: chimeras and new cyclic analogs. *Biometals.* 2014;27(5):935-948. doi:10.1007/s10534-014-9753-4.
17. Серебряков А. А., Коханов А. В., Николаев А. А. Уропротеины с антибактериальными свойствами: клинико-диагностическое значение. *Астраханский медицинский журнал.* 2020;15(3):32-47. doi:10.17021/2020.15.3.32.47.
18. Иксанова А. М., Арзуманян В. Г., Конаныхина С. Ю., Самойликов П. В. Антимикробные пептиды и белки в биожидкостях человека. *MIR J* 2022;9(1):37-55. doi: 10.18527/2500-2236-2022-9-1-37-55.
19. Павлов Б. В., Зеленева Ю. В. Осложнения при сахарном диабете. Тенденции развития науки и образования. 2017;28(2):23-27. doi:10.18411/lj-31-07-2017-26.
20. Kiziltoprak H., Tekin K., Inanc M., Sakir Goker Y. Cataract in diabetes mellitus. *World J. Diabetes.* 2019;10:140-153.
21. Zhou L., Beuerman R. W. Tear analysis in ocular surface diseases. *Prog Retin Eye Res.* 2012;31(6):527-550.
22. Спасов А. А., Науменко Л. В., Говорова Ю. А. Основы диабетического катарактогенеза и перспективные пути его фармакологической коррекции. *Acta biomedica scientifica.* 2021;6(2):114-125. doi:10.29413/ABS.2021-6.2.13.
23. Иомдина Е. Н., Тарутта Е. П., Курылева И. М., Аксенова Ю. М., Сурина Е. А., Смирнова И. В., Богачук А. П., Липкин В. М. Особенности белкового состава слезной жидкости детей и подростков с высокой прогрессирующей миопией. *Российская педиатрическая офтальмология.* 2013;2:27-31.
24. Зурнаджянц В. А., Кчибеков Э. А., Коханов А. В., Луцева О. А., Куприянов А. В., Гасанов К. Г., Чукарев В. С. Антимикробный белок лактоферрин и пептид лактоферрицин в сыворотке крови и перитонеальном экссудате у больных с перитонитом. *Инфекции в хирургии.* 2022;2:73-77.
25. Серебряков А. А., Мирошников В. М., Коханов А. В., Догадина А. О., Мехтиев К. Н. Эффекты антимикробного пептида из лактоферрина в сыворотке крови и моче у пациентов с почечной коликой при уролитиазе и пиелонефрите. *Урология.* 2023;1:28-33. doi:10.18565/urology.2023.1.28-33.

REFERENCES

1. Muranov K. O., Ostrovsky M. A. Biochemistry of lens: norm and cataractogenesis. Review *Biochemistry.* 2022;87(2):177-93. (In Russ.). doi:10.31857/S0320972522020038.
2. Shih K. C., Lam K. S., Tong L. A systematic review on the impact of diabetes mellitus on the ocular surface. *Nutr Diabetes.* 2017;7(3):e251. doi:10.1038/nutd.2017.4.
3. Kovalevskaya M. A., Filina L. A. Prognosis, Prophylaxis and Treatment of the Postoperative Complications in Diabetic Cataract Patients. *Vestnik of experimental and clinical surgery.* 2017;10(3):246-52. (In Russ). doi:10.18499/2070-478X-2017-10-3-246-252.
4. Kopaev S. Yu., Pytskaya N. V., Kopaeva V. G., Menshikov A. Yu. Cataract surgery in diabetes mellitus. *Practical medicine.* 2017;2(9):103-6. (In Russ.).
5. Alui H., Ramazanova L. Sh., Scandrari M., Shamratov R. Z., Kokhanov A. V. Comparison of the activity of some serum enzymes in the lacrimal fluid of patients with age-related and diabetic cataracts. *Modern problems of science and education.* 2023;1:78. (In Russ.). doi:10.17513/spno.32442.
6. Zemskov A. M., Kovalevskaya M. A., Donkareva O. V., Filina L. A., Vedrintseva N. V. Influence of oxidative stress on the course of the postoperative period of diabetic cataract surgery. *Russian Journal of Immunology.* 2017;20(2):324-30. (In Russ.).
7. Hagan S., Martin E., Enríquez-de-Salamanca A. Tear fluid biomarkers in ocular and systemic disease: Potential use for predictive, preventive and personalised medicine. *EPMA J.* 2016;7(1):15. doi:10.1186/s13167-016-0065-3.
8. Yarygina E. G., Prokop'eva V. D., Bokhan N. A. Oxidative stress and its correction with carnosine. *Successes of modern natural science.* 2015;4:106-113. (In Russ.).

9. Chuprov A. D., Kazennov A. N., Marshinskaya O. V., Kazakova T. V. Changes of lysozyme content in the lacrimal fluid in patients with diabetic retinopathy (pilot study). *Acta biomedica scientifica*. 2022;7(1):59-66. (In Russ.). doi:10.29413/ABS.2022-7.1.7
10. Yarovaya G. A., Neshkova E. A., Moshetova L. K. Molecular markers of lacrimal fluid proteolysis in vascular diseases of the eye. *Allergology and Immunology*. 2017;18(3)1:189. (In Russ.).
11. Aleshina G. M. Lactoferrin – an endogenous regulator of the protective functions of the organism. *Medical Academic Journal*. 2019;19(1):35-44. (In Russ.). doi:10.17816/MAJ19135-44.
12. Kuznetsov I. A., Potievskaya V. I., Kachanov I. V., Kuraleva O. O. The role of lactoferrin in human biological media. *Modern problems of science and education*. 2017;3. URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=26522>. (In Russ.).
13. Mayeur S., Spahis S., Pouliot Y., Levy E. Lactoferrin, a pleiotropic protein in health and disease. *Antioxid. Redox Signal*. 2016;24:813-36. doi:10.1089/ars.2015.6458.
14. Drago-Serrano M. E., Campos-Rodriguez R., Carrero J. C., de la Garza M. Lactoferrin and peptide derivatives: antimicrobial agents with potential use in nonspecific immunity modulation. *Curr. Pharm. Des*. 2018;24(10):1067-78. doi: 10.2174/1381612824666180327155929.
15. Chukarev V. S., Lutseva O. A., Kokhanov A. V., Zakaev K. Yu., Serebryakov A. A., Dogadina A. O., Saidulaeva V. A., Mekhtiev K. N., Muldasheva N. G. Antimicrobial peptide lactoferricin in blood serum and fecal emulsion in patients with urgent surgical pathology. *Modern problems of science and education*. 2022;5:91. (In Russ.). doi:10.17513/spno.32035.
16. Arias M., McDonald L. J., Haney E. F., Nazmi K., Bolscher J. G., Vogel H. J. Bovine and human lactoferricin peptides: chimeras and new cyclic analogs. *Biometals*. 2014;27(5):935-48. doi:10.1007/s10534-014-9753-4.
17. Serebryakov A. A., Kokhanov A. V., Nikolaev A. A. Uroproteins with antibacterial properties: clinical and diagnostic significance. *Astrakhan medical journal*. 2020;15(3):32-47. (In Russ.). doi:10.17021/2020.15.3.32.47.
18. Iksanova A. M., Arzumanian V. G., Konanykhina S. Y., Samoylikov P. V. Antimicrobial peptides and proteins in human biological fluids. *Microbiology Independent Research Journal*. 2022;9(1), 37-55. (In Russ.). doi:10.18527/2500-2236-2022-9-1-37-55.
19. Pavlov B.V., Zeleneva Yu.V. Complications in diabetes mellitus. *Trends in the development of science and education*. 2017;28(2):23-27. (In Russ.). doi:10.18411/lj-31-07-2017-26.
20. Kiziltoprak H., Tekin K., Inanc M., Sakir Goker Y. Cataract in diabetes mellitus. *World J. Diabetes*. 2019;10:140-153.
21. Zhou L., Beuerman R. W. Tear analysis in ocular surface diseases. *Prog Retin Eye Res*. 2012;31(6):527-550.
22. Spassov A. A., Naumenko L. V., Govorova Yu. A. Fundamentals of diabetic cataractogenesis and promising ways of its pharmacological correction. *Acta biomedica scientifica*. 2021;6(2):114-125. (In Russ.). doi:10.29413/ABS.2021-6.2.13.
23. Iomdina E. N., Tarutta E. P., Kuryleva I. M., Aksenova Yu. M., Surina E. A., Smirnova I. V., Bogachuk A. P., Lipkin V. M. Features protein composition of the lacrimal fluid of children and adolescents with high progressive myopia. *Russian Pediatric Ophthalmology*. 2013;2:27-31. (In Russ.).
24. Zurnadzhants V. A., Kchibekov E. A., Kokhanov A. V., Lutseva O. A., Kupriyanov A. V., Gasanov K. G., Chukarev V. S. Antimicrobial protein lactoferrin and peptide lactoferricin in blood serum and peritoneal exudate in patients with peritonitis. *Infections in surgery*. 2022;2:73-7. (In Russ.).
25. Serebryakov A. A., Miroshnikov V. M., Kokhanov A. V., Dogadina A. O., Mekhtiev K. N. Effects of the antimicrobial peptide from lactoferrin in blood serum and urine in patients with renal colic in urolithiasis and pyelonephritis. *Urology*. 2023;1:28-33. doi:10.18565/urology.2023.1.28-33.

ОСОБЕННОСТИ КИСЛОРОДНОГО ОБЕСПЕЧЕНИЯ ОРГАНИЗМА ПАЦИЕНТОВ ПОСЛЕ ПЕРЕНЕСЕННОЙ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ COVID-19 СРЕДНЕЙ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ

Мисирова И. А.¹, Борукаева И. Х.¹, Абазова З. Х.¹, Карданова Л. Д.¹, Куготов А. М.²

¹ФГБОУ ВО «Кабардино-Балкарский государственный университет им. Х.М. Бербекова», 360000, Горького, 5, Нальчик, Россия

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

Для корреспонденции: Борукаева Ирина Хасанбиевна, доктор медицинских наук, заведующая кафедрой нормальной и патологической физиологии человека ФГБОУ ВО «Кабардино-Балкарский государственный университет им. Х.М. Бербекова», e-mail: irborukaeva@yandex.ru

For correspondence: Borukaeva Irina Kh. - Doctor of Medicine, Associate Professor, Head of the Department of Normal and Pathological Human Physiology the Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «Kabardino-Balkarian State University named after H.M. Berbekov», e-mail: irborukaeva@yandex.ru

Information about authors:

Misirova I. A., <https://orcid.org/0000-0002-9351-315X>.

Borukaeva I. Kh., <https://orcid.org/0000-0003-1180-228X>.

Abazova Z. Kh., <https://orcid.org/0000-0003-2827-5068>.

Kardanova L. D., <https://orcid.org/0000-0003-1570-2497>.

Kugotov A. M., <https://orcid.org/0009-0004-6786-2606>.

РЕЗЮМЕ

Целью данной работы было выявление особенностей кислородного баланса организма лиц, переболевших коронавирусной инфекцией COVID-19 средней степени тяжести. Материал и методы. Обследовано 150 пациентов с диагностированной коронавирусной инфекцией COVID-19 средней степени тяжести в возрасте 45-59 лет через месяц после выздоровления. Показатели кислородного обеспечения организма рассчитывались специальной компьютерной программой по методике А.З. Колчинской. Спирометрические показатели определялись на компьютерном спирографе Spiro PRO фирмы «BTL-08». Результаты и обсуждение. Выявленные изменения свидетельствовали о сохранении у больных после перенесенной коронавирусной инфекции COVID-19 обструктивной и рестриктивной альвеолярной гиповентиляции. У части больных систолический объем сердца был снижен, что могло быть связано со снижением сократительной способности миокарда в результате перенесенной коронавирусной инфекции. Отмечалось статистически значимое снижение содержания гемоглобина в крови и кислородной емкости крови, что свидетельствовало о развитии гемической гипоксии. Выявленное снижение скорости потребления кислорода у больных после коронавирусной инфекции привело к развитию вторичной тканевой гипоксии. Заключение. Кислородный режим пациентов после перенесенной коронавирусной инфекции COVID-19 отличался пониженной эффективностью и экономичностью, что свидетельствовало об ослаблении саногенетических механизмов и необходимости проведения реабилитационных мероприятий. Комплексное исследование больных после перенесенной коронавирусной инфекции, включающее определение функциональной системы дыхания и кислородного баланса организма необходимо для персонализированного подхода к больному и выбора патогенетически обоснованного лечения и реабилитации.

Ключевые слова: функциональная система дыхания, альвеолярная гиповентиляция, гипоксия, коронавирусная инфекция COVID-19.

PECULIARITIES OF OXYGEN SUPPLY IN PATIENTS AFTER MODERATELY SEVERE COVID-19 CORONAVIRUS INFECTION

Misirova I. A.¹, Borukaeva I. Kh.¹, Abazova Z. Kh.¹, Kardanova L. D.¹, Kugotov A. M.²

¹Kabardino-Balkarian State University named after Kh.M. Berbekov, Nalchik, Russia

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

SUMMARY

The aim of this work was to reveal the peculiarities of oxygen balance in the organism of patients who had had a moderately severe COVID-19 coronavirus infection. Materials and methods. 150 patients with diagnosed coronavirus infection COVID-19 of moderate severity aged 45-59 years were examined a month after recovery. The indicators of oxygen supply to the body were calculated by a special computer program using the method of A.Z. Kolchinskaya. Spirometric parameters were determined on a computer spirometer Spiro PRO of the BTL-08 company. Results and discussion. The revealed changes indicated the preservation of obstructive and restrictive alveolar hypoventilation in patients after COVID-19 coronavirus infection. Systolic heart volume was decreased in some patients, which might be related to a decrease in myocardial contractility as a result of coronavirus infection. There was a statistically significant

decrease of hemoglobin content in blood and blood oxygen capacity, which indicated the development of hemic hypoxia. Detected decrease of oxygen consumption rate in patients after coronavirus infection led to the development of secondary tissue hypoxia. Conclusion. Oxygen regimen of patients after coronavirus infection COVID-19 was characterized by reduced efficiency and cost-effectiveness, which indicated the weakening of sanogenetic mechanisms and the need for rehabilitation measures. Comprehensive study of patients after coronavirus infection, including determination of the functional respiratory system and oxygen balance of the body are necessary for a personalized approach to the patient and the choice of pathogenetically sound treatment and rehabilitation.

Key words: functional respiratory system, alveolar hypoventilation, hypoxia, coronavirus infection COVID-19

Отсутствие понимания основных патогенетических механизмов развития новой коронавирусной инфекции COVID-19 в начале пандемии привело к симптоматическому, порой эмпирическому лечению, в результате чего у пациентов после перенесенной коронавирусной инфекции отмечалось появление симптомокомплекса, вызванного побочными действиями медикаментозной терапии и осложнениями [1-3]. Постоянно обновляемые методические рекомендации по профилактике, диагностике и лечению пациентов с новой коронавирусной инфекцией направлены на скорейшее выздоровление пациентов, однако остается много неразрешенных вопросов по восстановлению больных после перенесенной коронавирусной инфекции COVID-19 [4-6]. Для успешной реабилитации пациентов необходимо понимание патогенетических механизмов изменений, оставшихся после перенесенной коронавирусной инфекции COVID-19 [6; 7]. Учитывая, что первой при коронавирусной инфекции поражалась бронхолегочная система, у больных нарушался кислородный баланс организма в результате уменьшения альвеолярной вентиляции, диффузионной способности легких и кислородтранспортной функции крови [8; 9].

Функциональная система дыхания представляет собой совокупность органов и систем, обеспечивающих поэтапную доставку кислорода, начиная от бронхолегочной системы и заканчивая механизмами утилизации кислорода клетками [10]. Поэтому выявление изменений функциональной системы дыхания и восстановление кислородного режима организма после перенесенной коронавирусной инфекции COVID-19 является первоочередным в реабилитации пациентов.

Цель исследования: выявление особенностей кислородного баланса организма пациентов после перенесенной коронавирусной инфекции COVID-19 средней степени тяжести.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Нами было обследовано 150 пациентов с диагностированной коронавирусной инфекцией COVID-19 средней степени тяжести в возрастной группе 45-59 лет через месяц после выздоровления. Исследования были проведены на базе Университетской клиники Кабардино-Балкарского государственного университета

им. Х.М. Бербекова и городской поликлиники №3 г. Нальчика Министерства Здравоохранения Кабардино-Балкарской республики. Основная группа была представлена пациентами мужского пола 45-59 лет ($n = 80$), перенесшими коронавирусную инфекцию средней степени тяжести месяц назад. Контрольная группа состояла из 70 лиц 45-59 лет мужского пола, не переболевших коронавирусной инфекцией.

Показатели кислородного обеспечения организма рассчитывались специальной компьютерной программой по методике А.З. Колчинской. Сатурация артериальной крови кислородом (SaO_2) и частота сердечных сокращений (ЧСС) определялись на аппарате «пульсоксиметр» «LITTLE DOCTOR MD300C» (Китай). Спирометрические показатели (FVC - форсированная жизненная емкость легких, PEF - пиковая скорость выдоха, FEV1 - объем форсированного выдоха в первую секунду, индекс Тиффно - отношение FEV1/FVC, MEF25%, MEF50%, MEF75% - максимальная объемная скорость при выдохе 25% FVC, 50% FVC, 75% FVC, RV - остаточный объем легких, TLC - общая ёмкость легких) определялись на компьютерном спирографе Spiro PRO фирмы «BTL-08» (Великобритания). Всем больным проводилась диагностическая ингаляционная проба с бронходилататором сальбутамолом в дозе 400 мкг с измерением бронходилатационного ответа через 15 минут. Проба проводилась для оценки функционального состояния реактивности бронхиального дерева. При приросте FEV1 более чем на 15% проба считалась положительной и свидетельствовала о повышенной реактивности бронхов и обратимости бронхообструкции.

Все материалы, приведенные в данной работе, обработаны вариационно-статистическими методами. Ввиду нормального распределения выборок, расчет описательной статистики осуществлялся с применением параметрических методов. Для определения уровня значимости использовался t-критерий Стьюдента с применением квадратической формулы расчета ошибки средней (M) величины - m. Различия считались статистически достоверными при $p < 0,05$. Корреляционный анализ проводился по коэффициенту корреляции Пирсона r, который отражал степень линейной зависимости между двумя множествами данных.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

После перенесенной коронавирусной инфекции COVID-19 больные предъявляли различные жалобы, не связанные с другими заболеваниями: одышка при физической нагрузке и в покое, повышенная утомляемость, бессонница, частые головные боли, непереносимость некоторых запахов и продуктов питания, подавленность настроения, повышенная тревожность. При исследовании этапа поступления кислорода в легкие выявлялось статистически значимое снижение минутного объема дыхания на 23,63% ($p=0,004$), дыхательного объема на 23,86% ($p=0,004$), альвеолярной вентиляции на 17,26% ($p=0,035$) на фоне возрастания частоты дыхательных движений на 18,51% ($p=0,031$). Нарушение соотношения альвеолярной венти-

ляции к минутному объему дыхания привело к возрастанию «функционального» мертвого пространства, в результате чего нарушились процессы газообмена в альвеолах, что привело к статистически значимому снижению напряжения кислорода в артериальной крови на 13,44% ($p=0,041$).

Определение спирометрических показателей выявило статистически значимое уменьшение FEV1 за 1 секунду на 29,57% ($p=0,0021$), PEF на 27,65% ($p=0,0031$) и MEF на уровне 25% на 21,58% ($p=0,006$), на уровне 50% на 22,48% ($p=0,005$), на уровне 75% FVC на 24,61% ($p=0,004$), что свидетельствовало о сохранении альвеолярной обструктивной гиповентиляции с признаками респираторной гипоксии у больных после перенесенной коронавирусной инфекции COVID-19 (рис. 1).

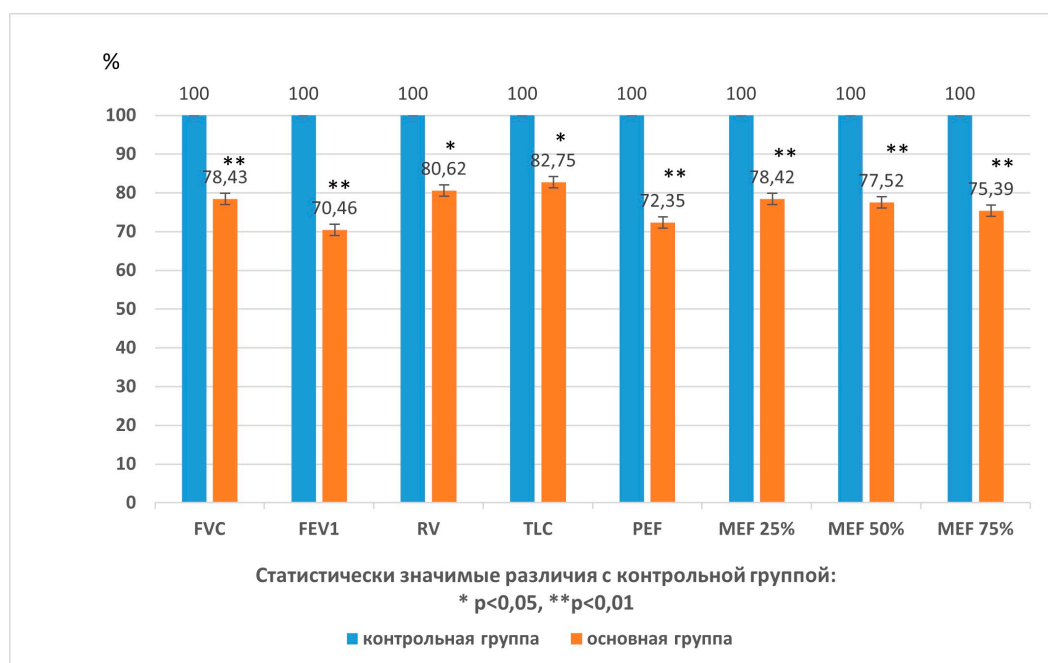


Рис. 1. Показатели функции внешнего дыхания у основной и контрольной группы ($M\pm m$)

Fig. 1. Indicators of external respiration function in the main and control groups ($M\pm m$)

Данные пикфлоуметрии (суточные колебания пиковой скорости выдоха более 15,7%) и положительный бронходилатационный тест (прирост FEV1 более 16,05% после ингаляции салбутамолом), свидетельствовали об обратимой бронхообструкции на фоне повышенной реактивности бронхиального дерева после перенесенной болезни, что позволяло надеяться на возможность восстановления бронхиальной проходимости после реабилитации.

О развитии фиброзных изменений в легочной ткани после перенесенной коронавирусной инфекции свидетельствовало статистически

значимое снижение жизненной емкости легких на 21,47% ($p=0,005$), общей емкости легких на 17,25% ($p=0,031$), резервного объема вдоха на 19,38% ($p=0,022$), что доказывало развитие у больных рестриктивной альвеолярной гиповентиляции и требовало реабилитации во избежание возникновения необратимых изменений в легочной ткани.

Перенесенная коронавирусная инфекция COVID-19 привела к развитию у больных гемической гипоксии, проявлением которой стало статистически значимое снижение содержания гемоглобина в крови на 10,37% ($p=0,023$) и, со-

ответственно, кислородной емкости крови. Полученные результаты согласуются с данными авторов, указывающими на изменение структуры гемоглобина с последующим гемолизом эритро-

цитов [11], разрушением стволовых гемопоэтических клеток в красном костном мозге и подавлением действия эритропоэтина под действием SARS CoV 2 [12] (табл. 1).

Таблица 1. Показатели дыхательной и сердечно-сосудистой систем у основной и контрольной группы (M±m).

Table 1. Indicators of respiratory and cardiovascular systems in the main and control groups (M±m).

Показатели	Основная группа (n= 80)	Контрольная группа (n=70)	p
Дыхательный объем, мл	332,11±30,25*	442,70±41,52	p=0,0032
Минутный объем дыхания, мл/мин	5421,5±260,33*	6836,4±270,09	p=0,0117
Соотношение альвеолярной вентиляции в минутном объеме дыхания, %	67,03±2,04**	77,45±3,15	p=0,0065
Концентрация гемоглобина в крови, г/л	130,53±6,21*	147,84±4,12	p=0,023
Кислородная емкость крови, мл/л	177,52±7,05*	201,06±8,32	p=0,026
Частота сердечных сокращений в 1 мин	85,51±2,61*	77,35±2,71	p=0,045

Примечание: * наличие статистически значимых отличий от контрольной группы p<0,05; ** наличие статистически значимых отличий от контрольной группы p<0,01

Со стороны сердечно-сосудистой системы у 90,5% больных существенных изменений минутного и систолического объемов сердца не было выявлено, в то время, как ЧСС достоверно возросла на 10,54% (p=0,045). У 9,5% больных в результате снижения сократительной способности миокарда под действием коронавирусной инфекции COVID-19 было выявлено статистически значимое уменьшение систолического и минутного объемов сердца на 14,52% (p=0,032) с развитием гемодинамической гипоксии у данных больных.

Перенесенная коронавирусная инфекция привела к нарушению кислородного обеспечения на всех этапах: отмечалось уменьшение скорости доставки кислорода в альвеолы, транспорта O₂ артериальной и венозной кровью. Выявленные изменения со стороны дыхательной и сердечно-сосудистой системы привели к снижению поступления кислорода к тканям и уменьшению скорости утилизации кислорода клетками на 20,08% (p=0,0021), что свидетельствовало о развитии вторичной тканевой гипоксии у больных после перенесенной коронавирусной инфекции (рис. 2).

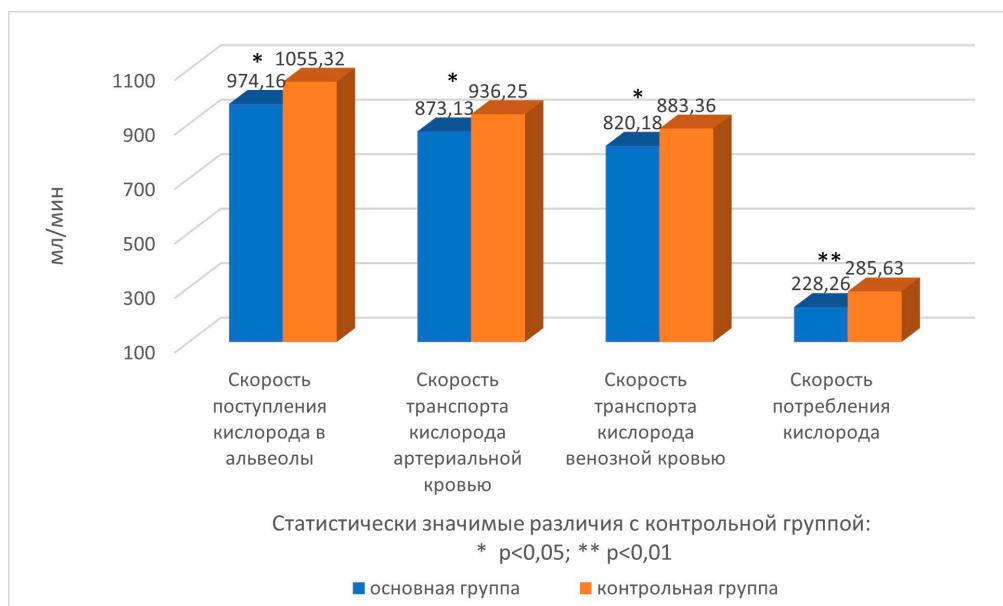


Рис. 2. Показатели скорости поэтапной доставки кислорода у основной и контрольной группы (M±m).
Fig. 2. Indicators of the rate of phased oxygen delivery in the main and control groups (M±m).

Уменьшение кислородной емкости крови привело к статистически значимому снижению содержания кислорода в артериальной крови на 12,75% ($p=0,043$). Сатурация кислородом артериальной крови не была статистически значимо

изменена, однако, paO_2 у обследованных больных было снижено до $86,56 \pm 2,15$ мм рт.ст. ($p=0,036$) из-за несоответствия вентиляционно-перфузионных отношений вследствие уменьшения МОД (рис. 3).

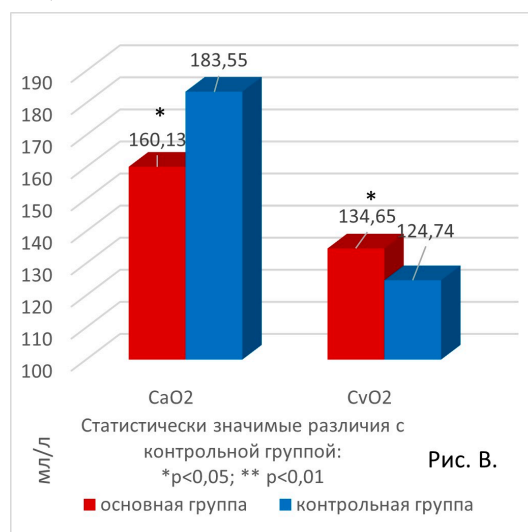
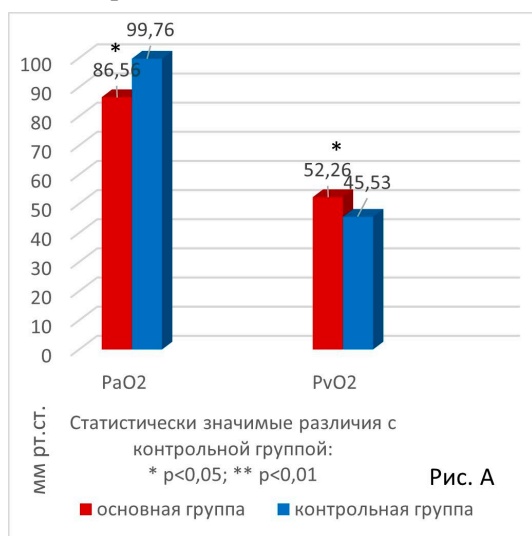


Рис. 3. А – напряжение кислорода в артериальной крови (CaO_2) у основной и контрольной группы; В – содержание кислорода в венозной крови (CvO_2) у основной и контрольной группы ($M \pm m$).

Fig. 3. A – oxygen tension in arterial blood (CaO_2) in the main and control groups; B – oxygen content in venous blood (CvO_2) in the main and control groups ($M \pm m$).

Изменения вышеперечисленных показателей привели к статистически значимому повышению вентиляционного эквивалента на 18,22% ($p=0,021$) и снижению кислородного эффекта дыхательного цикла на 17,43% ($p=0,025$), увеличению гемодинамического эквивалента на 21,07% ($p=0,006$) и снижению кислородного эффекта сердечного цикла на 17,62% ($p=0,033$), что свидетельствовало о низкой экономичности и эффективности кислородного режима организма, т.е. для адекватного кислородного обеспечения клеток организма кислородом требовалось напряжение дыхательной и сердечно-сосудистой системы.

Анализ корреляционной зависимости напряжения кислорода в артериальной крови и скорости потребления кислорода тканями выявил прямую высокую ($r=0,725$; $p=0,004$) зависимость, что свидетельствовало о том, что гемическая гипоксия приводит к развитию вторичной тканевой гипоксии. Также была выявлена прямая умеренная корреляционная зависимость альвеолярной вентиляции и скорости потребления кислорода тканями ($r=0,631$; $p=0,021$), т.е. развивающаяся респираторная гипоксия способствовала возникновению вторичной тканевой гипоксии у больных после перенесенной коронавирусной инфекции COVID-19.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании проведенных исследований, перенесенная коронавирусная инфекция COVID-19 средней степени тяжести через месяц после выздоровления приводила к сохранению дыхательной гипоксии, о чем свидетельствовали изменения функции внешнего дыхания; гемической гипоксии, так как выявлялось снижение кислород-транспортных свойств крови; гемодинамической гипоксии, о чем свидетельствовало снижение минутного объема крови и тканевой гипоксии в результате снижения скорости потребления кислорода тканями. Кислородный баланс пациентов после перенесенной коронавирусной инфекции COVID-19 отличался пониженной эффективностью и экономичностью в результате ослабления саногенетических компенсаторных механизмов на фоне перенесенной инфекции. Выявленные изменения свидетельствуют о необходимости комплексного исследования больных после перенесенной коронавирусной инфекции, включающего определение функциональной системы дыхания и кислородного баланса организма для персонализированного подхода к больному и выбора патогенетически обоснованного лечения и реабилитации.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

ЛИТЕРАТУРА

1. Абдурахимов А.Х., Хегай Л.Н., Юсупова Ш.К. COVID-19 и его осложнения. *Re-health journal*. 2021;4:61-65.

2. Погарская И.В. Контаров Н.А., Юминова Н.В. SARS-COV-2: этиология, патогенез, клинические проявления, тактика лечения и профилактики COVID-19. *Известия ГГТУ. Медицина, фармация*. 2020;3:32-37.

3. Guo T., Fan Y., Chen M. Association of cardiovascular disease and myocardial injury with outcomes of patients hospitalized with 2019-coronavirus disease (COVID-19). *JAMA Cardiol*. 2020;5(7)6:751-753. doi:10.1001/jamacardio.2020.1105.

4. Йокота Ш., Куройва Е., Нишиока К. Новая коронавирусная болезнь (COVID-19) и «цитокиновый шторм». Перспективы эффективного лечения с точки зрения патофизиологии воспалительного процесса. *Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение*. 2020;9(4):13–25. doi:10.33029/2305-3496-2020-9-4-13-25.

5. O'Sullivan J. M., Gonagle D. M., Ward S. E., Preston R., O'Donnell J. S. Endothelial cells orchestrate COVID-19 coagulopathy. *Lancet Haematol*. 2020;7(8):553-e555. doi:10.1016/S2352-3026(20)30215-5.

6. Хамитов Р. Ф., Андреичева Е. Н., Хайруллина А. Р., Мингалеева Г. Ф. Обоснование лечения и возможные исходы тяжёлого COVID-19. *Казанский медицинский журнал*. 2021;6:934-939. doi:10.17816/KMJ2021-934.

7. Зайцев А. А., Чернов С. А., Стец В. В. Алгоритмы ведения пациентов с новой коронавирусной инфекцией COVID-19 в стационаре. *Методические рекомендации. Consilium Medicum*. 2020;22(11):16. doi:10.26442/20751753.2020.11.200 520.

8. Liu Y., Yang Y., Zhang C. Clinical and biochemical indexes from 2019-nCoV infected patients linked to viral loads and lung injury. *Sci China Life Sci*. 2020;63(3):364-374. doi:10.1007/s-11427-020-1643-8.

9. Никифоров В. В., Суранова Т. Г., Миронов А. Ю., Забозлаев Ф. Г. Новая коронавирусная инфекция (COVID-19): этиология, эпидемиология, клиника, диагностика, лечение и профилактика М.: Академия постдипломного образования ФГБУ ФНКЦ ФМБА России; 2020.

10. Колчинская А. З., Цыганова Т. Н., Остапенко Л. А. Нормобарическая интервальная гипоксическая тренировка в медицине и спорте. Москва: Медицина; 2003.

11. Рева И. В., Ямамото Т., Гордзиевская К. В., Рассказова М. Е., Вершинина С. С., Фисенко А. Ю., Коцюрбий Е. А., Тудаков В. С., Цегольник Е. С., Усов В. В., Олексенко О. М., Коробкин А.И., Слабенко Э.В., Шиндина А.Д., Рева Г.В. Патогенез коронавирусной болезни 2019 (COVID-19), вызванной severe acute respiratory syndrome coronavirus (SARS COV-2). *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований*. 2020;9:23-29. doi: 10.17513/mjpf.13122.

12. Цинзерлинг В. А., Вашукова М. А., Васильева М. В., Исаков А. Н., Луговская Н. А., Наркевич Т. А., Суханова Ю. В., Семенова Н. Ю., Гусев Д. А. Вопросы патоморфогенеза новой коронавирусной инфекции (COVID-19). *Журнал инфектологии*. 2020;12(2):5-11. doi:10.22625/2072-6732-2020-12-2-5-11.

REFERENCE

1. Abduraximov A. X., Xegaj L. N., Yusupova Sh.K. COVID-19 and its complications. *Re-health journal*. 2021;4:61-65. (In Russ.).

2. Pogarskaya I. V. Kontarov N. A., Yuminova N. V. SARS-COV-2: etiology, pathogenesis, clinical manifestations, tactics of treatment and prevention of COVID-19. *News of the GGTU. Medicine, pharmacy*. 2020;3:32-37. (In Russ.).

3. Guo T., Fan Y., Chen M. Association of cardiovascular disease and myocardial injury with outcomes of patients hospitalized with 2019-coronavirus disease (COVID-19). *JAMA Cardiol*. 2020;5(7)6:751-753. doi:10.1001/jamacardio.2020;1105.

4. Jokota Sh., Kurojva E., Nishioka K. New coronavirus disease (COVID-19) and «cytokine storm». Prospects of effective treatment from the point of view of the pathophysiology of the inflammatory process. *Infectious diseases: news, opinions, training*. 2020;9(4):13–25. doi:10.33029/2305-3496-2020-9-4-13-25.

5. O'Sullivan J. M., Gonagle D. M., Ward S. E., Preston R., O'Donnell J. S. Endothelial cells orchestrate COVID-19 coagulopathy. *Lancet Haematol*. 2020;7(8):553-e555. doi:10.1016/S2352-3026(20)30215-5.

6. Xamitov R. F., Andreicheva E. N., Xajrullina A. R., Mingaleeva G. F. Justification of treatment and possible outcomes of severe COVID-19. *Kazan Medical Journal*. 2021;6:934-939. doi:10.17816/KMJ2021-934.

7. Zajcev A. A., Chernov S. A., Stecz V. V. Algorithms for the management of patients with the new coronavirus infection COVID-19 in the hospital. *Methodological recommendations. Consilium Medicum*. 2020;22(11):16. doi:10.26442/20751753.2020.11.200 520.

8. Liu Y., Yang Y., Zhang C. Clinical and biochemical indexes from 2019-nCoV infected patients linked to viral loads and lung injury. *Sci China Life Sci.* 2020;63(3):364-374. doi:10.1007/s-11427-020-1643-8.
9. Nikiforov V. V., Suranova T. G., Mironov A. Yu., Zabolzaev F. G. New coronavirus infection (COVID-19): etiology, epidemiology, clinic, diagnosis, treatment and prevention M.: Academy of Postgraduate Education of the FSBI Federal Scientific and Clinical Center of the Federal Medical and Biological Agency of Russia; 2020.
10. Kolchinskaya A. Z., Cyganova T. N., Ostapenko L. A. Normobaric interval hypoxic training in medicine and sports. Moscow: Medicine; 2003.
11. Reva I. V., Yamamoto T., Gordzievskaya K. V., Rasskazova M. E., Vershinina S. S., Fisenko A. Yu., Kotsyurbiy E. A., Tudakov V. S., Cegolnik E. S., Usov V. V., Oleksenko O. M., Korobkin A. I., Slabenko E. V., Shindina A. D., Reva G. V. Pathogenesis of coronavirus disease 2019 (COVID-19) caused by severe acute respiratory syndrome coronavirus (SARS COV-2). *International Journal of Applied and Fundamental Research.* 2020;9:23-29. doi:10.17513/mjpf.13122.
12. Cinzerling V. A., Vashukova M. A., Vasilyeva M. V., Isakov A. N., Lugovskaya N. A., Narkevich T. A., Sukhanova Yu. V., Semenova N. Yu., Gusev D. A. Issues of pathomorphogenesis of a new coronavirus infection (COVID-19). *Journal of Infectology.* 2020;12(2):5-11. doi:10.22625/2072-6732-2020-12-2-5-11.

УДК [591.147.1+612.086.2]:616.718.5-089.849

DOI: 10.29039/2224-6444-2023-13-3-35-43

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ Фолликулов Щитовидной ЖЕЛЕЗЫ КРЫС ПОСЛЕ 60-ТИ СУТОЧНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ БЕНЗОАТА НАТРИЯ И МОДЕЛИРОВАНИЯ ПЕРЕЛОМА БОЛЬШЕБЕРЦОВЫХ КОСТЕЙ

Морозов В. Н.¹, Лузин В. И.²

¹ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» Министерства высшего образования и науки РФ, ул. Победы, 85, 308015, г. Белгород, Россия

²ФГБОУ ВО «Луганский государственный медицинский университет им. Святителя Луки» Министерства здравоохранения РФ, 291045, кв. 50-летия Оборона Луганска, 1 г, Луганск, Россия

Для корреспонденции: Морозов Виталий Николаевич, кандидат медицинских наук, доцент кафедры анатомии и гистологии человека, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», e-mail: morozov_v@bsu.edu.ru

For correspondence: Morozov V. N., PhD, Belgorod National Research University, e-mail: morozov_v@bsu.edu.ru

Information about authors:

Morozov V. N., <https://orcid.org/0000-0002-1169-4285>

Luzin V. I., <https://orcid.org/0000-0001-8983-2257>

РЕЗЮМЕ

Цель. Изучить морфологические изменения фолликулов щитовидной железы после 60-ти суточного воздействия бензоата натрия и моделирования перелома большеберцовых костей. Материал и методы. Девяносто белых крыс были распределены на три группы. Контрольную группу составили животные, которым ежедневно шестьдесят суток вводили физиологический раствор, а затем моделировали перелом большеберцовых костей путём нанесения сквозного циркулярного дефекта. В экспериментальных группах в аналогичных условиях вводили раствор бензоата натрия в дозах 500 или 1000 мг/кг. Изучение гистологического строения щитовидной железы проводили методом световой микроскопии с последующей морфометрией фолликулов. Результаты. В экспериментальных группах выявлены изменения морфологии фолликулов и тироцитов. Определяются фолликулы неправильной формы, пустые или растянутые коллоидом и слущенными тироцитами в просвете. В стенке фолликула преобладают клетки кубической формы, появляются куполообразные клетки с вакуолизированной цитоплазмой. По сравнению с контрольной группой, высота тироцитов увеличивается на 15 сутки на 4,27% в центре органа и с 3 по 24 сутки на 4,66%-3,92% на периферии (доза 500 мг/кг) и с 3 по 24 сутки на 6,68%-5,91% и с 3 по 45 сутки на 6,20%-6,09% соответственно (доза 1000 мг/кг). Просвет-эпителиальный индекс уменьшается на 3 сутки на 7,59% в центре органа и с 3 по 45 сутки на 6,40%-4,13% на периферии (доза 500 мг/кг) и соответственно с 3 по 24 сутки на 9,23%-7,55% и с 3 по 45 сутки на 8,97%-5,38% (доза 1000 мг/кг). Заключение. Выявленные изменения гистологического строения и морфометрических параметров фолликулов дозозависимы, сглаживаются до контрольных значений к 24 суткам при воздействии бензоата натрия в дозе 500 мг/кг, однако, продолжают регистрироваться и на 45 сутки при увеличении вводимой дозы до 1000 мг/кг/сутки.

Ключевые слова: щитовидная железа, фолликулы, бензоат натрия, перелом, большеберцовые кости, гистоморфометрия.

MORPHOLOGICAL CHANGES OF THE THYROID GLAND FOLLICLES IN RATS AFTER A 60-DAY EXPOSURE TO SODIUM BENZOATE AND MODELING OF TIBIAE FRACTURE

Morozov V. N.¹, Luzin V. I.²

¹Belgorod National Research University, Belgorod, Russia

²Saint Luka Lugansk State Medical University, Lugansk, Russia

SUMMARY

Aim. To study the morphological changes of thyroid gland follicles after 60 days of exposure to sodium benzoate and modeling of tibiae fracture. Material and methods. Ninety white male rats were divided into three groups. The control group consisted of animals that were injected with saline solution daily for sixty days, and then a fracture of the tibiae was modeled by applying a defect. In the experimental groups, a solution of sodium benzoate was administered at doses of 500 or 1000 mg/kg under similar conditions. The study of the histological structure of the thyroid gland was performed by light microscopy followed by follicles morphometry. Results. The changes in the morphology of follicles and thyrocytes were revealed in the rats of experimental groups. Irregularly shaped follicles, empty or stretched by colloid with desquamated thyrocytes in lumen are found. Cubic cells predominate in the wall of the follicle, dome-shaped cells with vacuolated cytoplasm appear. The height of thyrocytes, compared with the control group, increases on 15th day by 4.27% in the center of the organ and from 3rd to 24th days by 4.66%-3.92% in the periphery (dose 500 mg/kg) and from 3rd to 24th days by 6.68%-5.91% and from 3rd to 45th days by 6.20%-6.09% respectively (dose 1000 mg/kg). The lumen-epithelial index decreases on 3rd day by 7.59% in the center of the organ and from 3rd to 45th days

by 6,40%-4,13% in the periphery (dose 500 mg/kg) and from 3rd to 24th days by 9,23%-7,55% and from 3rd to 45th days by 8,97%-5,38% respectively (dose 1000 mg/kg). Conclusion. The revealed changes in the histological structure and morphometric parameters of the follicles are dose-dependent, smoothed out to control values up to 24th day when exposed to sodium benzoate at a dose of 500 mg/kg, however still record on the 45th day with an increase in the administered dose to 1000 mg/kg.

Key words: thyroid gland, follicles, sodium benzoate, fracture, tibiae, histomorphometry.

В настоящее время, одним из наиболее широко используемых консервантов в индустрии производства продуктов питания является бензоат натрия, что связано с его высокой эффективностью в отношении снижения активности грибков и бактерий. Кроме пищевой промышленности, этот консервант также находит применение в фармацевтической отрасли как составной компонент косметических средств, средств личной гигиены и оболочек лекарственных препаратов [1]. Остается дискуссионным вопросом о том, является ли бензоат натрия полностью безопасным для здоровья человека, поскольку согласно источникам литературы описаны некоторые его побочные эффекты. Так, по одним данным известно, что бензоат натрия повышает чувствительность организма к сенсибилизирующим агентам и провоцирует приступы астмы, ринитов, а также развитие крапивницы, а по другим – установлено его генотоксическое действие в культуре лимфоцитов крови, повреждающее действие на гепатоциты и нефроциты, что сопровождается повышением в крови ферментов-специфических маркеров этих клеток [2; 3]. Следует также отметить и такие положительные стороны данного вещества как способность усиливать эффект медикаментозного лечения в комбинации с другими препаратами таких заболеваний, как болезнь Альцгеймера, Паркинсона, некоторых форм шизофрении, а также печеночной энцефалопатии, сопровождающейся повышением уровня аммиака в крови [4-7]. Вышеизложенное позволяет сделать заключение, что продолжение изучения механизмов влияния этой пищевой добавки на организм приведет к открытию новых, ещё не установленных его эффектов.

Травмы, как физические факторы, в процессе онтогенеза сопровождают каждого человека, а изучение механизмов адаптации организма в периоде после них является важным с целью оптимизации лечения, ускорения восстановления здоровья человека и его работоспособности. Ключевую роль в регуляции процессов, связанных с восстановлением структуры поврежденных травмой тканей, в том числе и костной, играют железы внутренней секреции, в частности щитовидная железа [8]. В ранние сроки после перелома кости уровень тироксина в плазме крови, в большинстве случаев, снижается, а также угнетается процесс его дейодинации и образование трийодтиронина. Данные гормональные измене-

ния свидетельствуют о том, что тироциты щитовидной железы на травму реагируют снижением функциональной активности, что по данным литературы, связано с необходимостью сокращения энергозатрат организма за счёт снижения активности процессов анаболизма [8]. При этом, к поздним стадиям остеогенеза постепенно увеличивается активность парафолликулярных клеток в отношении синтеза и секреции кальцитонина, стимулирующего выработку остеобластами остеоида и его минерализацию [9].

Если данные о характере изменений морфофункционального состояния тироцитов после травмы кости имеются в литературе, то остаётся полностью не изученным вопрос о том, как предшествующее травме длительное поступление пищевых добавок, в частности бензоата натрия влияет на реакцию данных клеток на действие физического фактора.

Цель исследования – изучить морфологические изменения фолликулов щитовидной железы после 60-ти дневного введения бензоата натрия в различных дозах и моделирования перелома в большеберцовых костях крыс.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Из 90 белых половозрелых крыс-самцов массой 200-210 г. были сформированы 3 группы (Табл. 1).

Содержание и манипуляции над животными проводились в соответствии с правилами содержания экспериментальных животных, установленных Директивой 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза [11]. Протокол исследования утверждён на заседании комиссии по биоэтике ГУ «Луганский государственный медицинский университет им. Святителя Луки», протокол №2 от 25.03.2022 г. Животных умерщвляли при помощи летальной дозы диэтилового эфира на 3, 10, 15, 24 и 45 сутки после 60-ти суточного воздействия бензоата натрия. Для световой микроскопии щитовидная железа обрабатывалась согласно стандартной процедуре гистологической проводки. Срезы окрашивали гематоксилин-эозином, а также по Ван Гизону. Для анализа срезов, получения фотоснимков, замеров структурных компонентов железы применялся аппаратный комплекс, состоящий из персонального компьютера с программным обеспечением «Nis-Elements BR 4.60.00»,

Таблица 1. Распределение лабораторных животных на группы.
Table 1. Distribution of laboratory animals into groups.

Название группы	Воздействие
Группа К+Д (30 особей)	Животные получали внутривенно 1 мл изотонического раствора натрия хлорида ежедневно 60 суток, после чего бором производился сквозной циркулярный дефект на границе проксимального эпифиза и диафиза обеих большеберцовых костей [10].
Группа БН1+Д (30 особей)	В данной группе условия эксперимента соответствуют таковым в группе К+Д, однако вместо физиологического раствора крысы получали эквивалентный объем бензоата натрия в дозе 500 мг/кг массы тела.
Группа БН2+Д (30 особей)	Условия эксперимента аналогичны группе БН1+Д, но доза бензоата натрия увеличена до 1000 мг/кг

микроскопа «Nikon Eclipse Ni» и цифровой камеры «Nikon DS-Fi3» (Nikon Corporation, Japan). Анализировались все срезы, присутствующие на гистологическом препарате. В каждом фолликуле с полостью в сечении, выбранным случайным образом на 10 участках среза измерялся внутренний диаметр (ВДФ), высота тироцитов (ВТ), в центре и на периферии доли щитовидной железы, а затем вычислялся просвет-эпителиальный индекс (ПЭИ) (отношение внутреннего диаметра к высоте тироцитов). В тироците измерялась площадь, занимаемая ядром (ПЯТ) и цитоплазмой (ПЦТ) и высчитывался показатель, характеризующий функциональную активность клетки – ядерно-цитоплазматическое отношение (ЯЦО).

Обработку числовых значений осуществляли при помощи компьютерных программ Statistica 10.0 (StatSoft Inc., USA) и Microsoft Office Excel 2017 (Microsoft, USA). Для оценки типа распределения признаков использовали критерий Шапиро-Уилка. В случаях нормального распределения для сравнения средних величин использовали Т-критерий Стьюдента, а в случаях не нормального – непараметрический U-критерий Манна-Уитни (в таблицах ниже данные приведены в виде $M \pm SE$ и $Me (Q1; Q2)$ соответственно). Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$, при сравнении нескольких групп между собой применяли поправку Бонферрони на множественность сравнений.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В группе БН1+Д на 3, 10 и 15 сутки эксперимента преобладают фолликулы средних и малых размеров, выстланные, преимущественно, однослойным кубическим эпителием (однослойный плоский эпителий или призматические клетки встречаются в единичных фолликулах). После проведения гистоморфометрии установлено, что в данной группе ВТ увеличивается, по сравнению с аналогичным показателем группы К+Д, на 15 сутки на 4,27% ($p=0,048$) в центральной части

щитовидной железы и с 3 по 24 сутки на 4,66% ($p=0,048$), 5,11% ($p=0,027$), 4,52% ($p=0,003$), 3,92% ($p=0,045$) в периферической части. Тироциты имеют разную морфологию. Некоторые из них содержат светлую цитоплазму с темным круглой формы или уплощенным ядром, другие имеют ячеистый вид цитоплазмы с круглым или овальным ядром, встречаются единичные куполообразные клетки в стенке фолликула, а в некоторых полостях фолликулов группами или поодиночке располагаются слушенные эпителиоциты. В коллоиде определяются немногочисленные резорбционные вакуоли разных размеров. Некоторые фолликулы имеют неправильную форму или в них практически полностью отсутствует коллоид. Встречаются мелкие фолликулы, расположенные небольшими группами, значительно растянутые коллоидом. Фолликулы плотно прилегают друг к другу. К 24 суткам эксперимента часто встречаются фолликулы средних, реже крупных размеров, в большинстве случаев, неправильной формы, содержащие следы коллоида. В некоторых из них выявляются клетки кубической или призматической формы, со светлой или вакуолизированной цитоплазмой и куполообразной апикальной поверхностью. В поле зрения определяются фолликулы со следами коллоида, а некоторые из них растянуты эозинофильным коллоидом. Между фолликулами визуализируются щелевидные пространства с капиллярами, заполненными эритроцитами. К 45 суткам увеличивается количество фолликулов с призматическими клетками, в коллоиде появляются резорбционные вакуоли. Встречаются единичные фолликулы с плоскими клетками в центре и на периферии органа. Уменьшается количество фолликулов неправильной формы, а также клеток с измененной цитоплазмой. Из-за увеличения ВТ ПЭИ уменьшается, по сравнению с аналогичным параметром группы К+Д, на 3 сутки на 7,59% ($p=0,03$) в центре органа и с 3 по 45 сутки на 6,40% ($p=0,010$), 7,13%

($p=0,027$), 6,75% ($p=0,014$), 5,27% ($p=0,036$), 4,13% ($p=0,040$) на периферии. ПЦТ увеличивается с 3 по 10 сутки на 4,73% ($p=0,025$) и 3,65% ($p=0,037$) в центральной части железы, а ЯЦО тироцитов уменьшается на 24 сутки на 4,81% ($p=0,010$) в периферической части.

В группе БН2+Д на 3, 10 и 15 сутки эксперимента наблюдается аналогичная тенденция изменений, как и в предыдущей группе, но при этом есть некоторые особенности. Так, выявляются фолликулы с наличием как кубических, так и призматических тироцитов. Причем, они имеют куполообразный апикальный конец и мелкоячеистую цитоплазму. Гистоморфометрическое исследование показало, что ВТ была больше аналогичного параметра группы К+Д с 3 по 24 сутки на 6,68% ($p=0,028$), 6,37% ($p=0,004$), 6,56% ($p=0,009$), 5,91% ($p=0,018$) и с 3 по 45 сутки на 6,20% ($p=0,01$), 6,43% ($p=0,006$), 6,80% ($p=0,001$), 6,09% ($p=0,006$), 3,21% ($p=0,022$) в центре и на периферии железы соответственно. ВДФ уменьшается на 3 сутки на 3,24% ($p=0,040$) и 3,39% ($p=0,046$) в центральной и периферической части органа, а ПЭИ – с 3 по 24 сутки на 9,23% ($p=0,001$), 9,13% ($p=0,013$), 8,85% ($p=0,033$), 7,55% ($p=0,042$), 5,79% ($p=0,05$) в центре и с 3 по 45 сутки на 8,97% ($p=0,002$), 8,99% ($p=0,010$), 9,47% ($p=0,004$), 8,51% ($p=0,007$), 5,38% ($p=0,013$) на периферии щитовидной железы соответственно. Многие фолликулы пустые или частично заполненные коллоидом неоднородной консистенции, а также нередко выявляются случаи наличия в их полости слущенных эпителиоцитов. К 24 суткам в некоторых фолликулах определяются скопления эритроцитов, а между фолликулами выявлен участок, содержащий, кроме тироцитов, лимфоциты. В поле зрения визуализируются фолликулы с однослойным плоским эпителием, при этом преобладают фолликулы средних и крупных размеров (Рис. 1). К 45 суткам выявляются фолликулы с плоским эпителием, заполненные десквамированными клетками, в коллоиде, при этом, появляются резорбционные вакуоли. Фолликулы выстланы, преимущественно, однослойным кубическим эпителием. В поле зрения определяется меньше клеток с изменённой цитоплазмой. При морфометрии установлено, что ПЦТ увеличивается с 3 по 15 сутки на 7,47% ($p=0,002$), 6,99% ($p=0,002$), 6,19% ($p=0,023$) в центре и на 10, 24 сутки на 5,39% ($p=0,042$), 4,54% ($p=0,007$) на периферии, а ЯЦО тироцитов уменьшается с 3 по 24 сутки на 9,47% ($p=0,002$), 9,55% ($p<0,001$), 9,27% ($p=0,007$), 7,58% ($p=0,039$) и на 7,77% ($p=0,017$), 7,98% ($p=0,024$), 7,14% ($p=0,043$), 7,73% ($p=0,003$) соответственно (Табл. 2, Табл.3).

ОБСУЖДЕНИЕ

В более ранней работе было установлено, что использование бензоата натрия в разной концентрации ультрамикроскопически сопровождается дозозависимым снижением функциональной активности тироцитов [12]. Это обусловлено прямым генотоксическим эффектом бензоата натрия и его непрямым действием на синтез лептина. Имеются данные, что введение бензоата натрия сопровождается уменьшением продукции лептина адипоцитами у мышей [1], что вызывает снижение секреции тиреолиберина аркуатным ядром гипоталамуса и соответственно уменьшение синтеза тиреотропного гормона аденогипофизом [13]. Поэтому после прекращения 60-ти суточной интоксикации бензоатом натрия синтез лептина адипоцитами постепенно восстанавливается до нормальных значений, как и уровень тиреолиберина и тиреотропного гормона. Последний, воздействуя на тироциты, которые находятся в гипофункции вызывает их гипертрофию [14]. По данным литературы, в этом случае гипертрофия связана не с увеличением активности тироцитов, а с нарушением клеточного обмена. Ионный обмен между клеткой и окружающей средой может изменяться через нарушение структуры мембраны и энергетических станций клетки. Данный процесс способен приводить к накоплению ионов натрия и, как следствие, молекул воды для поддержания изотонических условий в цитоплазме, что морфологически проявляется в виде набухания клетки (гидропическая или вакуолярная дистрофия) [15]. В настоящем исследовании вторым экспериментальным фактором после 60-ти суточного воздействия бензоата натрия является модель перелома в большеберцовых костях. По данным литературы, механическая травма кости незначительно снижает или не изменяет уровень тиреотропного гормона, что свидетельствует о компенсаторной реакции организма на данный фактор, реализуемым не через гипоталамо-гипофизарно-тиреоидную ось регуляции, а через непосредственное влияние на тироциты [8]. Вышеописанное позволяет объяснить увеличение высоты тироцитов фолликулов, вакуолизацию их цитоплазмы и соответствующее возрастание просвет-эпителиального индекса и уменьшение ядерно-цитоплазматического отношения по результатам гистоморфометрии после воздействия бензоата натрия в ранние сроки эксперимента.

С учётом постепенно увеличивающегося уровня кальцитонина в плазме крови в периоде после моделирования перелома, а также функциональной взаимозависимости С-клеток и тироцитов [16], можно предположить, что уро-

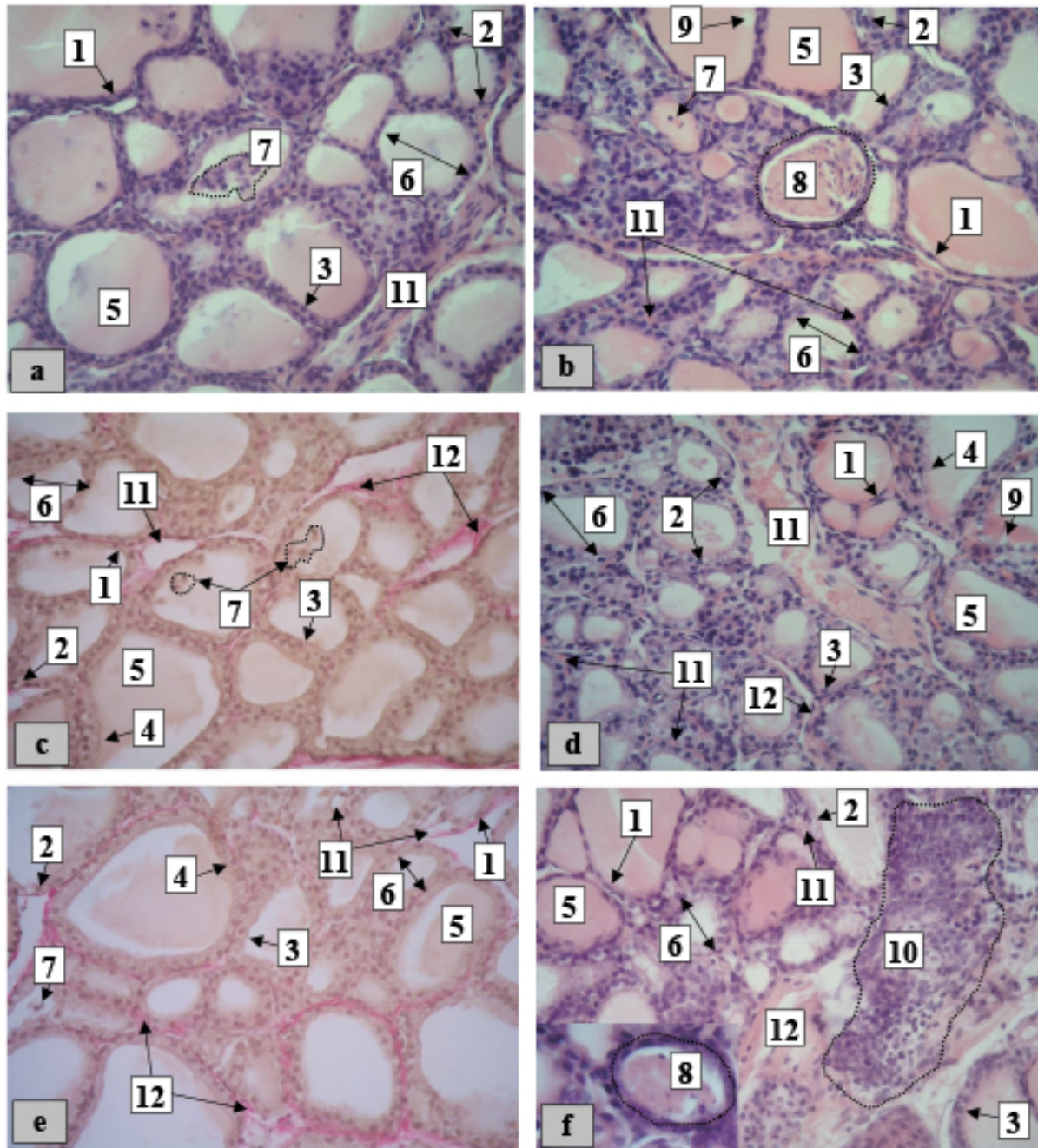


Рис. 1. Структурные особенности щитовидной железы половозрелых крыс (3 сутки эксперимента: а – группа К+Д, с – группа БН1+Д, е – группа БН2+Д; 24 сутки эксперимента: b – группа К+Д, d – группа БН1+Д, f – группа БН2+Д): 1 – тироцит плоской формы, 2 – тироцит со светлой цитоплазмой и тёмно окрашенным ядром, 3 – тироцит кубической формы, 4 – тироцит с куполообразной апикальной частью клетки и вакуолизированной цитоплазмой, 5 – коллоид, 6 – фолликул, 7 – слущенные эпителиальные клетки, 8 – ультимобранхиальное тельце, 9 – резорбционная вакуоль, 10 – участок щитовидной железы, содержащий тироциты и лимфоциты, 11 – сосуд, 12 – прослойки соединительной ткани между фолликулами. Окраска: Гематоксилин-эозин (а, b, d, f), по Ван Гизону (с, е). Увеличение: $\times 200$.

Fig. 1. Structural features of mature rat's thyroid gland of (3rd day of experiment: a – C+D group, c – group SB1+D, e – SB2+D group; 24th day of experiment: b – C+D group, d – SB1+D group, f – SB2+D group): 1 – flattened thyrocyte, 2 – thyrocyte with light cytoplasm and dark-colored nucleus, 3 – cubic thyrocyte, 4 – thyrocyte with dome-shaped apical part of the cell and vacuolated cytoplasm, 5 – colloid, 6 – follicle, 7 – desquamated epithelial cells, 8 – ultimobranchial body, 9 – resorption vacuole, 10 – area of the thyroid gland containing thyrocytes and lymphocytes, 11 – vessel, 12 – connective tissue septae between the follicles. Staining: Hematoxylin-eosin (a, b, d, f), according to Van Gieson (c, e). Magnification: $\times 200$.

Таблица 2. Изменения абсолютных значений показателей фолликулов центральной части щитовидной железы крыс в ходе периода реадaptации ($M \pm SE$ в случаях нормального распределения и $Me (Q1; Q2)$ при получении данных, не подчиненных нормальному закону распределения).

Table 2. Changes in the absolute values of the follicle's parameters of the central part of the rat's thyroid gland during the readaptation period ($M \pm SE$ in cases of normal distribution and $Me (Q1; Q2)$ when receiving data not subject to the normal distribution law).

Срок реадaptации	Внутренний диаметр фолликула, мкм	Высота тироцитов, мкм	Просвет-эпителиальный индекс, у.е.	Площадь ядер тироцитов, мкм ²	Площадь цитоплазмы тироцитов, мкм ²	Ядерно-цитоплазматическое отношение тироцитов, у.е.
Группа К+Д						
3	64,02±0,62	7,27±0,11	8,82±0,07	25,08±0,31	34,38±0,33	0,730±0,010
10	64,02±0,80	7,56±0,09	8,48±0,19	25,15±0,24	34,32±0,35	0,733±0,010
15	63,70±0,96	7,73±0,10	8,25±0,18	25,96±0,46	34,50±0,52	0,753±0,016
24	63,86±0,91	7,87±0,10	8,12±0,16	26,01±0,36	34,44±0,57	0,756±0,013
45	64,96±0,96	8,22±0,08	7,91±0,19	26,24±0,57	34,47±0,53	0,762±0,022
Группа БН1+Д						
3	62,25±0,52	7,65±0,11	8,15±0,13*	24,89±0,37	36,00±0,42*	0,691±0,011
10	62,91±0,69	7,87±0,10	8,00±0,06	35,57±0,30	24,86±0,21*	0,699±0,009
15	62,74±0,98	8,06±0,08*	7,79±0,16	25,52±0,33	35,89±0,55	0,712±0,018
24	63,14±0,70	8,20±0,10	7,71±0,16	25,54±0,35	35,59±0,50	0,718±0,015
45	63,88±0,59	8,48±0,09	7,54±0,10	25,71±0,47	35,61±0,57	0,723±0,021
Группа БН2+Д						
3	61,94±0,42*	7,75±0,12*	8,00±0,14*	24,39±0,29	36,95±0,47*	0,661±0,011*
10	61,93±0,64	8,04±0,07*	7,71±0,12*	24,35±0,17	36,72±0,38*	0,663±0,004*
15	61,86±1,06	8,23±0,10*	7,52±0,18*	25,02±0,24	36,64±0,46*	0,683±0,009*
24	62,50±0,75	8,34±0,11*	7,51±0,16*	25,09±0,33	35,98±0,55	0,698±0,016*
45	63,42±0,78	8,52±0,10	($Me (Q1; Q2)$) 7,50 [7,45; 7,57]	25,49±0,45	35,92±0,47	0,710±0,018

вень тироксина и трийодтиронина постепенно восстанавливается или возрастает. По данным литературы, тироциты способны восстанавливать своё морфофункциональное состояние частично или полностью после отмены действия патологического фактора [16]. В данной работе прекращение длительного введения бензоата натрия крысам приводит к частичному восстановлению до контрольных значений морфометрических параметров фолликулов щитовидной железы к поздним срокам эксперимента, особенно в группе, в которой крысы получали меньшую концентрацию пищевой добавки (500 мг/кг/сутки), а также уменьшению выраженности морфологических изменений фолликулов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Шестидесятисуточное воздействие бензоата натрия до момента моделирования перелома в большеберцовых костях крыс вызывает изменение гистологического строения и морфометрических параметров фолликулов щитовидной железы в периоде реадaptации, что в функциональном плане свидетельствует об гипофункции органа. Выраженность и продолжительность изменений зависит от дозы вводимой пищевой добавки: в группе с введением бензоата натрия в дозе 500 мг/кг амплитуда отклонений изучаемых параметров была меньше и они быстрее приближались к значениям группы сравнения (до 24 суток), а в группе с воздействием бензоата

Таблица 3. Изменения абсолютных значений показателей эпителия фолликулов периферической части щитовидной железы крыс в ходе периода реадaptации ($M \pm SE$ в случаях нормального распределения и $Me (Q1; Q2)$ при получении данных, не подчиненных нормальному закону распределения)

Table 3. Changes in the absolute values of the follicle's parameters of the peripheral part of the rat's thyroid gland during the readaptation period ($M \pm SE$ in cases of normal distribution and $Me (Q1; Q2)$ when receiving data not subject to the normal distribution law)

Срок реадaptации	Внутренний диаметр фолликула, мкм	Высота тироцитов, мкм	Просвет-эпителиальный индекс, у.е.	Площадь ядер тироцитов, мкм ²	Площадь цитоплазмы тироцитов, мкм ²	Ядерно-цитоплазматическое отношение тироцитов, у.е.
Группа К+Д						
3	87,96±0,82	6,26±0,08	14,05±0,12	17,21±0,24	27,04±0,39	0,637±0,013
10	87,83±0,94	6,43±0,08	13,69±0,27	17,31±0,18	27,10±0,40	0,640±0,013
15	88,31±0,89	6,49±0,05	13,61±0,22	17,82±0,32	27,10±0,34	0,658±0,008
24	87,46±0,80	6,59±0,06	13,27±0,18	18,02±0,22	27,18±0,32	0,663±0,007
45	87,49±0,77	6,75±0,04	12,97±0,18	18,23±0,44	27,16±0,35	0,671±0,016
Группа БН1+Д						
3	86,11±0,75	6,55±0,08*	13,15±0,22*	16,94±0,21	27,93±0,30	0,607±0,011
10	85,78±0,97	6,75±0,08*	12,71±0,19*	28,08±0,44	17,09±0,25	0,609±0,012
15	86,12±0,87	6,79±0,05*	12,69±0,06*	17,50±0,22	27,97±0,28	0,626±0,009
24	86,10±0,79	6,85±0,08*	12,57±0,17*	17,70±0,23	28,04±0,27	0,631±0,006*
45	86,07±0,87	6,92±0,06	12,44±0,07*	17,89±0,32	27,61±0,33	0,649±0,018
Группа БН2+Д						
3	84,98±0,76*	6,65±0,08*	12,79±0,24*	16,67±0,24	28,37±0,35	0,588±0,008*
10	85,18±1,04	6,84±0,07*	12,46±0,07*	16,79±0,19	28,56±0,36*	($Me (Q1; Q2)$) 0,592 [0,588; 0,605]*
15	85,37±0,86	6,94±0,08*	12,32±0,21*	17,23±0,28	28,25±0,34	0,611±0,015*
24	84,84±0,84	7,00±0,09*	12,14±0,23*	17,37±0,23	28,41±0,32*	0,612±0,010*
45	85,48±0,92	6,96±0,05*	12,28±0,09*	17,68±0,23	28,35±0,34	0,624±0,012

Примечание: * – достоверное отличие от группы К+Д.

натрия в дозе 1000 мг/кг достоверные изменения параметров регистрировались и на 45 сутки эксперимента.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The author declares no conflict of interest.

ЛИТЕРАТУРА

- Piper J. D., Piper P. W. Benzoate and Sorbate Salts: A Systematic Review of the Potential Hazards of These Invaluable Preservatives and the Expanding Spectrum of Clinical Uses for Sodium Benzoate. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2017;16(5):868–880. doi:10.1111/1541-4337.12284
- Olofinnade A. T., Onaolapo A. Y., Onaolapo O. J., Olowe O. A. The potential toxicity of food-added sodium benzoate in mice is concentration-dependent. *Toxicol Res (Camb)*. 2021;10(3):561–569. doi:10.1093/toxres/tfab024
- Ali M. Y., Hassan G. M., Hassan A. M. S., Mohamed Z. A., Ramadan M. F. In vivo genotoxicity assessment of sunset yellow and sodium benzoate in female rats. *Drug Chem Toxicol*. 2020;43(5):504–513. doi:10.1080/01480545.2018.1510416
- Seetharam J. C., Maiti R., Mishra A., Mishra B. R. Efficacy and safety of add-on sodium benzoate, a D-amino acid oxidase inhibitor, in treatment of schizophrenia: A systematic review and meta-analysis. *Asian J Psychiatr*. 2022;68:102947. doi:10.1016/j.ajp.2021.102947

5. Lin C. H., Chen P. K., Wang S. H., Lane H. Y. Sodium benzoate for the treatment of behavioral and psychological symptoms of dementia (BPSD): A randomized, double-blind, placebo-controlled, 6-week trial. *J Psychopharmacol.* 2019;33(8):1030–1033. doi:10.1177/0269881119849815
6. Angelopoulou E., Paudel Y. N., Piperi C., Mishra A. Neuroprotective potential of cinnamon and its metabolites in Parkinson's disease: Mechanistic insights, limitations, and novel therapeutic opportunities. *J Biochem Mol Toxicol.* 2021;35(4):e22720. doi:10.1002/jbt.22720
7. Misel M. L., Gish R. G., Patton H., Mendler M. Sodium benzoate for treatment of hepatic encephalopathy. *Gastroenterol Hepatol (NY).* 2013;9(4):219–227.
8. Gibson S. C., Hartman D. A., Schenck J. M. The Endocrine Response to Critical Illness: Update and Implications for Emergency Medicine. *Emerg Med Clin N Am.* 2005;23:909–929. doi:10.1016/j.emc.2005.03.015
9. Корж Н. А., Дедух Н. В., Никольченко О. А. Репаративная регенерация кости: современный взгляд на проблему. Стадии регенерации. Ортопедия, травматология и протезирование. 2006;1:77-84.
10. Лузин В. И., Ивченко Д. В., Панкратьев А. А. Методика моделирования костного дефекта у лабораторных животных. Украинський медичний альманах. 2005;8(2):162.
11. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of the European Union on the protection of animals used for scientific purposes, complying with the requirements of the European Economic Area. St. Petersburg; 2012.
12. Морозов В. Н., Морозова Е. Н., Тверской А. В., Заболотная С. В., Тверская А. В. Ультрамикроскопические особенности строения тироцитов щитовидной железы крыс после 60-дневной интоксикации бензоатом натрия. Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. 2022;19(1):162–166. doi:10.19163/1994-9480-2022-19-1-162-166
13. Ramos C. F., Zamoner A. Thyroid hormone and leptin in the testis. *Frontiers in Endocrinology.* 2014;5:198. doi:10.3389/fendo.2014.00198
14. Бильжанова Г. Ж., Чекуров И. В., Вишневская Т. Я. Морфофункциональный профиль щитовидной железы самцов крыс Wistar в рамках экспериментальной модели «Гипотиреоз - стресс». Известия Оренбургского государственного аграрного университета. 2016;2(58):177–180.
15. Elkalawy S. A. M., Abo-Elnour R. K., El Deeb D. F., Yousry M. M. Histological and immunohistochemical study of the effect of experimentally induced hypothyroidism on the thyroid gland and bone of male albino rats. *The Egyptian Journal of Histology.* 2013;36(1):92–102. doi:10.1097/01.EHX.0000424169.63765.ac
16. Махмуров А. М., Юлдашева М. А., Юлдашев А. Ю. Ультраструктура клеток фолликулов щитовидной железы при гипо- и гиперкальциемии. Вестник экстренной медицины. 2019;12(2):55–60.

REFERENCES

1. Piper J. D., Piper P. W. Benzoate and Sorbate Salts: A Systematic Review of the Potential Hazards of These Invaluable Preservatives and the Expanding Spectrum of Clinical Uses for Sodium Benzoate. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety.* 2017;16(5):868–880. doi:10.1111/1541-4337.12284
2. Olofinnade A. T., Onaolapo A. Y., Onaolapo O. J., Olowe O. A. The potential toxicity of food-added sodium benzoate in mice is concentration-dependent. *Toxicol Res (Camb).* 2021;10(3):561–569. doi:10.1093/toxres/tfab024
3. Ali M. Y., Hassan G. M., Hassan A. M. S., Mohamed Z. A., Ramadan M. F. In vivo genotoxicity assessment of sunset yellow and sodium benzoate in female rats. *Drug Chem Toxicol.* 2020;43(5):504–513. doi:10.1080/01480545.2018.1510416
4. Seetharam J. C., Maiti R., Mishra A., Mishra B. R. Efficacy and safety of add-on sodium benzoate, a D-amino acid oxidase inhibitor, in treatment of schizophrenia: A systematic review and meta-analysis. *Asian J Psychiatr.* 2022;68:102947. doi:10.1016/j.ajp.2021.102947
5. Lin C. H., Chen P. K., Wang S. H., Lane H. Y. Sodium benzoate for the treatment of behavioral and psychological symptoms of dementia (BPSD): A randomized, double-blind, placebo-controlled, 6-week trial. *J Psychopharmacol.* 2019;33(8):1030–1033. doi:10.1177/0269881119849815
6. Angelopoulou E., Paudel Y. N., Piperi C., Mishra A. Neuroprotective potential of cinnamon and its metabolites in Parkinson's disease: Mechanistic insights, limitations, and novel therapeutic opportunities. *J Biochem Mol Toxicol.* 2021;35(4):e22720. doi:10.1002/jbt.22720
7. Misel M. L., Gish R. G., Patton H., Mendler M. Sodium benzoate for treatment of hepatic encephalopathy. *Gastroenterol Hepatol (NY).* 2013;9(4):219–227.
8. Gibson S. C., Hartman D. A., Schenck J. M. The Endocrine Response to Critical Illness: Update and Implications for Emergency Medicine. *Emerg Med Clin N Am.* 2005;23:909–929. doi:10.1016/j.emc.2005.03.015
9. Korzh N. A., Dedukh N. V., Nikol'chenko O. A. Reparative bone regeneration: a modern view of the problem. Regeneration stages. Orthopedics, traumatology and prosthetics. 2006;1:77-84. (In Russ.).

10. Luzin V. I., Ivchenko D. V., Pankrat'ev A. A. Method for modeling a bone defect in laboratory animals. *Ukrainian medical almanac*. 2005;8(2):162. (In Russ.).
11. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of the European Union on the protection of animals used for scientific purposes, complying with the requirements of the European Economic Area. St. Petersburg, 2012.
12. Morozov V. N., Morozova E. N., Tverskoi A. V., Zabolotnaia S. V., Tverskaia A. V. Ultramicroscopic features of thyrocytes structure of rat's thyroid gland after 60-days sodium benzoate administration. *Journal of Volgograd State Medical University*. 2022;19(1):162–166. (In Russ.). doi: 10.19163/1994-9480-2022-19-1-162-166
13. Ramos C. F., Zamoner A. Thyroid hormone and leptin in the testis. *Frontiers in Endocrinology*. 2014;5:198. doi:10.3389/fendo.2014.00198
14. Bilzhanova G. ZH., Shekurov I. V., Vishnevskaya T. IA. Morphofunctional profile of the thyroid gland of male Wistar rats in the framework of the experimental model «Hypothyroidism-stress». *Izvestia Orenburg State Agrarian University*. 2016;2(58):177–180. (In Russ.).
15. Elkalawy S. A. M., Abo-Elnour R. K., El Deeb D. F., Yousry M. M. Histological and immunohistochemical study of the effect of experimentally induced hypothyroidism on the thyroid gland and bone of male albino rats. *The Egyptian Journal of Histology*. 2013;36(1):92–102. doi:10.1097/01.EHX.0000424169.63765.ac
16. Mahmurov A. M., YUldasheva M. A., YUldashev A. YU. Ultrastructure of thyroid follicle cells in hypo- and hypercalcemia. *The Bulletin of Emergency Medicine*. 2019;12(2):55–60. (In Russ.).

ИЗМЕНЕНИЯ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКОЙ И АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ПРИ ДЕЙСТВИИ ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ

Харченко В. З., Алиев Л. Л., Скоромная Н. Н.

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

Для переписки: Скоромная Наталья Николаевна, к.м.н., доцент кафедры общей и клинической патофизиологии, Институт «Медицинская академия имени С. И. Георгиевского» ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского», e-mail: skoromnaya_n@mail.ru

For correspondence: Skoromnaya N., PhD, associate professor of the Department of General and Clinical Pathophysiology, Medical Academy named after S.I. Georgievsky of Vernadsky CFU, e-mail: skoromnaya_n@mail.ru

Information about authors:

Kharchenko V. Z., <https://orcid.org/0000-0001-5092-4672>

Aliiev L. L., <https://orcid.org/0000-0001-9401-4398>

Skoromnaya N. N., <https://orcid.org/0000-0001-7524-9415>

РЕЗЮМЕ

Целью проведенного исследования явилось установить динамику показателей в сыворотке крови протеиназ-ингибиторной системы и антиоксидантной защиты при действии на организм крыс однократного тотального воздействия ионизирующего излучения в дозе 6 Гр. Материал и методы. Экспериментальные исследования проведены на белых лабораторных крысах-самцах линии «Вистар» массой 170-200 г. Кровь для исследований получали путём декапитации животных под лёгким эфирным наркозом. Экспериментальное действие ионизирующего излучения осуществляли путём воздействия на животных однократного тотального облучения с использованием гамма-терапевтического аппарата «АГАТ-Р1» (60Co). Результаты. Изучено влияние ионизирующего излучения на состояние протеиназ-ингибиторной системы и антиоксидантную защиту организма. В ходе проведенных исследований было установлено, что активность СОД в сыворотке крови претерпевала существенные изменения в зависимости от временного фактора. В течение всего периода исследований в сыворотке крови животных после воздействия ионизирующего облучения, отмечалась высокая ферментативная активность каталазы и пероксидазы. Существенные изменения были отмечены при изучении активности неспецифических протеиназ. Обсуждение. Полученные данные свидетельствовали о фазной динамике активности неспецифических протеиназ в сыворотке крови крыс, подвергшихся воздействию ионизирующего излучения, с максимальным повышением их активности к 3-м и 7-м суткам исследования. Заключение. Экспериментальное воздействие ионизирующего излучения сопровождается повышением активности внутриклеточных антиоксидантных ферментов, как основного механизма защиты клеток от повреждающего действия свободных радикалов. Динамика изменений показателей протеиназ-ингибиторной системы характеризовалась фазным повышением активности неспецифических протеиназ в сыворотке крови на фоне прогрессивного снижения ингибиторного потенциала.

Ключевые слова: протеолитические ферменты, протеиназ-ингибиторная система, антиоксидантная система, ионизирующее облучение.

CHANGES IN PROTEOLYTIC AND ANTIOXIDANT ACTIVITY IN BLOOD SERUM UNDER INFLUENCE OF IONIZING RADIATION

Kharchenko V. Z., Aliiev L. L., Skoromnaya N. N.

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

SUMMARY

The study aims at investigating the dynamics of parameters of the protease-inhibitory system and antioxidant defensive mechanisms in the blood serum under the influence of a single total exposure of rats to ionizing radiation at a dose of 6 Gy. Material and Methods. The study was carried out on white laboratory male Wistar rats weighing 170-200 g. Blood for research was obtained by decapitation of animals under light ether anesthesia. The experimental effect of ionizing radiation was carried out by exposing animals to a single total irradiation using the gamma-therapeutic device "AGAT-R1" (60Co). Results. The impact of ionizing radiation on the protease-inhibitory system and the antioxidant protective mechanisms was studied. It has been shown that the activity of superoxide dismutase in blood serum significantly changed depending on the time factor. During the entire period of research, high enzymatic activity of catalase and peroxidase was observed in the blood serum after exposure to ionizing radiation. Discussion. The results of investigation revealed the phase dynamics of the activity of nonspecific proteases in the blood serum of rats exposed to ionizing radiation, with a maximal peaks by the 3rd and 7th days of the study. Conclusion: experimental exposure to ionizing radiation is accompanied by an increase of the activity of intracellular antioxidant enzymes, as the main protective

mechanism from the cellular damage caused by free radicals. The dynamics of changes in the parameters of the protease-inhibitory system is characterized by a phase increase of the activity of nonspecific proteases in the blood serum on the background of a progressive decrease of the inhibitory potential.

Key words: proteolytic enzymes, proteinase inhibitor system, antioxidant system, ionizing radiation.

В процессе своей жизнедеятельности человек подвергается воздействию ионизирующего излучения, как от естественных, так и от искусственных (техногенных) источников. Особенностью действия ионизирующего излучения является его способность проникать в биологические ткани, клетки, субклеточные структуры, повреждать их, вызывая ионизацию атомов и молекул за счёт физических взаимодействий и радиационно-химических реакций, протекающих в момент облучения организма. [1; 2]. При этом особое значение приобретает изучение изменений клеточного метаболизма, поскольку радиационное повреждение клеток зависит не только от условий облучения (вид излучения, мощность дозы), но и от метаболических особенностей клеток (интенсивность биохимических реакций, надёжность эндогенных систем энергообеспечения, защиты, репарации и внутриклеточной регуляции) [3].

Воздействие ионизирующего излучения на биологические объекты влечет за собой поглощение его энергии во всех тканях организма с развитием процессов радиолиза воды (гидроксильных радикалов, супероксид-анион-радикалов и перекисных радикалов). Эти ионы являются сильными окислителями, способствуют инициации и появлению свободнорадикальных реакций. Биологический эффект радиационно-индуцированных свободнорадикальных процессов во многом зависят от надёжности антиоксидантной защиты клеток [4; 5].

Известно, что в организме существует динамическое равновесие между системами протеиназ и их ингибиторами, а при патологии оно изменяется в сторону угнетения или активации [6]. Данные о влиянии ионизирующего излучения на состояние системы протеолиза в научной литературе немногочисленны и отражают тенденцию изменений общей протеолитической активности без комплексного подхода к изучению особенностей изменений баланса протеиназ-ингибиторной системы и системы антиоксидантной защиты. В то же время хорошо известно о том, что процессы неспецифического протеолиза являются универсальным механизмом неспецифической альтерации. Активация протеолитических ферментов, обладающих высокой биологической активностью, приводят к локальной деструкции белковых структур в органах и тканях, а также они способны вызвать системные расстройства функций регуляторных плазменных систем [7; 8].

В современных условиях риски техногенных катастроф, в том числе на атомных объектах остаются высокими. В этой связи поиск современных эффективных подходов к коррекции различных форм лучевой патологии остается актуальной задачей, выполнение которой требует глубокого понимания всех аспектов ее патогенеза на молекулярном и клеточном уровнях.

Целью исследования явилось установить динамику показателей в сыворотке крови протеиназ-ингибиторной системы и антиоксидантной защиты при действии на организм крыс однократного тотального воздействия ионизирующего излучения в дозе 6 Гр.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Экспериментальные исследования проведены на 106 белых лабораторных крысах-самцах линии «Вистар» массой 170-200 г. Для проведения экспериментального исследования лабораторные животные были разделены на 2 группы: 1 – контрольная группа животных, находившихся в обычных условиях вивария – 30 особи; 2 – животные, подвергавшиеся однократному тотальному воздействию ионизирующего излучения в дозе 6 Гр с последующей декапитацией через 24 часа, 3, 7, 14 и 30 дней после воздействия, соответственно – 76 особей.

Кровь для исследований получали путём декапитации животных под лёгким эфирным наркозом. Сыворотку крови получали путём её центрифугирования в течение 15 минут при 3000 об/мин.

Экспериментальное действие ионизирующего излучения осуществляли путём воздействия на животных однократного тотального облучения с использованием гамма-терапевтического аппарата «АГАТ-Р1» (60Co) при следующих условиях: очаговая доза 6 Гр, поле 24x24 см, РИК=90 см, глубина=3 см (89,6%), P=1,155 сГр/с, длительность экспозиции 580с. Во время облучения животные находились в изготовленных клетках-фиксаторах из органического стекла с отверстиями для свободного поступления воздуха.

Для оценки состояния окислительно-антиоксидантного гомеостаза определяли активность супероксиддисмутазы (СОД) [9], каталазы (КА) [10], пероксидазы (ПА) [11] с применением спектрофотометрических методов.

Исследование уровня активности эластазоподобных (ЭПА), трипсиноподобных (ТПА) протеиназ и ингибиторов протеиназ (альфа-1

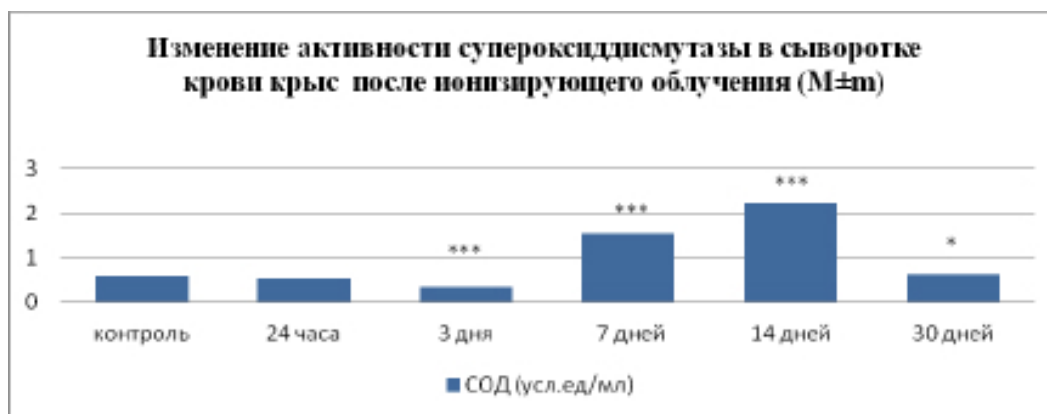
ингибитора протеиназ (α -1ИП) проводились с применением спектрофотометрических методов, основанных на регистрации скорости прироста оптической плотности в ходе ферментативного гидролиза синтетических субстратов [12].

Полученные в процессе исследования данные обрабатывались методом математической статистики с использованием компьютерного пакета обработки данных «STATISTICA-13» для работы в среде Windows.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Известно, что основным механизмом, ограничивающим деструктивное воздействие свободнорадикальных процессов в клетке, является система внутриклеточных антиоксидантных ферментов [13].

В результате проведенных исследований было установлено, что активность СОД в сыворотке крови претерпевала существенные изменения в зависимости от временного фактора (рис.1). В течение первых трёх суток после облучения было зафиксировано снижение активности СОД: спустя 24 часа – на 9,1 % ($p>0,05$), а через 3 дня – на 38,7 % ($p<0,001$) относительно показателей контрольной группы. Спустя 7 дней после действия ионизирующего излучения отмечалось повышение активности СОД на 173,1 % ($p<0,001$) и максимальное увеличение содержания фермента в сыворотке крови было зафиксировано через 14 дней после облучения животных на 298,9 % ($p<0,001$) выше по сравнению с контрольными значениями.



Примечание. Звёздочками показана достоверность различий (p) по отношению к контролю: * - $p<0,05$; ** - $p<0,01$; *** - $p<0,001$.

Рис. 1. Изменение активности супероксиддисмутазы в сыворотке крови крыс после ионизирующего облучения

Fig. 1. Change in the activity of superoxide dismutase in the blood serum of rats after ionizing

На 30 сутки эксперимента было выявлено снижение активности СОД, и её содержание в крови приближалось к контрольным значениям.

В результате проведенного исследования установлено резкое повышение активности каталазы в сыворотке крови крыс через 24 часа после действия ионизирующего облучения и она была на 300,5 % ($p<0,001$) выше контрольных показателей (рис.2).

Через 3 и 7 дней наблюдений после однократного тотального облучения животных активность фермента заметно снижалась, однако она продолжала превышать контрольные значения на 158,5 % ($p<0,001$) и на 146,4 % ($p<0,001$) соответственно. Наиболее выраженная активность каталазы отмечена на 14 день эксперимента, они были на 365,7 % ($p<0,001$) выше показателей контрольной группы. Через 30 дней после воз-

действия ионизирующего облучения каталазная активность заметно снижалась, но сохраняла достоверное превышение контрольных значений на 87,4 % ($p<0,001$).

Изменение активности пероксидазы в сыворотке крови крыс спустя 24 часа после воздействия ионизирующего облучения в дозе 6 Гр характеризовалось незначительным недостоверным снижением (рис.3).

В последующие 3 дня отмечалось нарастающие ферментативной активности, и её показатели превысили контрольные значения на 63,8 % ($p<0,001$). На 7 сутки эксперимента зафиксировано дальнейшее увеличение уровня пероксидазы в сыворотке крови, зарегистрированные показатели были на 195,7 % ($p<0,001$) выше контрольных. На 14 сутки после облучения появилась тенденция к снижению активности пероксидазы, но



Примечание. Звёздочками показана достоверность различий (p) по отношению к контролю: ***- $p < 0,001$

Рис. 2. Изменение активности каталазы в сыворотке крови крыс после ионизирующего облучения
Fig.2. Changes in catalase activity in rat blood serum after ionizing radiation



Примечание. Звёздочками показана достоверность различий (p) по отношению к контролю: ***- $p < 0,001$.

Рис. 3. Изменение активности пероксидазы в сыворотке крови крыс после ионизирующего облучения
Fig. 3. Changes in peroxidase activity in rat blood serum after ionizing radiation

при этом сохранялось достоверное увеличение показателей относительно контрольной группы на 71,8 % ($p < 0,001$). Через 30 дней уровень пероксидазной активности был максимально высоким и превышал контрольные значения на 219,5 % ($p < 0,001$). Существенные изменения были отмечены при изучении трипсиноподобной активности (ТПА) сыворотки крови крыс. Так, через 24 часа после воздействия ионизирующего излучения она увеличивалась на 7,3 % ($p > 0,05$) относительно контрольных значений (рис.4). Наиболее выраженные изменения ТПА наблюдались на третий и седьмой день после облучения, было отмечено достоверное увеличение ТПА активности на 75,7 % ($p < 0,001$) и на 49,8 % ($p < 0,001$) соответственно по сравнению с контрольной группой. Минимальные значения ТПА в сыворотке крови наблюдались на 14 день эксперимента, показатели снижались на 27,5 % ($p < 0,001$) относительно контрольных значений. К 30 суткам

эксперимента, уровень ТПА в сыворотке крови увеличивался и достигал значений контрольной группы, но полученные данные не носили достоверного характера.

В результате исследования, к 24 часу после тотального облучения, установлено повышение эластазоподобной активности (ЭПА) в сыворотке крови опытной группы животных и эта величина была на 25,7 % по сравнению с данными контрольной группы ($p < 0,01$) (рис.5). Максимальное достоверное увеличение показателей ЭПА было зафиксировано на 3 сутки исследования, и эта величина превышала контрольные значения на 26,3 % ($p < 0,05$). На 7 день эксперимента имело место снижение активности ЭПА и её значения приближались к показателям контрольной группы.

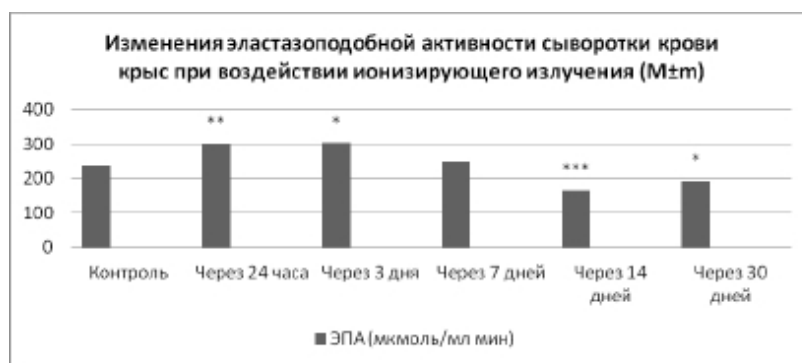
Максимально низкие значения ЭПА были зафиксированы на 14 сутки после облучения животных и были на 31,2 % ($p < 0,001$) ниже относительно группы сравнения. К 30 суткам эксперимента,



Примечание. Звёздочками показана достоверность различий (p) по отношению к контролю: ***- p<0,001

Рис. 4. Изменения трипсиноподобной активности сыворотки крови крыс при воздействии ионизирующего излучения

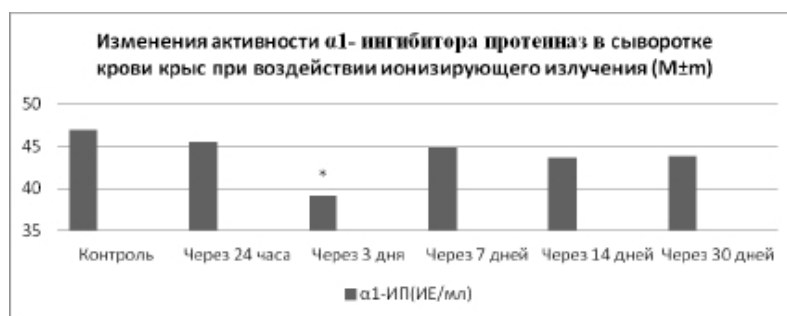
Fig. 4 Change in trypsin-like activity of rat blood serum when exposed to ionizing radiation



Примечание. Звёздочками показана достоверность различий (p) по отношению к контролю: *- p<0,05; **- p<0,01; ***- p<0,001.

Рис. 5. Изменения эластазоподобной активности сыворотки крови крыс при воздействии ионизирующего излучения

Fig. 5. Changes in elastase-like activity of rat blood serum when exposed to ionizing radiation



Примечание. Звёздочками показана достоверность различий (p) по отношению к контролю: *- p<0,05.

Рис. 6. Изменения активности α1-ингибитора протеиназ в сыворотке крови крыс при воздействии ионизирующего излучения

Fig. 6. Changes in the activity of α1-proteinase inhibitor in rat blood serum when exposed to ionizing radiation

отмечалась тенденция к росту активности ЭПА в сыворотке крови, однако значений контрольной группы не достигали. При этом было установлено уменьшение антипротеиназной активности в

опытной группы животных на протяжении всего периода исследования с максимально низкими достоверными значениями через 3 дня после действия ионизирующего излучения (рис.6).

Уровень альфа-1-ингибитора протеиназ (α 1-ИП) снизился на 16,0 % ($p < 0,05$) относительно контрольных значений. Спустя 24 часа после облучения в сыворотке крови отмечалось повышение активности протеолитических ферментов: значительная активация эластазоподобных протеиназ и менее выраженное увеличение трипсиноподобной активности. При этом было зафиксировано снижение уровня активности ингибиторно-протеиназной системы. Наиболее выраженные изменения наблюдались на 3 сутки после действия ионизирующего излучения, что свидетельствовало о снижении ингибиторной активности сыворотки крови и недостаточном сдерживании протеолитических ферментов, что в итоге приводит к развитию деструктивных изменений [14].

ОБСУЖДЕНИЕ

Таким образом, в ходе проведенного исследования было установлено, что активность СОД в начале эксперимента снижалась, затем нарастала с максимальными значениями на 14 день после облучения и к 30 дню приближалась к показателям контрольной группы. Это может свидетельствовать о включении СОД в механизмы антиоксидантной защиты и осуществлении дисмутации супероксидных радикалов. В течение всего периода исследований воздействия ионизирующего облучения отмечалась высокая ферментативная активность каталазы и пероксидазы в сыворотке крови животных. Однако динамика их изменений носила несколько асинхронный характер. Так в первые дни проводимого эксперимента наибольшая активность наблюдалась у каталазы, а активность пероксидазы достигала максимальных значений к 30 дню эксперимента. Полученные данные указывают на то, что после повреждающего воздействия ионизирующего излучения в дозе 6 Гр, активность каталазы повышалась в более ранние сроки после облучения, а пероксидазная интенсивность нарастала постепенно. Это можно объяснить сохраняющимися интенсивными окислительными процессами, протекающими в организме крыс на протяжении всего периода наблюдений. При этом, однократное тотальное воздействие гамма-излучения в дозе 6 Гр не приводило к выраженному истощению внутриклеточных антиоксидантных резервов. Полученные данные свидетельствовали о фазной динамике активности неспецифических протеиназ в сыворотке крови крыс, подвергшихся воздействию ионизирующего излучения, с максимальным повышением их активности к 3-м и 7-м суткам исследования. Активность α ₁-ингибитора протеиназ сыворотки крови имела тенденцию к снижению на всех этапах исследования. При этом

достоверный минимум активности наблюдался также к 3м суткам, что позволяет предположить, что плазменный гиперпротеолиз обусловлен не только развитием биохимической альтерации на системном уровне, но и истощением ингибиторного потенциала.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, экспериментальное воздействие ионизирующего излучения сопровождается повышением активности внутриклеточных антиоксидантных ферментов, как основного механизма защиты клеток от повреждающего действия свободных радикалов. Динамика изменений показателей протеиназ-ингибиторной системы характеризовалась фазным повышением активности неспецифических протеиназ в сыворотке крови на фоне прогрессивного снижения ингибиторного потенциала. Это позволяет сделать вывод о большом значении неспецифического протеолиза в развитии биохимической альтерации при воздействии ионизирующего излучения наряду с активацией свободнорадикальных процессов.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors have no conflicts of interest 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. Дмитриевский И. М., Юров С. С., Кожокару А. Ф. Механизмы действия ионизирующих излучений при возникновении локальных изменений биологических клеточных структур в условиях космического полета. Современные проблемы науки и образования. 2008;5;1-8.
2. Пестовский Ю. С. Биологическое действие ионизирующих излучений. Всероссийский журнал научных публикаций. 2013;5(20);8-11.
3. Бебешко В. Г., Базыка Д. А., Логановский К. Н. Биологические маркеры ионизирующих излучений. Український медичний часопис. 2004;1;85-104.
4. Васин М. В., Ушаков И. Б. Радиомодуляторы как средства биологической защиты от окислительного стресса при воздействии ионизирующей радиации. Успехи современной биологии. 2020;140(1); 3-18. doi:10.1134/s2079086420040106.
5. Чуюн Е. Н., Тимурьянц Н. А. Нейроиммуноэндокринные механизмы действия низкоин-

тенсивного электромагнитного излучения крайне высокой частоты (часть 2). Миллиметровые волны в биологии и медицине. 2005;3(39);17-31.

6. Харченко В. З., Кубышкин А. В., Фомочкина И. И., Алиев Л. Л., Харченко С. В. Молекулярные механизмы развития экстремальных состояний и их коррекция. Симферополь: Доля; 2011.

7. Яровая Г. А. Биорегулирующие функции и патогенетическая роль протеолиза. Лабораторная медицина. 2005;7;81-89.

8. Schmaier A. H. The contact activation and kallikrein/kinin systems: pathophysiologic and physiologic activities. *J Thromb Haemost.* 2016;1;28-39. doi:10.1111/jth.13194.

9. Дубинина Е. Е., Сальникова Л. А., Ефимова Л. Ф. Активность и изоферментный спектр супероксиддисмутазы эритроцитов и плазмы крови человека. Лабораторное дело. 1983;10;30-33.

10. Королюк М. А., Иванова Л. И., Майорова И. Б. Метод определения активности каталазы. Лабораторное дело. 1988;1;16-19.

11. Попов Т., Нейковская Л. Метод определения пероксидазной активности крови. Гигиена и санитария. 1971;10;89-91.

12. Кубышкин А. В., Харченко В. З., Семенов П. Ф., Алиев Л. Л., Фомочкина И. И. Методы определения активности неспецифических протеиназ и их ингибиторов в сыворотке крови и биологических жидкостях. Киев; 2010.

13. Чиркин А. А., Балаева-Тихомирова О. М. Молекулярно-структурная гомология протеолитических ферментов. Чебоксары: Издательский дом «Среда»; 2022. doi:10.31483/a-10363.

REFERENCES

1. Dmitrievsky I. M., Yurov S. S., Kozhokaru A. F. Mechanisms of action of ionizing radiation in the occurrence of local changes in biological cellular structures under space flight conditions. *Modern problems of science and education.* 2008;5;1-8. (In Russ.).

2. Pestovsky Yu. S. Biological effect of ionizing radiation. *All-Russian Journal of Scientific Publications.* 2013;5(20);8-11. (In Russ.).

3. Bebeshko V. G., Bazyka D. A., Loganovsky K. N. Biological markers of ionizing radiation. *Ukrainian medical chapel.* 2004;1;85-104.

4. Vasin M. V., Ushakov I. B. Radio modulators as a means of biological protection against oxidative stress when exposed to ionizing radiation. *Advances in modern biology.* 2020;140(1);3-18. (In Russ.). doi: 10.1134/s2079086420040106.

5. Chuyan E. N., Timuryants N. A. Neuroimmunoendocrine mechanisms of action of low-intensity electromagnetic radiation of extremely high frequency (part 2). *Millimeter waves in biology and medicine.* 2005;3(39);17-31. (In Russ.).

6. Kharchenko V. Z., Kubyshkin A. V., Fomochkina I. I., Aliev L. L., Kharchenko S. V. Molecular mechanisms of the development of extreme states and their correction. *Simferopol: Dolya;* 2011. (In Russ.).

7. Yarovaya G. A. Bioregulatory functions and the pathogenetic role of proteolysis. *Laboratory medicine.* 2005;7;81-89. (In Russ.).

8. Schmaier A. H. The contact activation and kallikrein/kinin systems: pathophysiologic and physiologic activities. *J Thromb Haemost.* 2016;1;28-39. doi:10.1111/jth.13194.

9. Dubinina E. E., Salnikova L. A., Efimova L. F. Activity and isoenzyme spectrum of superoxide dismutase in human erythrocytes and blood plasma. *Laboratory work.* 1983;10;30-33. (In Russ.).

10. Korolyuk M. A., Ivanova L. I., Mayorova I. B. Method for determining catalase activity. *Laboratory work.* 1988;1;16-19. (In Russ.).

11. Popov T., Neykovskaya L. Method for determining blood peroxidase activity. *Hygiene and sanitation.* 1971;10;89-91. (In Russ.).

12. Kubyshkin A. V., Kharchenko V. Z., Semenets P. F., Aliev L. L., Fomochkina I. I. Methods for determining the activity of nonspecific proteinases and their inhibitors in blood serum and biological fluids. *Kyiv;* 2010.

13. Chirkin A. A., Balaeva-Tikhomirova O. M. Molecular structural homology of proteolytic enzymes. *Cheboksary, Sreda Publishing House,* 2022. (In Russ.). doi:10.31483/a-10363.

УДК 612.115.2

DOI: 10.29039/2224-6444-2023-13-3-51-58

ОСОБЕННОСТИ ОСНОВНЫХ ПАРАМЕТРОВ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА, ЛИПИДНОГО ОБМЕНА, УРОВНЯ ГОМОЦИСТЕИНА И ВЕГЕТАТИВНОГО ОБЕСПЕЧЕНИЯ СЕРДЕЧНОГО РИТМА У ДЕВУШЕК РАЗНЫХ ЭТНИЧЕСКИХ ГРУПП СЕВЕРО-КАВКАЗСКОГО РЕГИОНА

Цатурян Л. Д.¹, Товмасын В. Э.², Карабекян Е. О.¹, Табунщикова М. О.¹

¹ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный медицинский университет», 355017, ул. Мира, 310, Ставрополь, Россия

²ГБУЗ СК «Ставропольская краевая клиническая больница», 355030, ул. Семашко, 1, Ставрополь, Россия

Для корреспонденции: Товмасын Вардан Эрикович, врач сердечно-сосудистый хирург, ГБУЗ СК «Ставропольская краевая клиническая больница», e-mail: erik170966@mail.ru

For correspondence: Tovmasyan Vardan Erikovich, cardiovascular surgeon, Stavropol Regional Clinical Hospital, e-mail: erik170966@mail.ru

Information about authors:

Tsaturyan L. D., <https://orcid.org/0000-0001-7792-244X>

Tovmasyan V. E., <https://orcid.org/0009-0007-2572-6536>

Karabekyan E. O., <https://orcid.org/0009-0002-8277-8408>

Tabunshchikova M. O., <https://orcid.org/0000-0001-7221-038X>

РЕЗЮМЕ

Ранняя диагностика нарушений обмена липидов и гомоцистеина, функциональной активности вегетативной нервной системы, а также состояния системы гемостаза необходима для поддержания здоровья студентов учреждений высшего образования, что является ключевым компонентом благосостояния общества. Цель. Изучить особенности вегетативного обеспечения сердечного ритма с учетом показателя активности регуляторных систем, основные параметры липидного обмена, уровень гомоцистеина и показатели системы гемостаза у девушек разных национальностей, проживающих в условиях Северо-Кавказского региона. Материал и методы. На программно-аппаратном комплексе Варикард 2.5 проведен анализ variability сердечного ритма у 155 девушек разных национальностей, проживающих в условиях Северо-Кавказского региона. Оценивались параметры липидного обмена, гомоцистеина и системы гемостаза у 60 девушек разных языковых семей. Анализ липидного статуса проводился фотоколориметрическим методом на биохимическом анализаторе, оценка показателей системы гемостаза – клоттинговым методом на автоматическом коагулометрическом анализаторе. Уровень гомоцистеина определялся методом хемилюминесцентного иммуноанализа на микропланшетном приборе. Статистическая обработка полученных данных выполнялась с использованием программы StatPlus версии 8.0. Результаты и обсуждение. Среди девушек Северо-Кавказской языковой семьи отмечалась активация спектральных волн VLF и ULF при выполнении нагрузочной пробы, а также увеличение АМо. В этой же группе девушек с учетом комплексного показателя ПАРС в ортоположении установлено более выраженное напряжение регуляторных систем. В группе девушек Северо-Кавказской языковой семьи достоверно выше оказались ЛПНП, КА и гомоцистеин, а уровень ЛПВП и ОХ достоверно выше в группе девушек Индо-Европейской языковой семьи. В группе девушек Северо-Кавказской языковой семьи оказались достоверно меньше ПТВ ($p < 0,001$) и АЧТВ ($p < 0,05$) и большей MPV. Тогда как в группе Индо-Европейской языковой семьи достоверно больше АТЗ ($p < 0,05$). Выводы. В группе девушек Северо-Кавказской языковой семьи отмечается преобладающее влияние симпатического контура вегетативной регуляции на сердечный ритм, а также выраженное напряжение регуляторных механизмов. Показатели липидного обмена и уровень гомоцистеина находились в пределах референсных значений в группе девушек Индо-Европейской языковой семьи. Однако среди девушек Северо-Кавказской языковой семьи у 14% уровень ЛПНП оказался выше нормы и у 11% студенток наблюдалась гипергомоцистеинемия. Анализ основных показателей коагулограммы показал более высокую склонность к гиперкоагуляции у девушек Северо-Кавказской языковой семьи.

Ключевые слова: variability сердечного ритма, липидограмма, гомоцистеин, гемостазиограмма, этнос.

FEATURES OF THE MAIN PARAMETERS OF THE HEMOSTASIS SYSTEM, LIPID METABOLISM, HOMOCYSTEINE LEVEL AND VEGETATIVE HEART RATE CONTROL IN GIRLS OF DIFFERENT ETHNIC GROUPS OF THE NORTH CAUCASUS REGION

Tsaturyan L. D.¹, Tovmasyan V. E.², Karabekyan E. O.¹, Tabunshchikova M. O.¹

¹Stavropol State Medical University», Stavropol, Russia

²Stavropol Regional Clinical Hospital, Stavropol, Russia

SUMMARY

Early diagnosis of the functional activity of the autonomic nervous system, lipid and homocysteine metabolism disorders, as well as the state of the hemostasis system is necessary to maintain the health of students of higher

education institutions, which is a key component of the well-being of society. The aim to study the features of vegetative heart rate maintenance taking into account the activity index of regulatory systems, the main parameters of lipid metabolism, the level of homocysteine and indicators of the hemostasis system in girls of different nationalities living in the conditions of the North Caucasus region. Material and methods. The analysis of heart rate variability in 155 girls of different nationalities living in the conditions of the North Caucasus region was carried out on the Varikard 2.5 software and hardware complex. Parameters of lipid metabolism, homocysteine and hemostasis system were evaluated in 60 girls of different language families. The analysis of the lipid status was carried out by the photocolometric method on a biochemical analyzer, the assessment of the indicators of the hemostasis system was carried out by the clotting method on an automatic coagulometric analyzer. The homocysteine level was determined by chemiluminescent immunoassay on a microplate device. Statistical processing of the received data was performed using the StatPlus program version 8.0. Results and discussion. Among the girls of the North Caucasian language family, activation of VLF and ULF spectral waves was noted during the exercise test, as well as an increase in AMo. In the same group of girls, taking into account the complex PARS indicator, a more pronounced tension of regulatory systems was found in the ortho position. LDL, CA and homocysteine were significantly higher in the group of girls of the North Caucasian language family, and the level of HDL and OH was significantly higher in the group of girls of the Indo-European language family. In the group of girls of the North Caucasian language family, there were significantly less PTV ($p < 0.001$) and APTV ($p < 0.05$) and greater MPV. Whereas in the group of the Indo-European language family there is significantly more AT3 ($p < 0.05$). Conclusions. In the group of girls of the North Caucasian language family, there is a predominant influence of the sympathetic circuit of vegetative regulation on the heart rate, as well as a pronounced tension of regulatory mechanisms. Lipid metabolism and homocysteine levels were within the reference values in the group of girls of the Indo-European language family. However, among the girls of the North Caucasian language family, 14% of LDL was higher than normal and 11% of students had hyperhomocysteinemia. Analysis of the main indicators of the coagulogram showed a higher tendency to hypercoagulation in girls of the North Caucasian language family.

Key words: heart rate variability, lipidogram, homocysteine, hemostasiogram, ethnicity.

Смена перспектив и ориентиров в обществе отразилась на различных сторонах жизни населения, а также уровнях заболеваемости, рождаемости и смертности. Вместе с тем, здоровье человека формируется в результате сложного взаимодействия наследственно-конституциональных особенностей организма с природой и обществом, при этом имеет место географическая и этническая вариабельность нормы и патологии [1-4].

Народы не свободны от своего этнокультурного прошлого, которое играет важную роль в индивидуальной жизни каждого человека, а современная научная медицина как действенная система поддержания здоровья нации не должна это игнорировать [5; 6].

Анализ вариации частоты сердечных сокращений является известным неинвазивным методом оценки функциональной активности вегетативной нервной системы. Смещение вариабельности сердечного ритма (ВСР) в сторону превалирования активности симпатического отдела, является одной из основных причин смертности среди взрослого населения. ВСР помогает определить риск развития сердечных заболеваний и состояние вегетативной нервной системы [7-11], кроме того, более высокая активность блуждающего нерва считается кардиозащитной и связана с общим улучшением самочувствия и долголетием [12]. Общеизвестно, что нарушения обмена липидов и гомоцистеина вносят существенный вклад в развитие атеросклероза сосудов, а также влияют на физиологию эндотелия. Так, гомоцистеин индуцирует накопление активных форм кислорода и катализирует окислительный стресс, который

усиливает окисление липопротеинов низкой плотности (ЛПНП), способствуя развитию атеросклероза [13-16].

Несмотря на десятилетия совершенствования диагностики и лечения сердечно-сосудистых заболеваний, венозная тромбоэмболия остается важной причиной смертности [17], а тромбогенность в артериальном русле тесно связана с клиническими проявлениями атеротромботических событий [18; 19].

Цель исследования – изучить особенности вегетативного обеспечения сердечного ритма с учетом показателя активности регуляторных систем, основные параметры липидного обмена, уровень гомоцистеина и показатели системы гемостаза у девушек разных национальностей, проживающих в условиях Северо-Кавказского региона.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Нами проведено анкетирование девушек-студенток Ставропольского государственного медицинского университета для определения этнической принадлежности. В обследование включались только те девушки, которые имели в двух поколениях родителей одной национальности и проживали на одной территории как минимум два поколения. На основе полученной в ходе анкетирования информации нами отобрано 155 студенток. С учетом принадлежности к этнической языковой семье девушки разделены на две группы: I группа представлена 84 девушками Индо-Европейской языковой семьи (русские, гречанки, армянки), а II группа – 71 девушкой Северо-Кавказской языковой семьи (чеченки, ингушки, аварки, даргинки).

На программно-аппаратном комплексе Вэрикард 2.5 проведен анализ сердечного ритма, включающий изучение основных показателей спектрального анализа (HF, мс²; LF, мс²; VLF, мс²; ULF, мс²), вариационной пульсометрии (Мо, мс; АМо, %; МхDMn, мс.; SI, усл. ед.) и показателя активности регуляторных систем (ПАРС, усл. баллы). В ходе исследования проводилась клинико-ортогностическая проба.

Следующим этапом изучали параметры липидного обмена, уровня гомоцистеина и системы гемостаза. Взятие биологического материала производилось в утренние часы в соответствии с Правилами лабораторной практики в Российской Федерации (приказ МЗ РФ от 19.06.2003 № 267) и положительным заключением локального этического комитета Ставропольского государственного медицинского университета. Объектом исследования служила цельная кровь. До начала процедуры всем обследуемым разъяснена цель и методика проведения данного исследования, получено добровольное информированное согласие. На этом этапе исследования из 155 девушек нами отобрано 60: 31 девушка Индо-Европейской языковой семьи и 29 девушек Северо-Кавказской языковой семьи. Оценка липидного статуса проводилась фотоколориметрическим методом на биохимическом анализаторе «Advia 1800» (Siemens Healthcare Diagnostics Inc., США) с использованием реагентов «Advia chemistry» для определения липопротеидов высокой плотности (ЛПВП, ммоль/л), липопротеидов низкой плотности (ЛПНП, ммоль/л) и «Randox» для определения общего холестерина (ОХ, ммоль/л), триглицеридов (ТГ, ммоль/л). По формуле А. Н. Климова вычисляли коэффициент атерогенности: $КА = (ОХ - ЛПВП) / ЛПНП$. (КА, усл. ед.) [20]. Оценка уровня гомоцистеина (мкмоль/л) выполнялась методом хемилюминесцентного иммуноанализа на микропланшетном приборе «Benchmark» (Roche Diagnostics GmbH, Германия) с использованием реагентов «Axis-Shield».

Анализ показателей коагулограммы осуществлялся клоттинговым методом на автоматическом коагулометрическом анализаторе «ACL TOP» (Instrumentation Laboratory Co., США) с использованием реактивов «HemosIL» для определения протромбинового индекса (ПТИ, %), протромбина по Квику (ПпК, %), протромбинового времени (ПТВ, сек), активированного частичного тромбoplastинового времени (АЧТВ, сек), Антитромбина III (АТЗ, %), тромбинового времени (ТВ, сек). Оценка общего количества тромбоцитов (PLT, 10⁹/л) и среднего объема тромбоцитов (MPV, fl) выполнялась на гематологическом автоматическом анализаторе «Medonic M-series» (Boule Medical AB, Швеция) с использованием

набора реагентов «Лизирующий раствор Medonic M-series с меткой RFID».

С применением программы StatPlus версии 8.0 выполнена статистическая обработка полученных данных. Сравнение количественных показателей в двух независимых выборках проводилась с использованием критерия Манна-Уитни (U-критерий). Результаты полученных данных описаны в виде медианы (Me) и межквартильного размаха (Q1-Q3), достоверный уровень значимости считался при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Особенности изучаемых показателей ВСР отражены в таблице 1.

При анализе основных показателей сердечного ритма в группе девушек Северо-Кавказской языковой семьи установлено увеличение АМо ($p < 0,05$), что свидетельствует об активации симпатических влияний вегетативной нервной системы на сердечный ритм. Также для девушек Северо-Кавказской языковой семьи характерно более выраженное влияние центрального контура регуляции на сердечный ритм и активация гипоталамо-гипофизарной системы, связанная с активацией спектральных волн VLF и ULF при выполнении нагрузочной пробы. В этой же группе девушек с учетом комплексного показателя ПАРС в ортоположении установлено более выраженное напряжение регуляторных систем.

С учетом поставленной цели нами проведено сравнение показателей обмена липидов и уровня гомоцистеина среди девушек разных этнических групп (табл. 2).

Среди представительниц Северо-Кавказской языковой семьи достоверно выше оказались ЛПНП ($p < 0,05$) и КА ($p < 0,05$), а также уровень гомоцистеина ($p < 0,001$). При этом, ЛПВП ($p < 0,001$) и ОХ ($p < 0,05$) достоверно выше в группе девушек Индо-Европейской языковой семьи. Изучаемые показатели обмена липидов и гомоцистеина находились в пределах референсных значений в группе студенток Индо-Европейской языковой семьи. Тем не менее, у 14% девушек Северо-Кавказской языковой семьи уровень ЛПНП установлен выше нормы и у 11% наблюдалась гипергомоцистеинемия.

Нами проведен анализ основных показателей системы гемостаза в изучаемых группах девушек (табл. 3).

В группе девушек Северо-Кавказской языковой семьи оказались достоверно меньше ПТВ ($p < 0,001$) и АЧТВ ($p < 0,05$). Показатели ПТВ и АЧТВ определяют время, затрачиваемое на формирование сгустка. ПТВ характеризует внешний путь свертывания крови, а АЧТВ –

**Таблица 1. Параметры вариабельности сердечного ритма у девушек разных этнических групп.
Table 1. Parameters of heart rate variability in girls of different ethnic groups.**

Параметр Parameter	Индо-Европейская языковая семья Indo-European language family, Me (Q1-Q3) (n=84)	Северо-Кавказская языковая семья North-Caucasian language family, Me (Q1-Q3) (n=71)	Уровень значимости Significance value (p)
Мо, мс (клиноположение)	778 (727,2-878,7)	767 (699-814)	p>0,05
Мо, мс (ортоположение)	608 (564-654)	606 (561-665)	p>0,05
АМо, % (клиноположение)	37,4 (35,3-40,6)	38,1 (35,9-41,9)	p>0,05
АМо, % (ортоположение)	40,2 (37,9-42,2)	43,2 (40,3-44,8)	p<0,05*
МхDMn, мс (клиноположение)	273 (207-343)	260 (205-319,9)	p>0,05
МхDMn, мс (ортоположение)	209 (156-244)	198 (168,2-253,2)	p>0,05
SI, усл. ед. (клиноположение)	95,7 (52,7-160,5)	101,3 (54,4-201,8)	p>0,05
SI, усл. ед. (ортоположение)	212,7 (132,5-421,6)	222,7 (145,5-347,1)	p>0,05
HF, мс ² (клиноположение)	878,9 (424,6-1 809,1)	779,5 (470,5-2167,1)	p>0,05
HF, мс ² (ортоположение)	250,3 (138,9-428,4)	249,6 (127,8-410,7)	p>0,05
LF, мс ² (клиноположение)	640,1 (424,9-1050,8)	659,3 (497,1-869,3)	p>0,05
LF, мс ² (ортоположение)	558,5 (353,9-1 228,1)	614,9 (444,2-1 131,5)	p>0,05
VLF, мс ² (клиноположение)	204,1 (128,4-374,3)	271,6 (200,1-415,5)	p>0,05
VLF, мс ² (ортоположение)	274,2 (180,1-498,7)	317,8 (199,5-516,1)	p<0,05*
ULF, мс ² (клиноположение)	114,4 (78,5-192,6)	166,2 (89,3-240,5)	p>0,05
ULF, мс ² (ортоположение)	178,1 (119,7-420,8)	237,7 (136,3-386,6)	p<0,05*
ПАРС, усл.балл (клиноположение)	4 (3-4,5)	4 (2,5-5)	p>0,05
ПАРС, усл.балл (ортоположение)	5,5 (5-6)	6 (5,5-7)	p<0,05*

Примечание: * – достоверные различия (p<0,05) при сравнении Индо-Европейской языковой семьи с Северо-Кавказской языковой семьей.

Note: * – significant differences (p<0.05) when comparing the Indo-European language family with the North Caucasian language family.

внутренний путь. Таким образом в группе девушек Северо-Кавказской языковой семьи меньше времени затрачивается на формирова-

ние сгустка и соответственно выше активность внешнего и внутреннего пути коагуляционного звена гемостаза.

MPV рассматривается как маркер активности тромбоцитов, а увеличение MPV коррелирует с повышенным риском тромбообразования [21]. Так, среди девушек Северо-Кавказской языковой

Таблица 2. Показатели липидного обмена и количества гомоцистеина.
Table 2. Lipid metabolism and homocysteine counts.

Показатель Parameter	Индо-Европейская языковая семья Indo-European language family, Me (Q1-Q3) (n=31)	Северо-Кавказская языковая семья North Caucasian language family, Me (Q1- Q3) (n=29)	Уровень значимости Significance value (p)
Гомоцистеин, мкмоль/л	6,03 (5,20-8,95)	7,4 (6,48-10,21)	p<0,05*
Коэффициент атерогенности (КА), усл. ед.	1,67 (1,44-1,73)	1,85 (1,70-1,99)	p<0,05*
ЛПВП, ммоль/л	1,6 (1,55-1,77)	1,08 (1,03-1,11)	p<0,001**
ЛПНП, ммоль/л	2,08 (1,77-2,16)	2,85 (1,82-3,05)	p<0,05*
ТГ, ммоль/л	0,64 (0,53-0,89)	0,65 (0,59-1,02)	p>0,05
Общий холестерин (ОХ), ммоль/л	4,3 (4,21-4,37)	3,1 (2,92-3,19)	p<0,001**

Примечание: * – достоверные различия (p<0,05) при сравнении Индо-Европейской языковой семьи с Северо-Кавказской языковой семьей.

Note: * – significant differences (p<0.05) when comparing the Indo-European language family with the North Caucasian language family.

Таблица 3. Показатели системы гемостаза у девушек разных этнических групп.
Table 3. Indicators of the hemostasis system in girls of different ethnic groups.

Показатель Parameter	Индо-Европейская языковая семья Indo-European language family, Me (Q1-Q3) (n=31)	Северо-Кавказская языковая семья North Caucasian language family, Me (Q1- Q3) (n=29)	Уровень значимости Significance value (p)
PLT, 109/l	280 (275-334)	284 (269-332)	p>0,05
MPV, fl	8,1 (7,9-8,6)	8,9 (8,7-9,2)	p<0,05*
ПТИ, %	97 (95-98)	98 (97-99)	p>0,05
ПпК, %	89 (88-90,7)	90 (86,25-92,75)	p>0,05
ПТВ, сек	11,8 (11,6-12)	11,3 (11,1-11,4)	p<0,001**
АЧТВ, сек	31,2 (30,5-31,9)	30,1 (27,4-31,5)	p<0,05*
ТВ, сек	14 (13-15)	14 (13-15)	p>0,05
АТЗ, %	101 (100-102)	94 (92-108)	p<0,05*

Примечание: * – достоверные различия (p<0,05) при сравнении Индо-Европейской языковой семьи с Северо-Кавказской языковой семьей.

Note: * – significant differences (p<0.05) when comparing the Indo-European language family with the North Caucasian language family.

семьи достоверно больше оказался показатель MPV и соответственно выше активность сосудисто-тромбоцитарного звена гемостаза. При этом

количество тромбоцитов в группе Индо-Европейской языковой семьи находилось в пределах нормальных значений, а в группе Северо-Кавказской

языковой семьи у 11% студенток наблюдался относительный тромбоцитоз. Тогда как в группе Индо-Европейской языковой семьи достоверно больше АТЗ ($p < 0,05$) и соответственно выше активность противосвертывающей системы крови. Основываясь на полученных данных, предполагаем более высокий риск развития тромботических событий в группе девушек Северо-Кавказской языковой семьи.

ВЫВОДЫ

1. В группе девушек Северо-Кавказской языковой семьи отмечается достоверно высокая активность VLF и ULF волн и преобладание АМО, что иллюстрирует выраженное влияние симпатического контура вегетативной регуляции и активацию гуморально-метаболических механизмов на сердечный ритм, а также выраженное напряжение регуляторных механизмов.

2. По результатам анализа липидограмм и уровня гомоцистеина в группе девушек Северо-Кавказской языковой семьи достоверно выше уровень ЛПНП ($p < 0,05$) и КА ($p < 0,05$), а также гомоцистеина ($p < 0,001$). Однако, в Индо-Европейской группе девушек достоверно выше ЛПВП ($p < 0,001$) и ОХ ($p < 0,05$). В группе Индо-Европейской языковой семьи показатели липидного обмена и уровень гомоцистеина находились в пределах референсных значений. У 14% девушек Северо-Кавказской языковой семьи установлено повышение уровня ЛПНП выше нормы и у 11% гипергомоцистеинемия.

3. В Северо-Кавказской языковой семье девушек более выражена активность коагуляционного и сосудисто-тромбоцитарного звеньев свертывающей системы гемостаза. А в группе девушек Индо-Европейской языковой семьи выше активность противосвертывающей системы крови.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

ЛИТЕРАТУРА

1. Агаджанян Н. А., Цатурян Л. Д. Этническая физиология: экология, адаптация, здоровье: монография. Ставрополь: Ставропольский государственный университет; 2011.
2. Farrace S., Cenni P., Tuozzi G., Casagrande M., Barbarito B., Peri A. Endocrine and psychophysiological aspects of human adaptation to the extreme. *Physiol Behav.* 1999 Jun;66(4):613-20. doi:10.1016/s0031-9384(98)00341-2.
3. Gonzalez Castro L. N., Monsen C. B., Smith M. A. The binding of learning to action in motor adaptation. *PLoS Comput Biol.* 2011;7(6): e1002052. doi:10.1371/journal.pcbi.1002052.

4. Quinn M. T., Parthasarathy S., Steinberg D. Endothelial cell-derived chemotactic activity for mouse peritoneal macrophages and the effects of modified forms of low density lipoprotein. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1985 Sep;82(17):5949-5953. doi:10.1073/pnas.82.17.5949.

5. Агаджанян Н. А., Коновалова Г. М., Ожева Р. Ш. Этнос, здоровье и проблемы адаптации. *Новые технологии.* 2010;3:93-97.

6. Tempe D. K., Dhir A. Ethnicity and Health Care. *J Cardiothorac Vasc Anesth.* 2019 Feb;33(2):394-395. doi:10.1053/j.jvca.2018.04.021.

7. Tiwari R., Kumar R., Malik S., Raj T., Kumar P. Analysis of Heart Rate Variability and Implication of Different Factors on Heart Rate Variability. *Curr Cardiol Rev.* 2021;17(5):e160721189770.

8. Bilchick K. C., Berger R. D. Heart rate variability. *J Cardiovasc Electrophysiol.* 2006 Jun;17(6):691-694. doi:10.1111/j.1540-8167.2006.00501.x.

9. Lahiri M. K., Kannankeril P. J., Goldberger J. J. Assessment of autonomic function in cardiovascular disease: physiological basis and prognostic implications. *J Am Coll Cardiol.* 2008 May 6;51(18):1725-1733. doi: 10.1016/j.jacc.2008.01.038.

10. Thayer J. F., Yamamoto S. S., Brosschot J. F. The relationship of autonomic imbalance, heart rate variability and cardiovascular disease risk factors. *Int J Cardiol.* 2010 May 28;141(2):122-131. doi: 10.1016/j.ijcard.2009.09.543.

11. de Looft P. C., Cornet L. J. M., Embregts P. J. C. M., Nijman H. L. I., Didden H. C. M. Associations of sympathetic and parasympathetic activity in job stress and burnout: A systematic review. *PLoS One.* 2018;13(10):e0205741. doi:10.1371/journal.pone.0205741.

12. Jarczok M. N., Kleber M. E., Koenig J., Loerbroks A., Herr R. M., Hoffmann K., Fischer J. E., Benyamini Y., Thayer J. F. Investigating the associations of self-rated health: heart rate variability is more strongly associated than inflammatory and other frequently used biomarkers in a cross sectional occupational sample. *PLoS One.* 2015;10(2): e0117196.

13. Li H., Liu Z., Liu L., Li W., Cao Z., Song Z., Yang Q., Lu A., Lu C., Liu Y. Vascular Protection of TPE-CA on Hyperhomocysteinemia-induced Vascular Endothelial Dysfunction through AA Metabolism Modulated CYPs Pathway. *Int J Biol Sci.* 2019;15(10): 2037-2050.

14. Libby P., Ridker P. M., Maseri A. Inflammation and atherosclerosis. *Circulation.* 2002 Mar 5;105(9):1135-1143. doi:10.1161/hc0902.104353.

15. Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis—an update. *N Engl J Med.* 1986 Feb 20;314(8):488-500. doi:10.1056/NEJM198602203140806.

16. Winterbourn C. C. Reconciling the chemistry and biology of reactive oxygen species. *Nat Chem Biol.* 2008 May;4(5):278-286. doi: 10.1038/nchembio.85.

17. Xu Y., Siegal D. M., Anand S. S. Ethnoracial variations in venous thrombosis: Implications for management, and a call to action. *J Thromb Haemost.* 2021;19(1):30-40.

18. Kim H. K., Tantry U. S., Park H. W., Shin E. S., Geisler T., Gorog D. A., Gurbel P. A., Jeong Y. H. Ethnic Difference of Thrombogenicity in Patients with Cardiovascular Disease: a Pandora Box to Explain Prognostic Differences. *Korean Circ J.* 2021;51(3):202-221.

19. Verhamme P, Hoylaerts MF. The pivotal role of the endothelium in haemostasis and thrombosis. *Acta Clin Belg.* 2006 Sep-Oct;61(5):213-9. doi: 10.1179/acb.2006.036.

20. Климов А. Н. Превентивная кардиология. В кн.: А. В. Виноградов, А. Н. Климов, А. И. Клиорин. Под ред. Г. И. Косицкого. М.: Медицина; 1977:260-321.

21. Shen W. J., Fu S., Li N., Li L. L., Cao Z. G., Li C., Liu T., Wang R. T. Decreased Mean Platelet Volume Is Associated with Cervical Cancer Development. *APJCP.* 2017;18(7):1769-1772.

REFERENCES

1. Aghajanyan N. A., Tsaturyan L. D. Ethnic physiology: ecology, adaptation, health: monograph. Stavropol: Stavropol State University; 2011. 256. (In Russ.).

2. Farrace S., Cenni P., Tuozzi G., Casagrande M., Barbarito B., Peri A. Endocrine and psychophysiological aspects of human adaptation to the extreme. *Physiol Behav.* 1999 Jun;66(4):613-20. doi:10.1016/s0031-9384(98)00341-2.)

3. Gonzalez Castro L. N., Monsen C. B., Smith M. A. The binding of learning to action in motor adaptation. *PLoS Comput Biol.* 2011;7(6): e1002052. doi:10.1371/journal.pcbi.1002052.

4. Quinn M. T., Parthasarathy S., Steinberg D. Endothelial cell-derived chemotactic activity for mouse peritoneal macrophages and the effects of modified forms of low density lipoprotein. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1985 Sep;82(17):5949-5953. doi:10.1073/pnas.82.17.5949.

5. Aghajanyan N. A., Konovalova G. M., Ozheva R. Sh. Ethnos, health and problems of adaptation. *New technologies.* 2010;3:93-97. (In Russ.).

6. Tempe D. K., Dhir A. Ethnicity and Health Care. *J Cardiothorac Vasc Anesth.* 2019 Feb;33(2):394-395. doi:10.1053/j.jvca.2018.04.021.

7. Tiwari R., Kumar R., Malik S., Raj T., Kumar P. Analysis of Heart Rate Variability and Implication of Different Factors on Heart Rate Variability. *Curr Cardiol Rev.* 2021;17(5):e160721189770.

8. Bilchick K. C., Berger R. D. Heart rate variability. *J Cardiovasc Electrophysiol.* 2006 Jun;17(6):691-694. doi:10.1111/j.1540-8167.2006.00501.x.

9. Lahiri M. K., Kannankeril P. J., Goldberger J. J. Assessment of autonomic function in cardiovascular disease: physiological basis and prognostic implications. *J Am Coll Cardiol.* 2008 May 6;51(18):1725-1733. doi: 10.1016/j.jacc.2008.01.038.

10. Thayer J. F., Yamamoto S. S., Brosschot J. F. The relationship of autonomic imbalance, heart rate variability and cardiovascular disease risk factors. *Int J Cardiol.* 2010 May 28;141(2):122-131. doi: 10.1016/j.ijcard.2009.09.543.

11. de Looft P. C., Cornet L. J. M., Embregts P. J. C. M., Nijman H. L. I., Didden H. C. M. Associations of sympathetic and parasympathetic activity in job stress and burnout: A systematic review. *PLoS One.* 2018;13(10):e0205741. doi:10.1371/journal.pone.0205741.

12. Jarczok M. N., Kleber M. E., Koenig J., Loerbroks A., Herr R. M., Hoffmann K., Fischer J. E., Benyamini Y., Thayer J. F. Investigating the associations of self-rated health: heart rate variability is more strongly associated than inflammatory and other frequently used biomarkers in a cross sectional occupational sample. *PLoS One.* 2015;10(2): e0117196.

13. Li H., Liu Z., Liu L., Li W., Cao Z., Song Z., Yang Q., Lu A., Lu C., Liu Y. Vascular Protection of TPE-CA on Hyperhomocysteinemia-induced Vascular Endothelial Dysfunction through AA Metabolism Modulated CYPs Pathway. *Int J Biol Sci.* 2019;15(10): 2037-2050.

14. Libby P., Ridker P. M., Maseri A. Inflammation and atherosclerosis. *Circulation.* 2002 Mar 5;105(9):1135-1143. doi:10.1161/hc0902.104353.

15. Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis—an update. *N Engl J Med.* 1986 Feb 20;314(8):488-500. doi:10.1056/NEJM198602203140806.

16. Winterbourn C. C. Reconciling the chemistry and biology of reactive oxygen species. *Nat Chem Biol.* 2008 May;4(5):278-286. doi: 10.1038/nchembio.85.

17. Xu Y., Siegal D. M., Anand S. S. Ethnoracial variations in venous thrombosis: Implications for management, and a call to action. *J Thromb Haemost.* 2021;19(1):30-40.

18. Kim H. K., Tantry U. S., Park H. W., Shin E. S., Geisler T., Gorog D. A., Gurbel P. A., Jeong Y. H. Ethnic Difference of Thrombogenicity in Patients with Cardiovascular Disease: a Pandora Box to Explain Prognostic Differences. *Korean Circ J.* 2021;51(3):202-221.

19. Verhamme P, Hoylaerts MF. The pivotal role of the endothelium in haemostasis and thrombosis.

Acta Clin Belg. 2006 Sep-Oct;61(5):213-9. doi: 10.1179/acb.2006.036.

20. Klimov A. N. Preventive cardiology. In the book: A. V. Vinogradov, A.N. Klimov, A. I. Klorin. Edited by G. I. Kositsky. M.: Medicine; 1977:260-321.

21. Shen W. J., Fu S., Li N., Li L. L., Cao Z. G., Li C., Liu T., Wang R. T. Decreased Mean Platelet Volume Is Associated with Cervical Cancer Development. APJCP. 2017;18(7):1769-1772.

УДК: 616.33-002.44-072.1

DOI: 10.29039/2224-6444-2023-13-3-59-67

ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ COVID-19 НА ОСОБЕННОСТИ КЛИНИЧЕСКИХ И ЛАБОРАТОРНЫХ СИМПТОМОВ ПРИ ОСТРОМ ИНФАРКТЕ МИОКАРДА

Штыгашева О. В.¹, Агеева Е. С.², Первова Е. Н.¹, Назар О. А.¹

¹ФГБОУ ВО «Хакасский государственный университет им. Н.Ф. Катанова», 655000, проспект Ленина, 92, г. Абакан, Республика Хакасия, Россия

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

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

For correspondence: Ageeva Elizaveta Sergeevna, MD, Associate Professor, Head of the Department of Medical Biology, Medical Academy named after S.I. Georgievsky of Vernadsky CFU, e-mail: ageevaeliz@rambler.ru

Information about authors:

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

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

Pervova E. N., <https://orcid.org/0000-0001-5788-9646>

Nazar O. A., <https://orcid.org/0000-0002-9116-6473>

РЕЗЮМЕ

Нарушения механизмов гемостаза, системный воспалительный ответ у пациентов с COVID-19 и атеросклерозом при остром инфаркте миокарда оказывают значимое влияние на клиническое течение заболевания и прогноз. Цель исследования – выявить особенности клинических и лабораторных симптомов при остром инфаркте миокарда у SARS-CoV-2-позитивных и SARS-CoV-2-негативных пациентов. Материал и методы. Рассмотрели данные пациентов, перенёвших COVID-19 в период до 6 месяцев, предшествующих ОИМ (n=81) и больных ОИМ с отрицательным статусом инфицирования SARS-CoV-2 (n=131). Результаты. На фоне стандартной динамики гематологических показателей при остром инфаркте миокарда установлены особенности экспрессии специфических и неспецифических маркёров некроза миокарда, воспаления и гемостаза, обусловленные различиям по признаку SARS-CoV-2-позитивности пациентов и их полу. КФК-МВ высокого уровня (в 1,7–1,8 раза у женщин; в 2,6–1,3 раза у мужчин). Тропонин I 30нг/л и более (в 3,2–2,6 раза у женщин; в 1,8–1,6 раза у мужчин). Миоглобин высокого уровня (в 1,9–19,0 раза у женщин, в 2,7 раза у мужчин с типичным вариантом). СРБ высокого уровня у мужчин и очень высокого у женщин; NLR более 3,13; тромбоцитопения (у мужчин в 9,7 раза, у женщин в 17,5 раз); умеренный тромбоцитоз (у женщин чаще в 2 раза, чем мужчин и в 2,6 раза, чем у женщин группы контроля); укорочение ПТВ (в 4,7 раза у мужчин, в 2 раза у женщин) и удлинение ПТВ (у женщин в 6 раз, у мужчин в 2,7 раза); повышение уровня D-димера до 2-х ВГН (у мужчин). Заключение. У SARS-CoV-2-позитивных пациентов с типичным и атипичным вариантом острого инфаркта миокарда, в большинстве случаев уровень/степень повышения биологических маркёров в сыворотке крови доминировала.

Ключевые слова: острый инфаркт миокарда, SARS-CoV-2-инфекция, маркёры острого повреждения миокарда, С-реактивный белок, NLR, показатели гемостаза.

PATHOGENETIC ACTION OF COVID-19 ON CLINICAL AND LABORATORY SYMPTOMS IN ACUTE MYOCARDIAL INFARCTION

Shtygasheva O. V.¹, Ageeva E. S.², Pervova E. N.¹, Nazar O. A.¹

¹Khakass State University named after N.F. Katanov, Abakan, Republic of Khakassia, Russia

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

SUMMARY

Impairments in the hemostasis system, systemic inflammatory response in patients with COVID-19 and atherosclerosis in acute myocardial infarction have a significant impact on the clinical course of the disease and prognosis. The aim of the study was to identify the features of clinical and laboratory symptoms in patients with acute myocardial infarction SARS-CoV-2-positive and SARS-CoV-2-negative. Material and methods. We reviewed data from 81 patients with COVID-19 up to 6 months prior to AMI and in AMI patients with negative SARS-CoV-2 infection status (n=131). Results. Against the background of the standard dynamics of hematological parameters in acute myocardial infarction, the features of the expression of markers of myocardial necrosis, inflammation, and hemostasis indicators appeared due to differences in the SARS-CoV-2-positivity of patients and their sex. CK-MB high level (1.7-1.8 times in women; 2.6-1.3 times in men). Troponin I 30ng/l and more (3.2-2.6 times in women; 1.8-1.6 times in men). High level myoglobin (1.9-19.0 times in women, 2.7 times in men with a typical variant). CRP is high in men and very high in women; NLR over 3.13; thrombocytopenia (9.7 times in men, 17.5 times in women); moderate thrombocytosis (in women 2 times more often than men and 2.6 times more often than in women of the control group); shortening of the PTT (4.7 times in

men, 2 times in women) and lengthening of the PTT (in women by 6 times, in men by 2.7 times); increase in the level of D-dimer up to 2 VGN (in men). In SARS-CoV-2-positive patients with a typical and atypical variant of acute myocardial infarction, the level / degree of increase in biological markers in the blood serum is higher. Conclusion. The expression of specific and non-specific markers of myocardial necrosis, inflammation, and hemostasis parameters varied depending on the status of patients in terms of SARS-CoV-2 and their sex, in most cases, after a viral infection, the increase parameters dominated.

Key words: acute myocardial infarction, SARS-CoV-2 infection, markers of acute myocardial injury, C-reactive protein, NLR, hemostasis parameters.

Пациенты, страдающие сердечно-сосудистыми заболеваниями, имеют повышенный риск развития острого коронарного синдрома (ОКС) во время острых инфекций и риски внезапной сердечной смерти, как в раннем, так и в отсроченном периоде болезни [1]. Неспецифическое воспаление в ответ на SARS-CoV-2 приводит к дисфункции эндотелия и нарушениям в системе гемостаза [2]. Биологические маркеры острого повреждения миокарда коррелируют со степенью тяжести, обладают высоким потенциалом для прогнозирования исходов заболевания у пациентов с COVID-19 при остром инфаркте миокарда (ОИМ) [3]. Сердечный высокочувствительный тропонин I и креатинфосфокиназа МВ (КФК-МВ) – стигматы тяжести клинического течения ОИМ [4]. С-реактивный белок (СРБ) – независимый фактор риска ОИМ, по уровню его повышения можно судить о степени воспаления и тяжести заболевания [5]. Стратификация NLR (neutrophil-lymphocyte ratio) – соотношения нейтрофилов к лимфоцитам, в зависимости от возраста, рекомендована в качестве краткосрочного прогностического показателя тяжелого течения ОИМ: пациенты в возрасте старше 50 лет с NLR более 3,13 имеют высокий риск развития критического заболевания [6; 7]. Цель исследования – сравнительный анализ клинических и лабораторных симптомов при остром инфаркте миокарда у SARS-CoV-2-позитивных и SARS-CoV-2-негативных у пациентов.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Ретроспекция медицинских карт госпитального контингента пациентов ГБУЗ Республики Хакасия «Республиканская клиническая больница им. Г.Я. Ремишевской», случайно отобранных: каждый второй от ежегодно среднего числа с ОИМ (n=427) за три года. Генеральная совокупность составила 212 пациентов (71 женщина и 141 мужчина, возраст от 38 до 91 года) с ОИМ в период с 1 февраля по 1 сентября 2021 г. По статусу инфицирования SARS-CoV-2 выделены 2 группы: SARS-CoV-2-позитивных (перенесшие COVID-19 в период до 6 месяцев, предшествующих ОИМ (n=81), средний возраст 64,0±8,2 лет) и SARS-CoV-2-негативных (пациенты ОИМ с отрицательным статусом инфицирования SARS-CoV-2 (n=131), средний возраст - 63,0±11,6 лет).

COVID-19 определялся методами: ПЦР (PHK SARS-CoV-2), ИФА (Ig M и G к SARS-CoV-2) в 100% случаев. ОИМ подтверждался на основании 2-х и более из пяти критериев диагностики ОИМ [8]. Выделяли типичную клинику – ангинозный приступ высокой интенсивности и продолжительности, длительностью более 20 мин., в покое или после физической нагрузки, купирующийся приемом нитроглицерина; атипичную – эквивалент ангинозного приступа в виде одышки, слабости в сопровождении вегетативной симптоматики и смешанную.

Уровень СРБ в мг/л оценивали, как норму (0-1,5), умеренное повышение (1,6-19,0), высокий (20,0-99,0) и очень высокий (>100). Принципы ранжирования гематологических показателей воспаления; гемостаза и коагуляции; некроза миокарда представлены в таблице 1.

Статистическая обработка с помощью пакета прикладных программ Statistica 10 с применением непараметрических методов. Количественные значения представлены в виде относительных переменных (%), как частота проявления признака. Для сравнения различий между группами использовали критерий Пирсона (χ^2), различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Типичный клинический вариант доминировал в генеральной совокупности пациентов с ОИМ (68,3 %), у мужчин (70,9 %) и женщин (63,3 %). При ангинозном приступе, КФК-МВ умеренного уровня повышения фиксировалась в 1,5 раза чаще у мужчин, чем у женщин, а высокого уровня – в 1,2 раза – у женщин. КФК-МВ высокого уровня преобладала у всех SARS-CoV-2-позитивных пациентов: у женщин в 1,7 раза выше, чем в когорте сравнения (50,0 и 28,8 %, соответственно); у мужчин в 2,6 раза выше, при аналогичном сопоставлении (49,0 и 18,6 %, соответственно).

Тропонин I менее 30 нг/л превалировал у мужчин (44,0 %) в сравнении с женщинами (26,2 %) в 1,7 раза. Тропонин I 30 нг/л и более чаще фиксировался у женщин, чем у мужчин: среди SARS-CoV-2-позитивных в 1,4 раза (50,0 и 36,3 %, соответственно). Экспрессия маркера в 3,2 раза выше у SARS-CoV-2-позитивных женщин (50,0%) чем в когорте сравнения (15,5 %), аналогично и у

**Таблица 1. Диапазон гематологических показателей воспаления, гемостаза и некроза миокарда.
Table 1. Range of hematological indicators of inflammation, hemostasis and myocardial necrosis.**

Показатели	Норма	Умеренное повышение	Высокий уровень	Пониженный уровень
Оценка степени воспаления				
Лейкоциты, 10 ⁹ /л	4,0 -8,9	9,0 -15,0	16,0-50,0	< 4,0
Нейтрофилы, 10 ⁹ /л	1,6 -6,1	Более 6,1	-	< 1,5
Лимфоциты, 10 ⁹ /л	0,5-5,0	Более 5,0	-	< 0,5
NLR	< 3,1	-	≥ 3,13	-
Оценка показателей гемостаза и коагуляции				
Тромбоциты, 10 ⁹ /л	150,0-400,0	401,0-450,0	451,0-550,0	< 150,0
Фибриноген, г/л	1,8-4,0	-	> 4,0	< 1,8
ПТВ, сек	11,0-16,0	-	> 16,0	< 11,0
Оценка маркёров некроза миокарда				
АЛТ, ЕД/л	5-40	41-74	75-110	< 41
АСТ, ЕД/л	6-40	36-75	76-120	< 6
КФК-МВ, МЕ/л	0,5-25	26-180	> 180	< 0,5
Миоглобин, мкг/л	50-85	86-120	>120	< 50
Тропонин I, нг/л	0-0,5	< 30	≥ 30	-

Примечание. NLR (Neutrophil-lymphocyte ratio) - соотношение нейтрофилов к лимфоцитам; ПТВ – протромбиновое время; АЛТ – аланинтрансфераза; АСТ – аспартаттрансфераза; КФК-МВ – креатинфосфокиназа МВ.

мужчин (36,3 и 19,7 %, соответственно) – в 1,8 раза (табл. 2).

Миоглобин умеренного уровня повышения преобладал у мужчин в сравнении с женщинами (41,1 и 30,9 %, соответственно), а высокого уровня – у женщин (33,8 %) в сравнении с мужчинами (29,7 %). Как и в случае с другими специфическими маркёрами, рейтинг миоглобина высокого уровня среди пациентов, перенёвших COVID-19, превосходил данные пациентов группы сравнения: у SARS-CoV-2-позитивных женщин (50,0 %) в 1,9 раза выше, чем SARS-CoV-2-негативных (26,6 %); у SARS-CoV-2-позитивных мужчин (50,9 %) в 2,7 раза выше, чем у мужчин группы сравнения (18,6 %) (табл. 2).

Неспецифические маркёры повреждения миокарда также варьировали в зависимости от пола и статуса SARS-CoV-2 пациентов. АСТ умеренного уровня повышения в 1,3 раза чаще была у мужчин, чем у женщин в когорте SARS-CoV-2-негативных пациентов (47,6 и 37,7 %, соответственно). Высокие значения АСТ фиксировались чаще у женщин, чем у мужчин в когорте SARS-CoV-2-позитивных (42,3 и 29,0 %, соответственно). Аналогичная закономерность для АЛТ: цитолиз высокого уровня чаще был у женщин, чем у мужчин в обеих когортах пациентов (табл. 2).

ОИМ проявился атипичным вариантом почти у каждого пятого пациента (19,0 %), у 19,8 % мужчин и 17,0 % женщин. У SARS-CoV-2-позитивных пациентов с атипичной клиникой, КФК-МВ высокого уровня фиксировалась у женщин (11,5 %) в 1,8 раза чаще, чем у женщин группы контроля (6,6 %), а у мужчин в 1,3 раза, соответственно (табл. 2).

Тропонин I менее 30 нг/л превалировал у женщин в сравнении с мужчинами в два раза у SARS-CoV-2-позитивных пациентов и в 1,4 раза в группе контроля. Тропонин I 30 нг/л и более у SARS-CoV-2-позитивных был выше у мужчин, чем у женщин (16,3 и 11,5 %, соответственно). Частота Тропонина I 30 нг/л и более у SARS-CoV-2-позитивных пациентов была выше, чем в группе контроля: среди женщин в 2,6 раза (11,5 и 4,4 %, соответственно), среди мужчин в 1,6 раза (16,3 и 10,4 %, соответственно) (табл. 2).

Миоглобин высокого уровня в 2 раза чаще определялся у женщин (19,2 %), чем у мужчин (9,0 %) в группе SARS-CoV-2-позитивных пациентов, а среди женщин в 19 раз чаще у SARS-CoV-2-позитивных, чем у женщин группы контроля. Миоглобин умеренного уровня превалировал у женщин группы контроля над показателями SARS-CoV-2-позитивных пациенток (15,5 и 3,8 %, соответственно). Показатель АСТ превалиро-

Таблица 2. Экспрессия маркёров некроза миокарда в зависимости от клинического варианта заболевания, статуса инфицирования SARS-CoV-2 пациентов и пола.

Table 2. Expression of markers of myocardial necrosis depending on the clinical variant of the disease, the status of infection with SARS-CoV-2 patients and gender.

Уровень повышения маркёров некроза миокарда		% (n= количество случаев)					
		Все пациенты ОИМ (n =212)		SARS-CoV-2 позитивные (n =81)		SARS-CoV-2 негативные (n =131)	
		Муж.(141)	Жен.(71)	Муж.(55)	Жен.(26)	Муж.(86)	Жен.(45)
Типичный вариант: 68,3 (145), где мужчины 70,9 (100) и женщины 63,3 (45)							
КФК-МВ	умеренное	41,1 (58)	28,1 (20)	27,2 (15)	26,9 (7)	50,0 (43)	28,8 (13) ¹
	высокое	30,4 (43)	36,6 (26)	49,0 (27)	50,0 (13)	18,6 (16)	28,8 (13)
Тропонин I	< 30 нг/л	44,0 (62)	33,8 (24)	38,1 (21)	23,0 (6) ¹	47,6 (41)	40,0 (18)
	≥ 30 нг/л	26,2 (37)	28,1 (20)	36,3 (20)	50,0 (13) ¹	19,7 (17)	15,5 (7)
Миоглобин	умеренное	41,1 (58)	30,9 (22)	23,6 (13)	23,0 (6)	52,3 (45)	35,5 (16) ¹
	высокое	29,7 (42)	33,8 (24)	50,9 (28)	50,0 (13)	18,6 (16)	26,6 (12)
АСТ	умеренное	39,7 (56)	38,0 (27)	27,2 (15)	34,6 (9)	47,6 (41)	37,7 (17)
	высокое	31,2 (44)	26,7 (19)	29,0 (16)	42,3 (11)	20,9 (18)	17,7 (8)
АЛТ	умеренное	49,6 (70)	33,8 (24) ¹	38,1 (21)	26,9 (7)	56,9 (49)	37,7 (17) ¹
	высокое	21,2 (30)	29,5 (21)	36,3 (20)	46,1 (12)	11,6 (10)	20,0 (9)
Атипичный вариант: 19 (40), где мужчины 19,8 (28) и женщины 17 (12)							
КФК-МВ	умеренное	10,6 (15)	9,8 (7)	10,9 (6)	11,5 (3)	10,4 (9)	8,8 (4)
	высокое	9,2 (13)	8,4 (6)	10,6 (6)	11,5 (3)	8,1 (7)	6,6 (3)
Тропонин I	< 30 нг/л	7,1 (10)	11,2 (8)	5,5 (3)	11,5 (3)	8,1 (7)	11,1 (5)
	≥ 30 нг/л	12,7 (18)	7,0 (5)	16,3 (9)	11,5 (3)	10,4 (9)	4,4 (2)
Миоглобин	умеренное	12,0 (17)	11,2 (8)	12,7 (7)	3,8 (1)	11,6 (10)	15,5 (7)
	высокое	9,2 (13)	7,0 (5)	9,0 (5)	19,2 (5) ¹	9,3 (8)	0
АСТ	умеренное	12,0 (17)	11,2 (8)	12,7 (7)	11,5 (3)	11,6 (10)	11,1 (5)
	высокое	7,8 (11)	5,6 (4)	9,0 (5)	7,7 (2)	6,9 (6)	4,4 (2)
АЛТ	умеренное	14,8 (21)	11,2 (8)	12,7 (7)	3,8 (1)	16,2 (14)	15,5 (7)
	высокое	4,9 (7)	7,0 (5)	9,0 (5)	19,2 (5)	2,3 (2)	0
Смешанный вариант: 12,7 (27), где мужчины 9,2 (13) и женщины 19,7 (14)							
КФК-МВ	умеренное	6,4 (9)	14,0 (10)	1,8 (1)	0	9,3 (8)	22,2 (10) ¹
	высокое	2,8 (4)	7,0 (5)	1,8 (1)	7,7 (2) ¹	3,4 (3)	6,6 (3)
Тропонин I	< 30 нг/л	5,6 (8)	12,6 (9)	1,8 (1)	7,7 (2) ¹	8,1 (7)	15,5 (7)
	≥ 30 нг/л	4,3 (6)	8,4 (6)	1,8 (1)	0	5,8 (5)	13,3 (6)
Миоглобин	умеренное	7,1 (10)	14,0 (10)	1,8 (1)	7,7 (2) ¹	10,4 (9)	17,7 (8)
	высокое	2,1 (3)	5,6 (4)	1,8 (1)	0	2,3 (2)	8,8 (4)
АСТ	умеренное	6,3 (9)	15,4 (11) ¹	0	0	10,4 (9)	24,4 (11) ²
	высокое	2,8 (4)	5,6 (4)	3,6 (2)	7,7 (2)	2,3 (2)	4,4 (2)
АЛТ	умеренное	5,6 (8)	17,0 (12) ¹	3,6 (2)	0	7,0 (6)	26,6 (12) ²
	высокое	3,5 (5)	4,2 (3)	0	7,7 (2)	6,0 (5)	2,2 (1)

Примечание: 1 –уровень статистической значимости ($p < 0,05$) между показателями у мужчин и женщин.

вал у мужчин в сравнении с женщинами. АЛТ высокого уровня достоверно преобладал у женщин после COVID-19, как в сравнении с мужчи-

нами, так и в сравнении с SARS-CoV-2 негативными женщинами (табл. 2). Смешанный вариант клиники ОИМ был редким (12,7 %), особенно у

мужчин (9,2 %), у большинства пациентов установлен умеренный уровень повышения специфических и неспецифических маркеров некроза миокарда (табл. 2).

У каждого второго пациента с ОИМ уровень маркеров воспаления был выше нормальных значений. СРБ умеренного уровня преобладал у мужчин, а высокого и очень высокого у женщин. У SARS-CoV-2 позитивных пациентов доля больных с СРБ умеренного уровня ниже, чем в группе контроля, как у мужчин (52,7 и 69,7 %, соответственно), так и у женщин (42,3 и 62,2 %, соответственно). Вместе с тем, среди SARS-CoV-2 позитивных пациентов чаще, чем в группе сравнения определялся СРБ высокого уровня у мужчин (18,1 и 11,6 %, соответственно), а очень высокого уровня у женщин (7,7 и 2,2 %, соответственно) (табл. 3).

Лейкоцитоз имели 59,0 % пациентов генеральной совокупности: высокий чаще встречался у женщин, чем у мужчин (14,2 и 10,2 %), умеренный и высокий чаще у SARS-CoV-2-негативных пациентов. Увеличение доли нейтрофилов чаще отмечалось у SARS-CoV-2-позитивных женщин, чем у SARS-CoV-2-позитивных мужчин (в 2 раза 61,5 и 31,0 %) и чем у женщин группы контроля (в 1,5 раза, 42,2 %). Максимальная частота увеличения доли нейтрофилов фиксировалась у SARS-CoV-2-негативных мужчин (86,0 %). Показатели лимфоцитов были в норме у большинства мужчин (92,2 %) и женщин (94,4 %). Случаи высокого лимфоцитоза преобладали среди SARS-CoV-2-позитивных больных: 7,2 % у мужчин (в контроле 2,3 %), 7,6 % - у женщин (в контроле – 2,0 %), а лимфопении у SARS-CoV-2-позитивных мужчин (5,4 %). Показатель NLR более 3,13 доминировал среди SARS-CoV-2-позитивных пациентов: 85,4 % у мужчин (в контроле – 51,1 %), 80,7 % у женщин (в контроле – 40,0 %). Умеренные и высокие значения СОЭ отмечались чаще у мужчин, чем у женщин вне зависимости от статуса пациентов по COVID-19 (табл. 3).

Тромбоцитопения чаще выявлялась у женщин (30,9 %), чем у мужчин (25,5 %), при сопоставлении показателя CoV-2-позитивных пациентов с группой контроля, выявлены существенные различия среди мужчин в 9,7 раза выше (56,3 и 5,8 %, соответственно) и среди женщин – в 17,5 раз (77,0 и 4,4 %). Умеренный тромбоцитоз в два раза чаще встречался у SARS-CoV-2-позитивных женщин (23,0 %) в сравнении с SARS-CoV-2-позитивными мужчинами (11,0 %) и в 2,6 раза чаще, чем у женщин группы контроля (8,8 %) (табл. 3).

Высокий фибриноген чаще фиксируется у женщин (59,1 %), чем у мужчин (27,8 %). Однако доля SARS-CoV-2-негативных пациентов с высоким фибриногеном существенно выше, чем

SARS-CoV-2-позитивных пациентов: в 3,5 раза у женщин (66,6 и 19,2 %) и в 1,9 раза у мужчин (42,0 и 21, 8%). Укорочение ПТВ у SARS-CoV-2-позитивных пациентов при сопоставлении с группой контроля определяется чаще в 4,7 раза у мужчин (32,7 и 7,0 %) и в 2 раза у женщин (23,0 и 11,1 %). Удлинение ПТВ также превалирует у пациентов после COVID-19: у женщин (27,0 и 4,4 %), у мужчин (21,8 и 8,1 %) (табл. 3).

D-димер был исследован только у 38,0 % (n=80) пациентов с ОИМ, его увеличение чаще фиксировалось у женщин, чем у мужчин: в 1,5 раза при уровне D-димера менее 2 ВГН и в 1,8 раза при уровне D-димера более 2 ВГН. При повышении D-димера менее 2 ВГН, SARS-CoV-2-позитивных мужчин (25,4 %) было больше, чем SARS-CoV-2-позитивных женщин (3,8 %) и мужчин группы контроля (14,0 %). Максимальная частота увеличения уровня D-димера менее 2 ВГН (42,2 %) и более 2 ВГН (31,1 %) зафиксирована среди SARS-CoV-2-негативных женщин, она была выше, чем у женщин группы контроля и мужчин в двух группах (табл. 3).

ОБСУЖДЕНИЕ

Системный воспалительный ответ при COVID-19 может провоцировать развитие ОИМ и отягощать состояние пациентов [9]. Цитокиновый шторм приводит к повреждению и апоптозу кардиомиоцитов [10; 11]. Активность воспаления в патогенезе ОИМ имеет прогностическую ценность [3]. Показана релевантность лейкоцитоза в течение первых 30 дней и 6 месяцев в качестве фактора риска смерти от ОИМ. Инвазия лейкоцитов в клетки эндотелия инициирует патофизиологические реакции [12; 13], вызывающие восприимчивость атеросклеротических бляшек к разрыву [3; 4; 14; 15]. Существенным негативным вкладом в ухудшение состояния пациента является может быть воздействие COVID-19 на повреждение T-лимфоцитов и высокая частота лимфопении [7]. Отношение нейтрофилов к лимфоцитам идентифицировано как независимый фактор риска развития критических заболеваний у таких пациентов [16].

Сильным независимым предиктором тяжести заболевания и повышения смертности у пациентов с COVID-19 является высокий уровень тропонинов [17]. Зафиксирован более высокий уровень смертности (51,2%), чем у пациентов с нормальным уровнем тропонина I и без повреждения миокарда (4,5%) [18]. В ряде работ показано прогностическое значение КФК-МВ при COVID-19, уровни фермента были значительно выше у пациентов с более тяжелым течением COVID-19 и у летальных пациентов, также они чаще имели ОИМ [19; 20; 21].

Таблица 3. Экспрессия маркёров воспаления и показатели гемостаза при остром инфаркте миокарда в зависимости от статуса инфицирования SARS-CoV-2 пациентов и пола.**Table 3. Expression of inflammation markers and hemostasis parameters in acute myocardial infarction depending on the infection status of SARS-CoV-2 patients and gender.**

Уровень повышения маркёров некроза миокарда		% (n= количество случаев)					
		Все пациенты ОИМ (n =212)		SARS-CoV-2 позитивные (n =81)		SARS-CoV-2 негативные (n =131)	
		Муж.(141)	Жен.(71)	Муж.(55)	Жен.(26)	Муж.(86)	Жен.(45)
Маркёры воспаления							
СРБ	нормальный	21,2 (30)	19,7 (14)	25,4 (14)	30,7 (8)	18,6 (16)	13,3 (6)
	умеренный	63,1 (89)	54,9 (39)	52,7 (29)	42,3 (11)	69,7 (60)	62,2 (28)
	высокий	14,2 (20)	21,1 (15)	18,1 (10)	19,2 (5)	11,6 (10)	22,2 (10)
	оч. высокий	1,5 (2)	4,3 (3)	3,6 (2)	7,7 (2)	0	2,2 (1)
Лейкоциты	нормальный	40,4 (57)	36,6 (26)	45,4 (25)	50,0 (13)	37,2 (32)	28,8 (13)
	умеренный	48,9 (69)	47,8 (34)	43,6 (24)	42,3 (11)	52,3 (45)	51,1 (23)
	высокий	10,0 (14)	14,2 (10)	9,0 (5)	7,7 (2)	10,4 (9)	17,7 (8)
	низкий	0,7 (1)	1,4 (1)	1,8 (1)	0	0	2,2 (1)
Нейтрофилы	нормальный	36,8 (50)	50,7 (36) ¹	69,0 (38)	38,4 (10) ¹	46,1 (12)	57,7 (26)
	высокий	64,5 (91)	49,2 (35) ¹	31,0 (17)	61,5 (16) ¹	86,0 (74)	42,2 (19)
Лимфоциты	нормальный	92,2 (130)	94,4 (67)	87,2 (48)	88,4 (23)	95,3 (82)	98,0 (44)
	высокий	4,2 (6)	4,2 (3)	7,2 (4)	7,6 (2)	2,3 (2)	2,0 (1)
	низкий	3,6 (5)	1,4 (1)	5,4 (3)	3,8 (1)	2,3 (2)	0
СОЭ	нормальный	16,3 (23)	32,4 (23) ¹	27,2 (15)	50,0 (13) ¹	9,3 (8)	22,2 (10) ¹
	умеренный	54,6 (77)	46,5 (33)	36,3 (20)	35,0 (9)	66,2 (57)	53,3 (24)
	высокий	29,1 (41)	21,1 (15)	36,3 (20)	15,3 (4) ¹	24,5 (21)	24,4 (11)
NLR	<3,13	35,5 (50)	36,9 (32)	14,5 (8)	19,2 (5)	48,8 (42)	60,0 (27) ¹
	≥3,13	64,5 (91)	63,4 (39)	85,4 (47)	80,7 (21)	51,1 (44)	40,0 (18) ¹
Показатели гемостаза							
Тромбоциты	низкий	25,5 (36)	30,9 (22)	56,3 (31)	77,0 (20) ¹	5,8 (5)	4,4 (2)
	нормальный	61,7 (87)	46,4 (33) ¹	25,4 (14)	0	84,8 (73)	73,3 (33)
	умеренный	8,5 (12)	14,0 (10)	11,0 (6)	23,0 (6) ¹	7,0 (6)	8,8 (4) 2
	высокий	4,2 (6)	8,4 (6)	7,2 (4)	0	2,3 (2)	13,3 (6)
Фибриноген	нормальный	58,1 (82)	40,8 (29) ¹	78,1 (43)	77,0 (20)	46,5 (40)	33,3 (15) ¹
	высокий	27,8 (59)	59,1 (42) ¹	21,8 (12)	19,2 (5)	42,0 (36)	66,6 (30) ¹
ПТВ	нормальный	69,5 (98)	71,8 (51)	45,4 (25)	50,0 (13)	84,8 (73)	84,4 (38)
	низкий	17,0 (24)	15,4 (11)	32,7 (18)	23,0 (6)	7,0 (6)	11,1 (5)
	высокий	13,4 (19)	12,6 (9)	21,8 (12)	27,0 (7)	8,1 (7)	4,4 (2)
D-димер	< 2 ВГН	18,4 (26)	28,2 (20)	25,4 (14)	3,8 (1) ¹	14,0 (12)	42,2 (19) ¹
	≥ 2 ВГН	12,7 (18)	22,5 (16)	7,2 (4)	7,6 (2)	16,2 (14)	31,1 (14) ¹

Примечание: 1 –уровень статистической значимости (p<0,05) между показателями у мужчин и женщин.

Аномальные параметры свертывания крови при COVID-19 предполагают худший сценарий заболевания [3; 22]. Среди возможных механизмов обсуждается дисфункция эндотелия, вызванная воспалением и переходом системы гемостаза

в протромботическое состояние [23], поражаются не только артерии и вены, но и система микроциркуляции. Последствиями эндотелиита могут быть генерализованный спазм сосудов, патологический ангиогенез и тромбозы на всех уров-

нях [15]. SARS-CoV-2 приводит к активации и агрегации тромбоцитов. Снижение тромбоцитов в крови часто наблюдаются у пациентов со злокачественным течением COVID-19 [2], в таких случаях заболевание сопряжено с госпитальной смертью и ОИМ [21]. У умерших пациентов с инфекцией SARS-CoV-2 фиксировался избыток фибриногена. Степень повышения D-димера ассоциирована с острым повреждением миокарда и коррелирует с риском смерти [3; 4; 24]. Увеличение ПТВ также связано с ОИМ [25] и часто выявлялось у пациентов с COVID-19 [3; 21]. Роль вирусной инфекции в активации воспаления и усилении потенциала факторов риска, ведущих к острому повреждению миокарда вследствие ишемии, в нашем исследовании получила подтверждение.

ОИМ типично манифестировал у 68,3 % пациентов (у 70,9 % мужчин, у 63,3 % женщин); атипичный вариант встречался у каждого пятого (19,0 %, чаще у мужчин – 19,8 %), смешанный вариант был редким (12,7 %), у женщин проявлялся более часто – 19,7 %.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Экспрессия специфических и неспецифических маркеров некроза миокарда, воспаления и показателей гемостаза варьировала в зависимости от статуса пациентов по SARS-CoV-2 и их полу. В большинстве случаев после вирусной инфекции у пациентов с типичным и атипичным вариантом ОИМ уровень/степень повышения биологических маркеров в сыворотке крови доминировали. У SARS-CoV-2-негативных пациентов преобладал умеренный и высокий лейкоцитоз, высокий фибриноген (в 3,5 раза у женщин, в 1,9 раза у мужчин); фиксировалась максимальная частота увеличения уровня D-димера среди женщин.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

ЛИТЕРАТУРА

1. Конради А. О., Виллевальде С. В., Дупляков Д. В., Козленок А. В., Мельник О. В. Открытое наблюдательное многоцентровое исследование (регистр) больных, перенесших новую коронавирусную инфекцию (COVID-19) с поражением сердечно-сосудистой системы или на фоне тяжелой патологии сердечно-сосудистой системы: обоснование, дизайн, значение для клинической практики. *Российский кардиологический журнал*. 2021;26(1):4287. doi:10.15829/1560-4071-2021-4287.

2. Макацария А. Д., Слуханчук Е. В., Бицадзе В. О., Хизроева Д. Х., Третьякова М. В. COVID-19,

нарушения гемостаза и риск тромботических осложнений. *Вестник РАМН*. 2020;75(4):306–317. doi:10.15690/vramn1368.

3. Гумеров Р. М., Гареева Д. Ф., Давтян П. А., Рахимова Р. Ф., Мусин Т. И. Предикторные сывороточные биомаркеры поражения сердечно-сосудистой системы при COVID-19. *Российский кардиологический журнал*. 2021;26(S2):4456. doi:10.15829/1560-4071-2021-4456.

4. Чаулин А. М., Дупляков Д. В. Биомаркеры острого инфаркта миокарда: диагностическая и прогностическая ценность. Часть 1. Клиническая практика. 2020;11(3):75–84.

5. Абдрахманова А. И., Амиров Н. Б., Цибулькин Н. А. С-реактивный белок при остром коронарном синдроме (обзор литературы). *Лечебное дело*. 2020;4:83-85.

6. Liu J., Liu Y., Xiang P., Pu L., Xiong Ch. Neutrophil-to-lymphocyte ratio predicts critical illness patients with 2019 coronavirus disease in the early stage. *Transl. Med*. 2020;18:1-12. doi:10.1186/s12967-020-02374-0.

7. Lasbleiz A., Gaborit B., Soghomonian A., Bartoli A. COVID-19 and Obesity: Role of Ectopic Visceral and Epicardial Adipose Tissues in Myocardial Injury. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2021;12:1-9. doi:10.3389/fendo.2021.72696.

8. Абугов С. А., Алесян Б. Г., Архипов М. В., Барбараш О. Л., Бойцов С. А. Острый инфаркт миокарда с подъемом сегмента ST электрокардиограммы. Клинические рекомендации 2020. Российское кардиологическое общество, Ассоциация сердечно-сосудистых хирургов России. *Российский кардиологический журнал*. 2020;25(11):4103. doi:10.15829/1560-4071-2020-4103.

9. Штыгашева О. В., Агеева Е. С., Пузакова З. Ю., Пронькина К. В. Клиническая и лабораторно-рентгенологическая манифестация COVID-19 среди пациентов Республики Хакасия в 2020 году. *Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины*. 2022;12(3):63-71. doi:10.29039/2224-6444-2022-12-3-63-71.

10. Никитина Е. А., Мелетев И. С., Соловьев О. В., Чичерина Е. Н. Прогнозирование риска неблагоприятных сердечно-сосудистых событий в отдаленном периоде после эпизода острого коронарного синдрома на фоне сахарного диабета 2 типа. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2020;19(3):2357. *Cardiovascular therapy and prevention*. 2020;19(3):2357. (In Russ.). doi:10.15829/1728-8800-2020-2357.

11. Петриков С. С., Иванников А. А., Васильченко М. К., Эсауленко А. Н., Алиджанова Х. Г. COVID-19 и сердечно-сосудистая система. Часть 1. Патофизиология, патоморфология, осложнения, долгосрочный прогноз. *Журнал им.*

- Н.В. Склифосовского Неотложная медицинская помощь. 2021;10(1):14–26. doi:10.23934/2223-9022-2021-10-1-14-26.
12. Verdecchia P., Cavallini C., Spanevello A., Angeli F. The Pivotal Link Between ACE2 Deficiency and SARS-CoV-2 Infection. *Eur. J. Internal Med.* 2020;76:14–20. doi:10.1016/j.ejim.2020.04.037
13. de Andrade S. A., de Souza D. A., Torres A. L., de Lima C. F. G., Ebram M. C. Pathophysiology of COVID-19: Critical Role of Hemostasis. *Front Cell Infect Microbiol.* 2022;12:896972. doi:10.3389/fcimb.2022.896972.
14. Canto J., Kiefe C. I., Rogers W. J., Peterson E. D., Frederick P. D. Number of Coronary Heart Disease Risk Factors and Mortality in Patients With First Myocardial Infarction. *JAMA.* 2019;306(19):2120–2127. doi:10.1001/jama.2011.1654.
15. Harrison S. L., Buckley B. J. R., Rivera-Caravaca J. M., Zhang J., Lip G. Y. H. Cardiovascular risk factors, cardiovascular disease, and COVID-19: an umbrella review of systematic reviews. *Eur. Heart J. Qual. Care Clin. Outcomes.* 2021;7(4):330–339. doi:10.1093/ehjqcco/qcab029.
16. Чашин М. Г., Горшков А. Ю., Драпкина О. М. Острый коронарный синдром у пациентов с COVID-19. Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2021;20(5):2806. doi:10.15829/1728-8800-2021-2806.
17. Хамитова А. Ф., Лакман И. А., Ахметвалеев Р. Р., Тулбаев Э. Л., Гареева Д. Ф. Многофакторная прогностическая модель у пациентов с инфарктом миокарда в отдаленном периоде на основе современных биомаркеров. *Кардиология.* 2020;60(3):14–20. doi:10.18087/cardio.2020.3.2593.
18. Saeed M., Faisal A. Differences in Clinical Nature and Outcome Among Young Patients Suffering from an Acute Coronary Syndrome. *J. Blood Med.* 2021;12:1011-1017. doi:10.2147/JBM.S336050.
19. Song C., Fu R., Dou K., Yang J., Xu H. Association between smoking and in-hospital mortality in patients with acute myocardial infarction: results from a prospective, multicentre, observational study in China. *BMJ Open.* 2019; 9(8): 1-7. doi:10.1136/bmjopen-2019-030252.
20. Шляхто Е. В., Конради А. О., Арутюнов Г. П., Арутюнов А. Г., Баутин А. Е. Руководство по диагностике и лечению болезней системы кровообращения в контексте пандемии COVID-19. *Российский кардиологический журнал.* 2020;25(3):3801. doi:10.15829/1560-4071-2020-3-3801.
21. Wang J, Li L., Ma N., Zhang X. Clinical investigation of acute myocardial infarction according to age subsets. *Exp. Ther. Med.* 2020;20(5):120. doi:10.3892/etm.2020.9248.
22. Lin J., Yan H., Chen H., He C., Lin C. [et al.]. COVID-19 and Coagulation Dysfunction in Adults: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J. Med. Virol.* 2021;93 (2):934–944. doi:10.1002/jmv.26346.
23. Magadam A., Kishore R. Cardiovascular Manifestations of COVID-19 Infection. *Cells.* 2020;9(11):2508. doi:10.3390/cells9112508
24. Rodriguez-Ramos M. Effect of COVID-19 Pandemic on Performance Measures in Acute Myocardial Infarction. *Kardiologija.* 2020;61(3):52–56.
25. Zou F., Qian Z., Wang Y., Zhao Y., Bai J. Cardiac injury and COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *CJC Open.* 2020;2(5):386–394. doi:10.1016/j.cjco.2020.06.010.

REFERENCES

1. Konradi A. O., Villevalde S. V., Duplyakov D. V., Kozlyonok A. V., Melnik O. V. An open observational multicenter study (register) of patients who underwent a new coronavirus infection (COVID-19) with a lesion of the cardiovascular system or against the background of severe pathology of the cardiovascular system: justification, design, significance for clinical practice. *Russian Journal of Cardiology.* 2021;26(1):4287 (In Russ.). doi:10.15829/1560-4071-2021-4287.
2. Makatsaria A. D., Slukhanchuk E. V., Bitsadze V. O., Khizroeva J. K., Tretyakova M. V. COVID-19, haemostasis disorders and the risk of thrombotic complications. *Bulletin of RAMN.* 2020;75(4):306–317 (In Russ.). doi:10.15690/vramn1368.
3. Gumerov R. M., Gareeva D. F., Davtyan P. A., Rakhimova R. F., Musin T. I. Predictor serum biomarkers of cardiovascular disease in COVID-19. *Russian journal of cardiology.* 2021;26(S2):445 (In Russ.). doi:10.15829/1560-4071-2021-4456.
4. Chaulin A. M., Duplyakov D. V. Biomarkers of acute myocardial infarction: diagnostic and prognostic value. Part 1. Clinical practice. 2020;11(3):75–84. (In Russ.). doi:10.17816/clinpract34284.
5. Abdrakhmanova A. I., Amirov N. B., Tsibulkin N. A. C-reactive protein in acute coronary syndrome (literature review). *General Medicine.* 2020;4:83-85. (In Russ.). doi:10.24412/2071-5315-2020-12277.
6. Liu J., Liu Y., Xiang P., Pu L., Xiong Ch. Neutrophil-to-lymphocyte ratio predicts critical illness patients with 2019 coronavirus disease in the early stage. *Transl. Med.* 2020;18:1-12. doi:10.1186/s12967-020-02374-0.
7. Lasbleiz A., Gaborit B., Soghomonian A., Bartoli A. COVID-19 and Obesity: Role of Ectopic Visceral and Epicardial Adipose Tissues in Myocardial Injury. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2021;12:1-9. doi:10.3389/fendo.2021.72696.

8. Abugov S. A., Alekyan B. G., Arkhipov M. V., Barbarash O. L., Boytsov S. A. Acute myocardial infarction with elevation of the ST segment of the electrocardiogram. *Clinical guidelines 2020. Russian Society of Cardiology, Association of Cardiovascular Surgeons of Russia. Russian journal of cardiology.* 2020;25(11):4103. (In Russ.). doi:10.15829/1560-4071-2020-4103.
9. Shtygasheva O. V., Ageeva E. S., Puzakova Z. Yu., Pronkina K. V. Clinical and laboratory-radiological manifestation of COVID-19 among patients of the Republic of Khakassia in 2020. *Crimean Journal of Experimental and Clinical Medicine.* (In Russ.). doi:10.29039/2224-6444-2022-12-3-63-71.
10. Nikitina E. A., Meletev I. S., Soloviev O. V., Chicherina E. N. Predicting the risk of adverse cardiovascular events in the long-term period after an episode of acute coronary syndrome on the background of type 2 diabetes mellitus. *Cardiovascular therapy and prevention.* 2020;19(3):2357. (In Russ.). doi:10.15829/1728-8800-2020-2357.
11. Petrikov S. S., Ivannikov A. A., Vasilchenko M. K., Esaulenko A. N., Alidzhanova H. G. COVID-19 and the cardiovascular system. Part 1. Pathophysiology, pathomorphology, complications, long-term prognosis. *N.V. Sklifosovsky Journal Emergency Medical care.* 2021;10(1):14–26. (In Russ.). doi:10.23934/2223-9022-2021-10-1-14-26.
12. Verdecchia P., Cavallini C., Spanevello A., Angeli F. The Pivotal Link Between ACE2 Deficiency and SARS-CoV-2 Infection. *Eur. J. Internal Med.* 2020;76:14–20. doi:10.1016/j.ejim.2020.04.037.
13. de Andrade S. A., de Souza D. A., Torres A. L., de Lima C. F. G., Ebram M. C. [et al.]. Pathophysiology of COVID-19: Critical Role of Hemostasis. *Front Cell Infect Microbiol.* 2022;12:896972. doi:10.3389/fcimb.2022.896972.
14. Canto J., Kiefe C. I., Rogers W. J., Peterson E. D., Frederick P. D. [et al.]. Number of Coronary Heart Disease Risk Factors and Mortality in Patients With First Myocardial Infarction. *JAMA.* 2019;306(19):2120–2127. doi:10.1001/jama.2011.1654.
15. Harrison S. L., Buckley B. J. R., Rivera-Caravaca J. M., Zhang J., Lip G. Y. H. Cardiovascular risk factors, cardiovascular disease, and COVID-19: an umbrella review of systematic reviews. *Eur. Heart J. Qual. Care Clin. Outcomes.* 2021;7(4):330–339. doi:10.1093/ehjqcco/qcab029.
16. Chashchin M. G., Gorshkov A. Yu., Drapkina O. M. Acute coronary syndrome in patients with COVID-19. *Cardiovascular therapy and prevention.* 2021;20(5):2806. (In Russ.). doi:10.15829/1728-8800-2021-2806.
17. Khamitova A. F., Lakman I. A., Akhmetvaleev R. R., Tulbaev E. L., Gareeva D. F. Multivariate prognostic model in patients with myocardial infarction in the long term based on modern biomarkers. *Cardiology.* 2020;60(3):14–20. (In Russ.). doi:10.18087/cardio.2020.3.2593.
18. Saeed M., Faisal A. Differences in Clinical Nature and Outcome Among Young Patients Suffering from an Acute Coronary Syndrome. *J. Blood Med.* 2021;12:1011-1017. doi:10.2147/JBM.S336050.
19. Song C., Fu R., Dou K., Yang J., Xu H. Association between smoking and in-hospital mortality in patients with acute myocardial infarction: results from a prospective, multicentre, observational study in China. *BMJ Open.* 2019;9(8):1-7. doi:10.1136/bmjopen-2019-030252.
20. Shlyakho E. V., Konradi A. O., Arutyunov G. P., Arutyunov A. G., Bautin A. E. Myocardial infarction in patients with COVID-19. Guidelines for the diagnosis and treatment of circulatory system diseases in the context of the COVID-19 pandemic. *Russian journal of cardiology.* 2020;25(3):3801. (In Russ.). doi:10.15829/1560-4071-2020-3-3801.
21. Wang J, Li L., Ma N., Zhang X. Clinical investigation of acute myocardial infarction according to age subsets. *Exp. Ther. Med.* 2020;20(5):120. doi:10.3892/etm.2020.9248.
22. Lin J., Yan H., Chen H., He C., Lin C. [et al.]. COVID-19 and Coagulation Dysfunction in Adults: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J. Med. Virol.* 2021;93 (2):934–944. doi:10.1002/jmv.26346.
23. Magadam A., Kishore R. Cardiovascular Manifestations of COVID-19 Infection. *Cells.* 2020;9(11):2508. doi:10.3390/cells9112508.
24. Rodriguez-Ramos M. Effect of COVID-19 Pandemic on Performance Measures in Acute Myocardial Infarction. *Kardiologija.* 2020;61(3):52–56.
25. Zou F., Qian Z., Wang Y., Zhao Y., Bai J. Cardiac injury and COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *CJC Open.* 2020;2(5):386–394. doi:10.1016/j.cjco.2020.06.010.

ОСОБЕННОСТИ ПОЛУЧЕНИЯ ПЕРВИЧНОЙ КУЛЬТУРЫ МЕЛАНОМЫ МЫШЕЙ

Юрченко К. А.

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

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

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

Information about author:

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

РЕЗЮМЕ

Злокачественные меланоциты являются полезной моделью для изучения меланомы. Известно, что первичная культура клеток служит хорошей моделью, для изучения различных терапевтических подходов. Во времена персонализированной медицины, в особенности, в онкологии, требуется большое количество первичных опухолевых линий от пациентов, чтобы в дальнейшем проводить экспериментальные исследования препаратов *in vitro*, на модельных животных *in vivo*, а затем в клинических испытаниях. Однако, при культивировании первичной культуры возникают проблемы: низкое качество выделенных клеток, шок клеток из-за резкой смены среды, присутствие в клеточной культуре большого количества фибробластов, активно пролиферирующих при культивировании. Первичной культурой называют культуру клеток на стадии непосредственно после выделения клеток из образцов опухолевой ткани и до первого клеточного посева. Такую первичную культуру клеток, по-другому называют популяцией *ex vivo*. Микроокружение опухоли вызывает различные изменения в функциональности и фенотипе опухолевых клеток. Цель исследования – определить оптимальный метод для выделения первичной культуры, для культуры клеток меланомы мышей. Материал и методы. Исследование проведено на культуре клеток меланомы мышей Clone M-3. Также, для эксперимента были отобраны 6 мышей (12-18 г) из инбредной линии мышей BALB/c, самки, возрастом 3-4 месяца. Основными методами для исследования послужили: перевивка культуры клеток модельным животным, резекция образовавшейся опухоли, дезагрегация опухоли. Результаты. Выяснили, что при методе первичного экспланта, выход жизнеспособных клеток достоверно больше, чем при других методах дезагрегации опухоли. Обсуждение. Для определенной линии культуры клеток существует оптимальный метод выделения первичной культуры. У большинства перевиваемых клеточных линий при первом пассаже ухудшается пролиферативный потенциал, меняются культурально-морфологические свойства. Правильный выбор подходящего метода дезагрегации ткани и культивирования имеет особое значение для сохранения преимуществ и нежелательных эффектов в первичной культуре и в экспериментальных исследованиях. Заключение. В нашем эксперименте, наибольший выход меланоцитов из опухолевой ткани был при использовании первичного экспланта. Этот метод более длителен, по сравнению с ферментативной и механической дезагрегацией, но наиболее безопасен для клеток.

Ключевые слова: меланома, клеточная линия, первичная культура, культивирование

FEATURES OF OBTAINING A PRIMARY CULTURE OF MICE MELANOMA

Yurchenko K. A.

Laboratory of Molecular Genetics and Biotechnology, V. I. Vernadsky Crimean Federal University, Institute of Biochemical Technologies, Ecology and Pharmacy, Simferopol, Russia

SUMMARY

Malignant melanocytes are a useful model for studying melanoma. It is known that primary cell culture serves as a good model for studying various therapeutic approaches. In the era of personalized medicine, especially in oncology, a large number of primary tumor lines from patients is required in order to further conduct experimental drug studies *in vitro*, in animal models *in vivo*, and then in clinical trials. However, when cultivating a primary culture, problems arise: low quality of isolated cells, cell shock due to a sudden change in the environment, the presence in the cell culture of a large number of fibroblasts that actively proliferate during cultivation. Primary culture is the culture of cells at the stage immediately after the isolation of cells from tumor tissue samples and before the first cell seeding. Such a primary cell culture is otherwise called an *ex vivo* population. The tumor microenvironment causes various changes in the functionality and phenotype of tumor cells. The aim of the study - determine the optimal method for isolating the primary culture for the culture of mouse melanoma cells. Material and methods. The study was conducted on a mouse melanoma cell culture Clone M-3. Also, 6 mice (12-18 g) from the inbred line of BALB/c mice, females, 3-4 months old, were selected for the experiment. The main methods for the study were: transplantation of cell cultures into model animals, resection

of the resulting tumor, tumor disaggregation. Results. Found out that with the primary explant method, the yield of viable cells is significantly higher than with other methods of tumor disaggregation. Discussion. For a specific cell culture line, there is an optimal method for isolating the primary culture. In most transplanted cell lines, during the first passage, the proliferative potential deteriorates, and the cultural and morphological properties change. Proper selection of an appropriate tissue disaggregation and culture method is of particular importance to maintain benefits and adverse effects in primary culture and in experimental studies. Conclusion. In our experiment, the highest yield of melanocytes from tumor tissue was when using a primary explant. This method takes longer compared to enzymatic and mechanical disaggregation, but is the safest for cells.

Key words: melanoma, cell line, primary culture, cultivation

Метод первичного экспланта был впервые разработан в 1907 году [1]. Существует несколько видов дезагрегации опухолевой ткани: ферментативная, механическая, окончательное препарирование и метод первичного экспланта [2]. Если говорить о ферментативной дезагрегации ткани, то для нее используют протеолитические ферменты, трипсин, папаин, эластазу, гиалуронидазу, коллагеназу, проназу, аккутазу и дезоксирибонуклеазу [3]. Использование трипсина в большом количестве исследований на аутодермальных трансплантатах показало получение клеток с большей жизнеспособностью после трипсинизации [4], но существуют исключения клеточных культур, которым трипсин понижает жизнеспособность клеток, это клетки: карциномы кишечника [5], почек [6], островки поджелудочной железы. чем при использовании аккутазы [8]. Что касается механической дезагрегации, то этот процесс наиболее длителен по сравнению с трипсинизацией, но намного быстрее по сравнению с коллагенизацией, и невозможен риск протеолитического повреждения клеток [9, 10]. Метод первичного экспланта требует последовательного субкультивирования для получения первичных опухолевых клеточных линий [11]. Многие клетки различных типов можно культивировать подобрав правильные методики.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследования проведены с использованием оборудования Лаборатории молекулярной генетики и биотехнологий ФГАОУ ВО «КФУ им. В. И. Вернадского», института биохимических технологий, экологии и фармации с 2021 по 2022 год.

Клетки

В исследовании использовались клетки меланомы мышей Clone M-3. Клетки культивировали в питательной среде DMEM F-12 с добавлением 1% пенициллина/стрептомицина, 1% пировиноградной кислоты и 10% эмбриональной бычьей сыворотки (FBS). Трансплантацию клеток осуществляли с использованием фосфатно-солевого буферного раствора Дульбекко (DPBS) и трипсинизировали с последующей нейтрализацией трипсина приготовленной питательной средой.

Мыши и перевивание культуры клеток

Для эксперимента были отобраны 6 мышей (12-18 г) из инбредной линии мышей BALB/c, самки, возрастом 3-4 месяца.

Подготовку клеток к трансплантации мышам проводили следующим образом: клетки удаляли и подсчитывали, а затем центрифугировали. Полученный осадок с клетками (2×10^5 клетки) ресуспендировали в 500 мкл раствора Хэнка. Аликвоты приготовленной суспензии клеток меланомы вводили подкожно в межлопаточную область, располагая иглу шприца в горизонтальном положении.

На 18 сутки, после перевивки культуры клеток, образовались опухоли. Опухоли были крупными, мясистыми, темно-синего цвета.

Резекция опухоли

Эвтаназия мышей осуществлялась путем передозирования эфирного наркоза, с последующей декапитацией под наркозом. После этого, животное помещали на препаровальный лоток и фиксировали опухоль кверху. Опухоль обрабатывали антисептическими средствами, и вдоль нее проводили надрез кожного покрова. Данная злокачественная опухоль имела инкапсулированную структуру хорошо поддавалась изъятию из-под кожи при вскрытии. Опухоль помещали в стерильную пробирку, содержащую буфер DPBS.

Препарирование

Опухолевую ткань переносили в свежий стерильный раствор DPBS, в чашку Петри. Тщательно удаляли некротическое содержимое опухоли, жировые отложения и соединительную ткань. Полученную очищенную опухолевую ткань разделили на четыре части, для использования четырех методов дезагрегации ткани в первичную культуру.

Окончательное препарирование

Кусочки ткани размером 1 мм^3 промывали стерильным раствором DPBS. С помощью стерильного пинцета, переносили кусочки в стерильную центрифужную пробирку и давали кусочкам осесть. Далее ресуспендировали кусочки ткани в DPBS 10 раз. Переносили кусочки в культуральный флакон 25 см^2 ростовой поверхности и добавляли 2 мл ростовой среды. Ростковая среда состояла из питательной среды DMEM F-12

с добавлением 1% антибиотиков пенициллин/стрептомицин, 1% пиروвиноградной кислоты и 10% эмбриональной телячьей сыворотки. Флаконы помещали в инкубатор при 37°C и 5% CO₂ на сутки.

Механическая дезагрегация

Кусочки ткани размером 1 мм³ промывали стерильным раствором DPBS. С помощью протирания через сито для клеток получали дисперсную культуру, переносили ее в культуральный флакон 25 см² ростовой поверхности и добавляли 1 мл ростовой среды.

Ферментативная дезагрегация

1. Теплым трипсином

Кусочки ткани размером 1 мм³ промывали стерильным раствором DPBS. С помощью стерильного пинцета, переносили кусочки в стерильную центрифужную пробирку и давали кусочкам осесть. Далее ресуспендировали кусочки ткани в DPBS 10 раз. Далее кусочки опухолевой ткани переносили в стерильную пробирку содержащую 2 мл 2,5% трипсина и перемешивали в течение нескольких часов. Далее содержимое переливали в центрифужную пробирку и центрифугировали 100 об/мин при 37°C. Диссоциированные клетки собирали каждые полчаса. К оставшимся недиссоциированным кусочкам добавляли свежий трипсин для лучшего выхода клеток. Полученную суспензию клеток высевали во флаконы с 25 см² ростовой поверхности и добавляли 3 мл ростовой среды.

2. Холодным трипсином

Кусочки ткани размером 1 мм³ промывали стерильным раствором DPBS. С помощью стерильного пинцета, переносили кусочки в стерильную центрифужную пробирку и давали кусочкам осесть. Далее ресуспендировали кусочки ткани в DPBS 10 раз. Сливали надосадочную жидкость и добавляли охлажденный до 4°C 2 мл 2,5% трипсина. Инкубировали 18 часов при 4°C. После инкубации отбирали диссоциированные клетки и высевали во флаконы с 25 см² ростовой поверхности и добавляли 3 мл ростовой среды.

Статистический анализ

Для всех количественных параметров определяли среднее арифметическое, стандартное отклонение и ошибку среднего. Для расчета сравнения средних использовался t-критерий Стьюдента. Использование средних значений и стандартного отклонения. Различия считали значимыми, если $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В нашем исследовании по получению первичной культуры меланомы мышей мы выделили три главных метода: ферментативная, механическая дезагрегация и метод первичного экспланта.

В ходе эксперимента производили контроль пересева на 24, 36, 42 и 54 часа. Из полученных данных (рисунок 1), при теплой трипсинизации жизнеспособными оставались только $5 \pm 1,01 (\times 10^4)$ клеток после суток пересева, в то время как в холодной $8 \times 10^4 \pm 9 \times 10^3$. Спустя 54 часа после начала эксперимента клетки после холодной трипсинизации начали погибать и достигли $8 \pm 1 (\times 10^4)$ клеток. В результате этого, можно сказать, что после 54 ч эксперимента клетки меланомы теряют свою пролиферативную активность. Пик пролиферации клеток при теплой трипсинизации достигали через 42 часа от начала пассажа, со снижением к 54 часам. Возможно, понижение пролиферативной активности клеток меланомы через 54 часа от начала эксперимента происходит из-за изначально малого выхода клеток из опухолевой ткани путем ферментативных дезагрегаций.

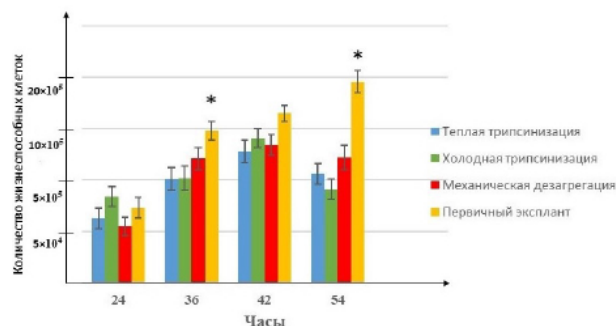


Рис. 1. Количество жизнеспособных клеток при разных способах дезагрегации. Примечание: *достоверная разница по сравнению с другими (теплой, холодной, механической) методами дезагрегации ($p < 0,05$); значения показаны со средними значениями и SE.

Fig. 1. Number of viable cells for different disaggregation methods. Note: *significant difference compared to other (warm, cold, mechanical) disaggregation methods ($p < 0.05$); values are shown with means and SE.

При механической дезагрегации выход клеток на первые сутки составлял $5 \times 10^5 \pm 6 \times 10^3$, а при первичном экспланте $7 \times 10^5 \pm 7 \times 10^3$, что в свою очередь показывает высокое количество выхода клеток, по сравнению с ферментативной дезагрегацией. На 36 часов и 54 часов после эксперимента выход клеток достоверно ($p > 0,05$) увеличился по сравнению с другими видами дезагрегации.

В нашем эксперименте большую часть экспланта удаляли уже после суток нахождения в культуральном флаконе, чтоб избежать контаминации (рис. 2).

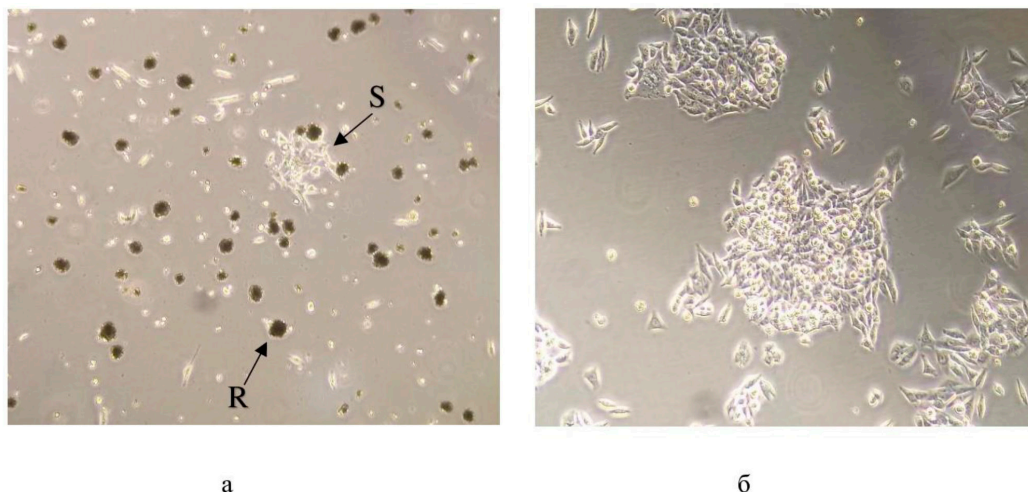


Рис. 2. а – распространение клеток из прилипших фрагментов после выхода клеток из первичного экспланта на 2 сутки после посева: S – скопление вышедших из экспланта клеток, R – остатки экспланта; б – клетки после удаления остатков экспланта, через 5 дней после эксплантации. Меланоциты представляли собой удлиненную веретенообразную форму. Фазовый контраст. Объектив 4X.

Fig. 2. а – spread of cells from adherent fragments after cells exit the primary explant on day 2 after seeding: S – accumulation of cells emerging from the explant, R – remains of the explant; б – cells after removal of explant remnants, 5 days after explantation. Melanocytes were elongated, spindle-shaped. Phase contrast 4X.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Дезагрегация ткани в первичную культуру составляет важную стадию в культивировании клеток. Большой выход клеток из опухолевой ткани можно получить при правильном подборе метода. В нашем эксперименте, наибольший выход меланоцитов из опухолевой ткани был при использовании первичного экспланта. Этот метод более длителен, по сравнению с ферментативной и механической дезагрегацией, но наиболее безопасен для клеток. Но и при использовании первичного экспланта есть риск контаминации. Некоторые исследователи считают, что диссоциация опухолевой ткани с использованием механических методов приводит к гибели клеток и не подходит для получения опухолевых клеток и введения их в первичную культуру [12-14]. Если сравнить механическую и ферментативную диссоциацию глиобластомы, некоторые исследователи отдают предпочтение ферментативным методам, получая клетки с более высокой миграционной активностью [12; 14].

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

Финансирование. Работа выполнена на средства государственного задания В.И. Вернадского на 2021 год и плановый период 2022–2023 годов FZEG-2021-0009 («Разработка олигонуклеотидных конструкций для создания селективных и высокоэффективных лекарственных средств для

медицины и сельского хозяйства», регистрационный номер 121102900145-0).

Funding. This research was funded by state assignment V.I. Vernadsky Crimean Federal University for 2021 and the planning period of 2022–2023 No. FZEG-2021-0009 (“Development of oligonucleotide constructs for making selective and highly effective drugs for medicine and agriculture”, registration number 121102900145-0).

ЛИТЕРАТУРА

1. Ambrose C. T. An amended history of tissue culture: Concerning Harrison, Burrows, Mall, and Carrel. *J Med Biogr.* 2019;27(2):95-102. doi:10.1177/0967772016685033.
2. Фрешни Р. Я. Культура животных клеток. Практическое руководство. Перевод с 5-го английского издания. Москва: Бином. Лаборатория знаний; 2011.
3. Li W. C., Ralphs K. L., Tosh D. Isolation and culture of adult mouse hepatocytes. *Methods Mol Biol.* 2010;633:185-96. doi:10.1007/978-1-59745-019-5_13.
4. Skog M., Sivilér P., Steinvall I., Aili D., Sjöberg F., Elmasry M. The Effect of Enzymatic Digestion on Cultured Epithelial Autografts. *Cell Transplant.* 2019;28(5):638-644. doi:10.1177/0963689719833305.
5. Speirs V., Green A. R., White M. C. A comparative study of cytokine gene transcripts in normal and malignant breast tissue and primary cell cultures derived from the same tissue samples. *Int Journal of Cancer.* 1996;551-556. doi:10.1002/

- (SICI)1097-0215(19960516)66:4<551::AID-IJC21>3.0.CO;2-9.
6. Chen W-T. Proteolytic activity of specialized surface protrusions formed at rosette contact sites of transformed cells. 1989;167-185. doi: 10.1002/jez.1402510206.
 7. Heald K. A., Hail C. A., Drowning R. Isolation of islets of Langerhans from the weanling pig. *Diabetes Res.* 1991;17:7-12.
 8. Skog M., Sivilér P., Steinvall I., Aili D., Sjöberg F., Elmasry M. The Effect of Enzymatic Digestion on Cultured Epithelial Autografts. *Cell Transplant.* 2019;28(5):638-644. doi:10.1177/0963689719833305.
 9. Lasfargues E. Y., Coutinho W. G., Lasfargues J. C., Moore D. H. A serum substitute that can support the continuous growth of mammary tumor cells. *In Vitro.* 1973;8(6):494-500. doi:10.1007/BF02615953.
 10. Hayflick L., Moorhead P. S. The serial cultivation of human diploid cells strains. *Exp Cell. Res.* 1961;25:585-21. doi:10.1016/0014-4827(61)90192-6.
 11. Mitra A., Mishra L., Li S. Technologies for deriving primary tumor cells for use in personalized cancer therapy. *Trends Biotechnol.* 2013 Jun;31(6):347-354. doi:10.1016/j.tibtech.2013.03.006
 12. Межевова И. В., Ситковская А. О., Кит О. И. Первичные культуры опухолевых клеток: современные методы получения и поддержания in vitro. Южно-Российский онкологический журнал/ South Russian Journal of Cancer. 2020;1(3):36-49. doi:10.37748/2687-0533-2020-1-3-4.
 13. Cunningham R. E. Tissue disaggregation. *Methods Mol. Biol.* 2010;588:327-330. doi:10.1007/978-1-59745-324-0_32.
 14. Skarkova V., Krupova M., Vitovcova B., Skarka A., Kasparova P., Krupa P. The Evaluation of Glioblastoma Cell Disso-ciation and Its Influence on Its Behavior. *Int J Mol Sci.* 2019 Sep 18;20(18):4630. doi:10.3390/ijms20184630.
 15. Skog M., Sivilér P., Steinvall I., Aili D., Sjöberg F., Elmasry M. The Effect of Enzymatic Digestion on Cultured Epithelial Autografts. *Cell Transplant.* 2019;28(5):638-644. doi:10.1177/0963689719833305.
 16. Chen W-T. Proteolytic activity of specialized surface protrusions formed at rosette contact sites of transformed cells. 1989;167-185. doi: 10.1002/jez.1402510206.
 17. Heald K. A., Hail C. A., Drowning R. Isolation of islets of Langerhans from the weanling pig. *Diabetes Res.* 1991;17:7-12.
 18. Skog M., Sivilér P., Steinvall I., Aili D., Sjöberg F., Elmasry M. The Effect of Enzymatic Digestion on Cultured Epithelial Autografts. *Cell Transplant.* 2019;28(5):638-644. doi:10.1177/0963689719833305.
 19. Lasfargues E. Y., Coutinho W. G., Lasfargues J. C., Moore D. H. A serum substitute that can support the continuous growth of mammary tumor cells. *In Vitro.* 1973; 8(6):494-500. doi:10.1007/BF02615953.
 20. Hayflick L., Moorhead P. S. The serial cultivation of human diploid cells strains. *Exp Cell. Res.* 1961;25:585-21. doi:10.1016/0014-4827(61)90192-6.
 21. Mitra A., Mishra L., Li S. Technologies for deriving primary tumor cells for use in personalized cancer therapy. *Trends Biotechnol.* 2013 Jun;31(6):347-354. doi:10.1016/j.tibtech.2013.03.006
 22. Mezhevoval I.V., Sitkovskaya A.O., Kit O.I. Primary tumor cell cultures: current methods of obtaining and subcultivation. *South Russian Journal of Cancer.* 2020;1(3):36-49. doi:10.37748/2687-0533-2020-1-3-4. (In Russ.).
 23. Cunningham R. E. Tissue disaggregation. *Methods Mol. Biol.* 2010;588:327-330. doi:10.1007/978-1-59745-324-0_32.
 24. Skarkova V., Krupova M., Vitovcova B., Skarka A., Kasparova P., Krupa P. The Evaluation of Glioblastoma Cell Disso-ciation and Its Influence on Its Behavior. *Int J Mol Sci.* 2019 Sep 18;20(18):4630. doi:10.3390/ijms20184630.

REFERENCES

1. Ambrose C. T. An amended history of tissue culture: Concerning Harrison, Burrows, Mall, and Carrel. *J Med Biogr.* 2019;27(2):95-102. doi:10.1177/0967772016685033.
2. Freshni R. Y. Culture of animal cells. Practical guide. Translated from the 5th English edition. Moscow: Binom. Knowledge Lab; 2011. (In Russ.).
3. Li W. C., Ralphs K. L., Tosh D. Isolation and culture of adult mouse hepatocytes. *Methods Mol*

УДК: 618.19-006:616.151.5:575

DOI: 10.29039/2224-6444-2023-13-3-73-80

РОЛЬ ГЕНА *BRCA1*, АССОЦИИРОВАННОГО С РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ В МОДУЛЯЦИИ ОКСИДАТИВНОГО ГОМЕОСТАЗА

Шатохина А. С.^{1,2}, Быков И. М.¹, Попов К. А.¹, Курзанов А. Н.¹, Цыган Н. А.², Бабкин Р. А.³

¹ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» МЗ РФ (ФГБОУ ВО КубГМУ), 350063, ул. Митрофана Седина 4, Краснодар, Россия

²ГБУЗ КОД №1 МЗ Краснодарского края, 350040, ул. Димитрова, 146/Бургасская 11, Краснодар, Россия

³ГБУЗ «ГП №7 г. Краснодара» МЗ Краснодарского края, 350063, ул. им. Пушкина, 51, Краснодар, Россия

Для корреспонденции: Курзанов Анатолий Николаевич, доктор медицинских наук, профессор кафедры фундаментальной и клинической биохимии ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России, e-mail: kurzanov@mail.ru

For correspondence: Anatoliy N. Kurzanov, MD, Professor of the department of fundamental and clinical biochemistry Kuban state medical university, e-mail: kurzanov@mail.ru

Information about authors:

Shatokhina A. S., <https://orcid.org/0000-0001-7719-370X>

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

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

Kurzanov A. N., <http://orcid.org/0000-0002-0566-256X>

Tsygan N. A., <http://orcid.org/0000-0002-9783-6423>

Babkin R. A., <http://orcid.org/0009-0008-7522-1920>

РЕЗЮМЕ

В обзоре представлены существующие в современной литературе сведения о модуляции оксидативного гомеостаза у больных раком молочной железы, ассоциированного с геном *BRCA1*. Ген *BRCA1* важен для поддержания адекватного для организма состояния оксидативного гомеостаза. Любой дефект в гене *BRCA1* может увеличивать продукцию АФК и нарушать клеточный окислительно-восстановительный статус. Потеря функции *BRCA1* приводит к дефектам репарации ДНК и увеличению количества АФК, что представляет угрозу стабильности генома. Белок *BRCA1* участвует в поддержании целостности генома посредством процессов репарации ДНК, а также в ответе на окислительный стресс. Роль белка *BRCA1* в защите клеток от оксидативного стресса обеспечивается посредством множественной активации экспрессии генов, ответственных за цитопротекторный антиоксидантный ответ. Приведены данные, что гиперэкспрессия гена/белка *BRCA1* приводит к повышению устойчивости клеток к действию агентов-окислителей, а его дефицит, наоборот, усиливает чувствительность к воздействию оксидативных факторов. Представлена информация о роли *BRCA1* в молекулярных механизмах, участвующих в Nrf2-зависимой передаче сигналов, индуцирующих экспрессию большого набора генов, модулирующих восстановление окислительно-восстановительный баланса. По нашему мнению, приведенная в данном обзоре информация позволяет лучше понимать роль гена *BRCA1* и кодируемого им белка *BRCA1* в реакции на окислительный стресс и в модуляции окислительно-восстановительного гомеостаза, а также биохимические и патофизиологические аспекты участия *BRCA1* в этих процессах. Роль *BRCA1* как сенсора и регулятора АФК имеет потенциально важные последствия для профилактики и/или лечения *BRCA1*-ассоциированных онкозаболеваний.

Ключевые слова: оксидативный гомеостаз, окислительный стресс, рак молочной железы, ген *BRCA1*.

ROLE OF BREAST CANCER ASSOCIATED GENE *BRCA1* IN MODULATION OF OXIDATIVE HOMEOSTASIS

Shatokhina A. S.^{1,2}, Bykov I. M.¹, Popov K. A.¹, Kurzanov A. N.¹, Tsygan N. A.², Babkin R. A.³

¹Kuban state medical university, Krasnodar, Russia

²City Hospital №1 of the Health Ministry of the Krasnodar Region, Krasnodar, Russia

³City Hospital №7 of the Health Ministry of the Krasnodar Region, Krasnodar, Russia

SUMMARY

The summary presents a current literature review on modulation of oxidative homeostasis in patients with breast cancer associated with gene *BRCA1*. Gene *BRCA1* is important for maintaining an adequate condition of oxidative homeostasis. Any defects in gene *BRCA1* can increase the ROS production and distort the cell oxidative reparatory status. Lost *BRCA1* function leads to defects in DNA reparation and higher ROS level, which puts at risk the genome stability. Protein *BRCA1* participates in maintenance of genome integrity by means of DNA reparation processes, as well as in responding to oxidative stress. The role of protein *BRCA1* in cell protection against oxidative homeostasis stress is fulfilled by multiple activation of gene expression, responsible for cytoprotective antioxidant response. The summary includes information about the hyperexpression of gene/protein *BRCA1* causing higher cell resistance against oxidizing agents, and about its deficit that, on the contrary, induces sensibility to oxidative homeostasis factors. The overview also notes the *BRCA1*'s role in molecular mechanisms that participate in Nrf2-dependent signals transmission, which induce expression of a large number of genes, modulating the recovery of oxidative reparatory

balance. In our opinion, facts provided in this overview, let better understand the role of gene *BRCA1* and the coded protein *BRCA1*, in the reaction to oxidative stress and in modulation of oxidative reparatory homeostasis, as well as biochemical and pathophysiological aspects of *BRCA1*'s participation in these processes. The role of *BRCA1* as a sensor and regulator of ROS, has potentially important consequences for prevention and/or treatment of *BRCA1*-associated cancer diseases.

Key words: oxidative homeostasis, oxidative stress, breast cancer, gene *BRCA1*.

Ген *BRCA1*, кодирующий белок предрасположенности к раку молочной железы 1 типа (*BRCA1*).

Ген *BRCA1*, состоящий из 24 экзонов, кодирует большой белок *BRCA1* (breast cancer type 1 susceptibility protein) из 1863 аминокислот. Этот белок состоит из нескольких доменов, которые необходимы для его многочисленных функций и взаимодействует с многочисленными белками, участвующими во многих важных биологических процессах. Центральная часть белка *BRCA1* кодируется экзонами 11-13 гена *BRCA1*, и мутации в этих областях часто обнаруживаются у больных раком молочной железы (РМЖ). Эти части состоят из двух сигналов ядерной локализации и одного спирального домена, который важен для взаимодействия с *BRCA2* через партнера и локализатора *BRCA2* (*PALB2*) [1]. В гене *BRCA1* было идентифицировано более 1600 мутаций, включая делеции, вставки и множество однонуклеотидных полиморфизмов в кодирующих и некодирующих последовательностях [2]. Около 70-80% мутаций в генах *BRCA1/2* приводят к дисфункции белка или выключению его синтеза. Эти мутации были подтверждены как клинически значимые и связаны с повышенным риском развития наследственных злокачественных новообразований [3].

Белок *BRCA1* играет роль в различных клеточных событиях, включая контроль клеточного цикла, поддержание целостности генома, и регуляцию транскрипции. Все эти функции *BRCA1* могут вместе участвовать в подавлении онкогенеза. *BRCA1* представляет собой белок-супрессор опухоли, в первую очередь ответственный за восстановление повреждений ДНК в клетках молочной железы и других тканях, что и определило его существующее название – белок предрасположенности к раку молочной железы 1 типа (*BRCA1*). Однако точные механизмы функционирования белка *BRCA1*, как супрессора опухоли, до сих пор полностью не изучены [4].

Различные мутации гена *BRCA1* сопровождаются плейотропными эффектами, включая задержку роста, апоптоз, дефектную репарацию повреждений ДНК, амплификацию центросом, потерю контрольной точки G2/M клеточного цикла, генетическую нестабильность и преждевременное старение. Дефицит *BRCA1* приводит к дефектам в контрольных точках клеточного цикла. В сочетании с аномальной дупликацией цен-

тросом и дефектным восстановлением повреждений ДНК это может вызывать генетическую нестабильность в клетках с дефицитом *BRCA1*. Генетическая нестабильность, в свою очередь, запускает серию физиологических реакций, наиболее быстро реакцию на повреждение ДНК и апоптоза из-за активации проапоптотических сигналов. С другой стороны, отсутствие *BRCA1* допускает дальнейшие генетические изменения, включая дальнейшие мутации супрессоров опухолей и активацию онкогенов, которые в конечном итоге приводят к образованию РМЖ.

Было показано, что многие сотни белков физически или генетически взаимодействуют с *BRCA1*, вовлекая его во многие сигнальные пути, которые можно считать основополагающими для развития рака и реакции на медикаментозную терапию [5]. Мутации *BRCA1* сопровождаются усилением окислительного стресса и гликолиза в микроокружении опухоли [6]. Зародышевые мутации гена *BRCA1* связаны с нестабильностью генома и повышенным риском многих других типов рака. Геномная нестабильность является благоприятным фоном для онкогенной трансформации неопухолевых клеток в клетки, инициирующие опухоль, и дальнейшей эволюции опухоли. Большинство мутаций гена *BRCA1* препятствуют синтезу белка *BRCA1* (из-за усеченных мутаций или миссенс-мутаций) [7] и большинство случаев РМЖ ассоциированного с мутацией *BRCA1* демонстрируют потерю ядерной экспрессии *BRCA1*, что связано с худшим прогнозом [8]. Потеря экспрессии *BRCA1* также очень распространена при спорадическом РМЖ из-за эпигенетических или посттрансляционных модификаций и чаще всего наблюдается при РМЖ с базальноподобным фенотипом [9; 10]. Таким образом, считается, что снижение уровня экспрессии белка *BRCA1* является движущей силой общего фенотипа между спорадическим базальноподобным РМЖ и семейным РМЖ с мутациями *BRCA1*.

Мутации в гене *BRCA1* с потерей функции белка-супрессора опухоли *BRCA1* являются причиной 5-10% случаев РМЖ и обуславливают повышенный риск развития рака яичников у женщин, а также предрасполагают к возникновению у мужчин рака предстательной железы [11]. Данные [12] показали важную супрессорную функцию *BRCA1* также в развитии рака пищевода и желудка. Утрата функций *BRCA1* приводит

к нестабильности генома, что в конечном итоге приводит к онкогенной трансформации неканцерогенных клеток в клетки, инициирующие опухоль, или раковые стволовые клетки и дальнейшей эволюции опухоли [11]. Изучение Шведской базы данных о семейных случаях рака, которая содержала сведения о 944 723 семьях, включающих более 10 миллионов человек по крайней мере в трех поколениях, позволило подтвердить, что у носителей мутации *BRCA1* или мутации *BRCA2* повышен риск развития рака яичников, поджелудочной железы, простаты или желудка. Поскольку эти опухоли характеризуются высокой нестабильностью генома, отсутствие репарации ДНК в результате инактивации *BRCA1* считается основной причиной образования опухоли.

Роль нарушений окислительно-восстановительного гомеостаза в развитии различных заболеваний человека.

Известно, что активные формы кислорода (АФК) продуцируются в нормальных клетках контролируемым образом и играют важную роль в широком спектре физиологических процессов, действуя как важные сигнальные частицы для регулирования различных клеточных функций [13; 14]. На уровне от низкого до умеренного АФК играют важную роль в нормальных клеточных процессах, выступая в качестве регуляторов транскрипции и вторичных мессенджеров во внутриклеточных сигнальных каскадах, которые опосредуют рост клеток, аутофагию, воспалительную и иммунную функции и способствуют общей регуляции окислительно-восстановительного потенциала [14; 15]. Однако высокие уровни АФК могут быть мощными окислителями, губительными для клетки при хроническом воздействии. Неконтролируемая генерация АФК, нарушение баланса между их образованием и нейтрализацией приводит к структурно-функциональным изменениям, определяемым, как окислительный стресс [16], приводящий к нарушению клеточных функций и развитию различных заболеваний человека [17; 18]. Избыточная продукция АФК, формирующая постоянное состояние окислительного стресса способствует повреждению ДНК, что приводит к активации онкогенов, инактивации генов-супрессоров опухолей и может вызывать мутации, инициирующие онкогенез [19; 20]. АФК играют сложную роль в развитии и прогрессировании рака [21]. Повышенный синтез АФК приводит к окислительному повреждению белков, липидов и ДНК, что является непосредственной причиной возникновения и прогрессирования рака молочной железы (РМЖ) и других злокачественных новообразований. Действительно, нарушения окислительно-восстановительного баланса и тяжелые

окислительные повреждения наблюдались как в сыворотке/плазме, так и в ткани опухоли у больных РМЖ [22].

Окислительно-восстановительный гомеостаз имеет основополагающее значение для поддержания нормальных клеточных функций и обеспечения выживания раковых клеток с aberrантным метаболизмом. АФК при раке человека имеют черты Януса: неконтролируемая продукция АФК ускоряет канцерогенез в нормальных клетках. Повышенные уровни АФК могут быть протуморогенными и индуцировать образование опухолей благодаря своим мутагенным свойствам. В то же время высокие уровни АФК могут непосредственно индуцировать апоптотическую гибель раковых клеток [23; 24] и тем самым ограничивать образование опухолей. Так известно, что инверсия опухолевого энергетического метаболизма, имеющего преимущественно анаэробный характер, на аэробные пути ведет к интенсификации свободнорадикальных процессов и гибели опухолевых клеток.

Таким образом, было продемонстрировано, что снижение внутриклеточных уровней АФК за счет действия антиоксидантной сигнализации способствует трансформации клеток и различным онкогенным фенотипам. Показано [25], что в высокоинвазивных опухолевых клетках молочной железы, таких как MDA-MB-231, механизмы, которые регулируют внутриклеточные уровни АФК, участвуют в ингибировании как инвазии, так и миграции посредством дефицита отрицательного гена-регулятора антиоксидантного клеточного ответа.

Чтобы сохранить хрупкий баланс между полезными и вредными эффектами АФК, живые организмы развили механизмы клеточной защиты от окислительного стресса для поддержания окислительно-восстановительного гомеостаза. Изменения в окислительно-восстановительном статусе могут привести к активации транскрипции путей и ферментов, участвующих в детоксикации, транспорте и элиминации АФК [26]. Системы антиоксидантной защиты развились как средство защиты от окислительного стресса. Ядерный фактор, связанный с эритроидом 2, фактор 2 (Nrf2) является основным регулятором транскрипции клеточных ответов против окислительного стресса. Nrf2 регулирует экспрессию множества генов антиоксидантов и отвечает за регулирование обширной группы антиоксидантных ферментов, участвующих в детоксикации и устранении окислительного стресса. Транскрипционный фактор Nrf2 строго регулируется убиквитинированием, опосредованным Keap1 (KELCH-подобным ECH-ассоциированным белком 1).

Когда клетки подвергаются окислительному стрессу нарушается стабильность их генома. Окислительный стресс связан почти со всеми основными заболеваниями человека, от нейрогенеративных заболеваний и нервно-психических расстройств до сердечно-сосудистых заболеваний, диабета и рака. Раковые клетки используют окислительный стресс для поддержания пролиферативного и агрессивного фенотипа. Фактически увеличение продукции АФК или снижение их утилизации влияет на все признаки рака, от нестабильности генома до клеточного метаболизма, ангиогенеза, инвазии и метастазирования. Поскольку окислительный стресс вызывает канцерогенез из-за нестабильности генома посредством повреждения ДНК и неконтролируемой клеточной пролиферации, регуляция ответа на окислительный стресс с помощью *BRCA1* может представлять собой механизм *BRCA1* опосредованного подавления опухоли [27].

Роль *BRCA1* в модуляции окислительного стресса.

Хотя ген *BRCA1* исследуется почти 30 лет и многие его функции и ассоциированные с ним явления детально охарактеризованы во многих работах ученых разных стран, однако то, как он участвует в регуляции окислительно-восстановительного гомеостаза, остается недостаточно изученным и нуждается в дальнейшем выяснении. Была обнаружена потенциально важная функция гена *BRCA1*, ассоциированного с раком молочной железы, в модуляции окислительного стресса. Роль гена *BRCA1* и кодируемого им белка *BRCA1* в регуляции окислительно-восстановительного гомеостаза менее известна, чем другие его функциональные аспекты. Однако появляется все больше свидетельств того, что *BRCA1* активно регулирует АФК в ответ на окислительный стресс на нескольких уровнях. Утверждается, что роль этого гена в ответе на окислительный стресс, заключается в индукции экспрессии антиоксидантных ферментов [6; 28; 29]. Одна из основных функций белка *BRCA1* – защита клеток от окислительного стресса. Влияние *BRCA1* на окислительный стресс может быть либо прямое, либо косвенное. Сверхэкспрессия *BRCA1* участвует в регуляции окислительного стресса посредством подавления продукции АФК и снижения их внутриклеточных уровней [30; 31]. Сообщалось, что *BRCA1* косвенно защищает от окислительного стресса, регулируя связанную с транскрипцией репарацию повреждений ДНК, вызванных действием окислительных факторов [32]. Роль *BRCA1* в качестве сенсора и регулятора АФК имеет важное значение в формировании опухолей, связанных с *BRCA1*. Показано, что дефицит экспрессии гена *BRCA1* вызывает

избыток продукции внутриклеточных АФК и повышает чувствительность клеток к окислительному стрессу [33]. В контексте окислительного стресса избыточная экспрессия *BRCA1* в клетках РМЖ человека активирует несколько антиоксидантных генов и снижает вызванное оксидантами повреждение ДНК и апоптоз [30; 34]. Раковые клетки имеют более высокие уровни АФК, чем нормальные клетки, из-за генетических и метаболических изменений. Раковые клетки увеличивают количество АФК для активации протуморогенной передачи сигналов, одновременно активируя антиоксидантные пути для поддержания окислительно-восстановительного гомеостаза [35]. Среди ранее охарактеризованных клеточных дефектов, вызванных дефицитом *BRCA1*, таких как отсутствие репарации ДНК и нарушения клеточного цикла, высокий окислительный стресс может представлять собой еще один барьер, предотвращающий трансформацию клеток с дефицитом *BRCA1*.

Белок *BRCA1* способен защищать клетки от окислительного стресса посредством множественной активации экспрессии генов, ответственных за цитопротекторный антиоксидантный ответ. В их числе – гены, кодирующие ферменты глутатионтрансферазу и глутатионредуктазу, а также другие антиоксидантные гены. Установлено, что в условиях *in vitro* гиперэкспрессия гена/белка *BRCA1* приводит к повышению устойчивости клеток к действию агентов-окислителей, а его дефицит, наоборот, усиливает чувствительность к воздействию окислительных факторов. Используя проточную цитометрию и конфокальную микроскопию Saha T., et al. (2009) показали, что *BRCA1* регулирует внутриклеточные уровни АФК в нескольких клеточных линиях карциномы молочной железы и в неопухоловой линии эпителиальных клеток молочной железы человека. Мутации, связанные с РМЖ (Т300G или С61G), аннулировали способность *BRCA1* снижать уровень АФК, а экспрессия мутантного белка Т300G фактически увеличивала уровни АФК, повышая вероятность того, что мутантный белок действует как доминантно-негативный.

Более того, показано, что при окислительном стрессе (вызванном, в частности, перекисью водорода) белок *BRCA1* значимо влияет на окислительно-восстановительный внутриклеточный статус, повышая соотношение восстановленной и окисленной форм глутатиона. Из белков, гиперэкспрессированных в высокометастатических линиях РМЖ, интерес представляет супероксиддисмутаза (СОД). Супероксид является одним из основных прооксидантов в клетке, поэтому СОД играет ключевую роль в антиоксидантной защите организма. Изменение уровня О-2•

и H_2O_2 в митохондриях модулирует молекулярные механизмы апоптоза, клеточной адгезии и пролиферации клеток и, следовательно, играет ключевую роль в развитии рака. Обнаружено, что нарушение функции гена СОД связано с высоким риском развития РМЖ и рака яичников. *BRCA1* также снижал уровни нитрования белков и H_2O_2 -индуцированных 8-оксогуаниновых повреждений в ДНК, двух показателей окислительного повреждения клеточных макромолекул. *BRCA1*-опосредованное снижение уровней белкового нитротирозина наблюдалось как в карциномных, так и в неопухолевых клеточных линиях. Это снижение может быть связано с *BRCA1*-опосредованным снижением уровней ионов супероксида. Таким образом, *BRCA1* может защищать целостность клеточных макромолекул. Результаты исследований показали, что потеря эндогенного белка *BRCA1*, которая обычно наблюдается при спорадическом РМЖ достаточна, чтобы вызвать повышение уровня АФК при онкотрансформации клеток и, таким образом, может способствовать развитию РМЖ.

Предполагается, что *BRCA1* также участвует в регуляции окислительно-восстановительного гомеостаза клеток посредством регуляции фактора транскрипции Nrf2, индуцирующего экспрессию большого набора генов, которые восстанавливают окислительно-восстановительный баланс и смягчают повреждение от АФК [27; 36]. Показано, что *BRCA1* регулирует Nrf2-зависимую антиоксидантную передачу сигналов, физически взаимодействуя с Nrf2 и способствуя его стабильности и активации. Фактор транскрипции Nrf2 (nuclear factor erythroid 2-related factor 2) регулирует транскрипцию антиоксидантных и детоксифицирующих ферментов, которые представляют собой мощную защитную систему клетки [37]. Nrf2 является основным регулятором клеточного гомеостаза, который контролирует экспрессию более 1% генов человека, связанных с реакциями биотрансформации, окислительно-восстановительным гомеостазом, энергетическим метаболизмом, репарацией ДНК и протеостазом. Nrf2 активируется окислительными стрессорами и электрофильными агентами, обеспечивая адаптацию к стрессу путем положительной регуляции клеточной антиоксидантной защиты и других метаболических процессов и контролируя при различных видах стресса экспрессию более 200 генов, таких, например, как гены глутатион-трансферазы, СОД, гемоксигеназы-1, каталазы, NAD(P)H: хинон оксидоредуктазы 1. Нарушения механизмов антиоксидантной защиты (уменьшение восстановленного глутатиона, повышение активности СОД, снижение активности глутатионпероксидазы) и выраженности окислитель-

ного повреждения клеток (увеличение содержания МДА, карбонильных групп белков, 8-OHdG) наблюдались в сыворотке крови больных *BRCA1*-зависимым РМЖ [22; 38], что свидетельствует о *BRCA1*-индуцированной трансформации окислительного гомеостаза.

Экспрессия *BRCA1* обеспечивает защиту от ишемического/реперфузионного повреждения за счет активации Nrf2-опосредованного антиоксидантного пути [39], а первичные эпителиальные клетки молочной железы мышей с дефицитом *BRCA1* демонстрируют низкую экспрессию Nrf2-регулируемых антиоксидантных ферментов и повышенные уровни АФК, связанные со снижением выживаемости. Также продемонстрировано, что антиоксидантная передача сигналов Nrf2 дефектна в клетках опухоли молочной железы человека с мутацией *BRCA1* [40]. Исследование [40] дает новое представление об онкогенезе, связанном с *BRCA1*, посредством регуляции окислительного стресса. Исследование первичных и иммортализованных эпителиальных клеток молочной железы мыши и человека с дефицитом *BRCA1* показало, что дефицит *BRCA1* приводит к накоплению АФК в этих клетках. Этот эффект является результатом нарушения передачи сигналов, индуцируемых Nrf2. Gorrini C., et al. (2013) продемонстрировали, что *BRCA1* является новым Nrf2-связывающим белком, который влияет на Keap1-опосредованную активность убиквитинирования Nrf2, тем самым контролируя стабильность и активацию Nrf2. В клетках с дефицитом *BRCA1* активация Nrf2-опосредованного антиоксидантного пути посредством инактивации Keap1 восстанавливает дефекты выживания клеток и уровни АФК, вызванные потерей функции *BRCA1*. *BRCA1*-мутантные клетки опухоли молочной железы человека также сохраняют дефектный антиоксидантный ответ Nrf2, который влияет на их чувствительность к окислительному стрессу. Авторы также показали, что повышенный уровень АФК в *BRCA1*-дефицитных клетках вызван нарушением Nrf2-опосредованной антиоксидантной сигнализации, а *BRCA1* регулирует транскрипцию Nrf2 и стабильность белка, взаимодействуя с Nrf2. Эти данные также постулируют существование положительной петли регуляторной обратной связи между *BRCA1* и Nrf2, которая подтверждается другими исследованиями [28; 41].

Было также обнаружено, что *BRCA1* регулирует другой окислительно-восстановительный фактор транскрипции NF- κ B и его последующие цели [42]. Хорошо известно, что NF- κ B выполняет несколько функций, и одной из важнейших является регулирование окислительного стресса посредством основного митохондриального фер-

мента SOD2 [43]. Кроме того, нокдаун *BRCA1*, по-видимому, подавляет экспрессию SOD2 в клетках рака молочной железы [42; 44]. Эти исследования еще раз подтвердили роль *BRCA1* в регуляции оксидативного гомеостаза.

При связанном с *BRCA1* РМЖ уровни АФК коррелируют с экспрессией и активностью арилуглеводородного рецептора фактора транскрипции (AhR). В нормальных и злокачественных клетках молочной железы активность AhR запускается АФК-индуцированной депривацией глутатиона или отсутствием функциональной антиоксидантной функции Nrf2. Сигнальный путь AhR-AREG поддерживает онкогенез, контролируя АФК и формируя протуморогенные функции микроокружения опухоли. АФК запускают накопление и активацию AhR в ядре, чтобы способствовать транскрипции как антиоксидантных ферментов, так и лиганда рецептора эпидермального фактора роста (EGFR), амфирегулина (AREG). AhR, регулируемый АФК, контролирует экспрессию лиганда EGFR AREG. Взаимодействие AhR-AREG необходимо для *BRCA1*-ассоциированного опухолевого генеза молочной железы [35]. Окислительно-восстановительная активность AhR в основном связана с детоксикацией ксенобиотиков, тогда как NRF2 в основном связана с регуляцией метаболизма глутатиона [40]. Тем не менее, исследования мышей с нокаутом генов AhR или Nrf2 предполагают потенциальную перекрестную связь между этими факторами в поддержании окислительно-восстановительного гомеостаза [45].

Резюмируя вышеприведенную информацию можно согласиться с мнением [46] о том, что ген *BRCA1* важен для поддержания адекватного для организма состояния оксидативного гомеостаза. Любой дефект или потеря в гене *BRCA1* может увеличивать продукцию АФК и нарушать клеточный окислительно-восстановительный статус. Потеря функции *BRCA1* приводит к серьезным дефектам репарации двухцепочечных разрывов ДНК и увеличению количества АФК, оба из которых представляют угрозу стабильности генома. Белок *BRCA1* участвует в поддержании целостности генома посредством процессов репарации ДНК, а также в ответе на окислительный стресс. Роль *BRCA1* как сенсора и регулятора АФК имеет потенциально важные последствия для профилактики и/или лечения *BRCA1*-ассоциированных опухолей. *BRCA1* контролирует АФК и выживаемость клеток в молочной железе посредством антиоксидантной сигнализации, управляемой фактором транскрипции NRF2, который индуцирует экспрессию большого набора генов, модулирующих восстановление окислительно-восстановительного баланса и смягчающих повреждение от

АФК. Этот сигнальный путь является центральным в поддержании оксидативного гомеостаза во многих типах клеток. В совокупности приведенная в данном обзоре информация позволяет лучше понимать роль гена *BRCA1* и кодируемого им белка *BRCA1* в реакции на окислительный стресс, и в модуляции окислительно-восстановительного гомеостаза, а также существующие представления о биохимических и патофизиологических аспектах участия гена *BRCA1* в этих процессах.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Zhang F., Fan Q., Ren K., Andreassen PR. PALB2 functionally connects the breast cancer susceptibility proteins BRCA1 and BRCA2. *Mol Cancer Res.* 2009;7(7):1110-8. doi: 10.1158/1541-7786.MCR-09-0123.
2. Godet I., Gilkes D. M. BRCA1 and BRCA2 mutations and treatment strategies for breast cancer. *Integr Cancer Sci Ther.* 2017;4(1):10. doi:10.15761/ICST.1000228.
3. Calò V., Bruno L., La Paglia L., Perez M., Margarese N., Di Gaudio F., Russo A. The Clinical Significance of Unknown Sequence Variants in BRCA Genes. *Cancers (Basel).* 2010 2(3):1644-60. doi:10.3390/cancers2031644.
4. Silver D.P., Livingston D.M. Mechanisms of BRCA1 tumor suppression. *Cancer Discov.* 2012;2(8):679-84. doi:10.1158/2159-8290.CD-12-0221.
5. Woods N. T., Mesquita R. D., Sweet M., Carvalho M. A., Li X., Liu Y., Nguyen H., Thomas C. E., Iversen E. S. Jr, Marsillac S., Karchin R., Koomen J., Monteiro A. N. Charting the landscape of tandem BRCT domain-mediated protein interactions. *Sci Signal.* 2012; 5(242):rs6. doi:10.1126/scisignal.2002255.
6. Martinez-Outschoorn U. E., Balliet R., Lin Z., Whitaker-Menezes D., Birbe R. C., Bombonati A., Pavlides S., Lamb R., Sneddon S., Howell A., Sotgia F., Lisanti M. P. BRCA1 mutations drive oxidative stress and glycolysis in the tumor microenvironment: implications for breast cancer prevention with antioxidant therapies. *Cell Cycle.* 2012;11(23):4402-13. doi: 10.4161/cc.22776.
7. Easton D. F., Deffenbaugh A. M., Pruss D., Frye C., Wenstrup R. J., Allen-Brady K., Tavtigian S. V., Monteiro A. N., Iversen E. S., Couch F. J., Goldgar D. E. A systematic genetic assessment of 1,433 sequence variants of unknown clinical significance in the BRCA1 and BRCA2 breast cancer-predisposition genes. *Am J Hum Genet.* 2007;81(5):873-83. doi:10.1086/521032.

8. Rakha E. A., El-Sheikh S. E., Kandil M. A., El-Sayed M. E., Green A. R., Ellis I. O. Expression of BRCA1 protein in breast cancer and its prognostic significance. *Hum Pathol.* 2008;39(6):857-65. doi:10.1016/j.humpath.2007.10.011.
9. Roy R., Chun J., Powell S. N. BRCA1 and BRCA2: different roles in a common pathway of genome protection. *Nat Rev Cancer.* 2011; 12(1): 68-78. doi: 10.1038/nrc3181.
10. Stefansson O. A., Jonasson J. G., Olafsdottir K., Hilmarsdottir H., Olafsdottir G., Esteller M., Johannsson O. T., Eyfjord J. E. CpG island hypermethylation of BRCA1 and loss of pRb as co-occurring events in basal/triple-negative breast cancer. *Epigenetics.* 2011;6(5): 638-49. doi:10.4161/epi.6.5.15667.
11. Gorodetska I., Kozeretska I., Dubrovskaya A. BRCA Genes: The Role in Genome Stability, Cancer Stemness and Therapy Resistance. *J Cancer* 2019;10(9):2109-2127. doi:10.7150/jca.30410. <https://www.jcancer.org/v10p2109.htm>.
12. Cao L., Xu X., Cao L. L., Wang R.H., Coumoul X., Kim S. S., Deng C. X. Absence of full-length Brca1 sensitizes mice to oxidative stress and carcinogen-induced tumorigenesis in the esophagus and forestomach. *Carcinogenesis.* 2007;28(7):1401-7. doi:10.1093/carcin/bgm060.
13. Ray P. D., Huang B. W., Tsuji Y. Reactive oxygen species (ROS) homeostasis and redox regulation in cellular signaling. *Cell Signal.* 2012;24(5):981-90. doi:10.1016/j.cellsig.2012.01.008.
14. Finkel T. Signal transduction by reactive oxygen species. *J Cell Biol.* 2011;194(1):7-15. doi:10.1083/jcb.201102095.
15. Bae Y. S., Oh H., Rhee S. G., Yoo Y. D. Regulation of reactive oxygen species generation in cell signaling. *Mol Cells.* 2011;32(6):491-509. doi:10.1007/s10059-011-0276-3.
16. Valko M., Leibfriz D., Moncol J., Cronin M. T., Mazur M., Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol.* 2007;39(1):44-84. doi:10.1016/j.biocel.2006.07.001.
17. Kryston T. B., Georgiev A. B., Pissis P., Georgakilas A. G. Role of oxidative stress and DNA damage in human carcinogenesis. *Mutat Res.* 2011;711(1-2):193-201. doi:10.1016/j.mrfmmm.2010.12.016.
18. Storr S. J., Woolston C. M., Zhang Y., Martin S. G. Redox environment, free radical, and oxidative DNA damage. *Antioxid Redox Signal.* 2013;18(18):2399-408. doi:10.1089/ars.2012.4920.
19. Jimenez-Del-Rio M., Velez-Pardo C. The bad, the good, and the ugly about oxidative stress. *Oxid Med Cell Longev.* 2012;2012:163913. doi:10.1155/2012/163913.
20. Ma Q. Transcriptional responses to oxidative stress: pathological and toxicological implications. *Pharmacol Ther.* 2010;125(3):376-93. doi:10.1016/j.pharmthera.2009.11.004.
21. Cairns R. A., Harris I. S., Mak T. W. Regulation of cancer cell metabolism. *Nat Rev Cancer.* 2011;11(2):85-95. doi:10.1038/nrc2981.
22. Rajneesh C. P., Manimaran A., Sasikala K. R., Adaikappan P. Lipid peroxidation and antioxidant status in patients with breast cancer. *Singapore Med J.* 2008;49(8):640-3.
23. Acharya A., Das I., Chandhok D., Saha T. Redox regulation in cancer: a double-edged sword with therapeutic potential. *Oxid Med Cell Longev.* 2010;3(1):23-34. doi:10.4161/oxim.3.1.10095.
24. Watson J. Oxidants, antioxidants and the current incurability of metastatic cancers. *Open Biol.* 2013;3(1):120144. doi:10.1098/rsob.120144.
25. Zhang J. W., Rubio V., Zheng S., Shi Z. Z. Knockdown of OLA1, a regulator of oxidative stress response, inhibits motility and invasion of breast cancer cells. *J Zhejiang Univ Sci B.* 2009;10(11):796-804. doi:10.1631/jzus.B0910009.
26. Sies H., Berndt C., Jones D.P. Oxidative Stress. *Annu Rev Biochem.* 2017;86:715-748. doi:10.1146/annurev-biochem-061516-045037.
27. Yi Y. W., Kang H. J., Bae I. BRCA1 and Oxidative Stress. *Cancers (Basel).* 2014;6(2):771-95. doi:10.3390/cancers6020771.
28. Kang H. J., Hong Y. B., Kim H. J., Rodriguez O. C., Nath R.G., Tilli E.M., Albanese C., Chung F. L., Kwon S. H., Bae I. Detoxification: a novel function of BRCA1 in tumor suppression? *Toxicol Sci.* 2011;122(1):26-37. doi:10.1093/toxsci/kfr089.
29. Gorrini C., Baniyasadi P. S., Harris I. S., Silvester J., Inoue S., Snow B., Joshi P. A., Wakeham A., Molyneux S. D., Martin B., Bouwman P., Cescon D. W., Elia A. J., Winterton-Perks Z., Cruickshank J., Brenner D., Tseng A., Musgrave M., Berman H. K., Khokha R., Jonkers J., Mak T. W., Gauthier M. L. BRCA1 interacts with Nrf2 to regulate antioxidant signaling and cell survival. *J Exp Med.* 2013;210(8):1529-44. doi:10.1084/jem.20121337.
30. Saha T., Rih J. K., Rosen E.M. BRCA1 down-regulates cellular levels of reactive oxygen species. *FEBS Lett.* 2009;583(9):1535-43. doi:10.1016/j.febslet.2009.04.005.
31. Kang H. J., Hong Y. B., Yi Y. W., Cho C. H., Wang A., Bae I. Correlations between BRCA1 defect and environmental factors in the risk of breast cancer. *J Toxicol Sci.* 2013;38(3):355-61. doi:10.2131/jts.38.355.
32. Dziaman T., Huzarski T., Gackowski D., Rozalski R., Siomek A., Szpila A., Guz J., Lubinski J., Olinski R. Elevated level of 8-oxo-7,8-dihydro-2'-deoxyguanosine in leukocytes of BRCA1 mutation

- carriers compared to healthy controls. *Int J Cancer*. 2009;125:2209–2213.
33. Li H., Sekine M., Seng S., Avraham S., Avraham H. K. BRCA1 interacts with Smad3 and regulates Smad3-mediated TGF- β signaling during oxidative stress responses. *PLoS One*. 2009;4(9):e7091. doi:10.1371/journal.pone.0007091.
34. Vurusaner B., Poli G., Basaga H. Tumor suppressor genes and ROS: complex networks of interactions. *Free Radic Biol Med*. 2012;52(1):7-18. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2011.09.035.
35. Kubli S. P., Bassi C., Roux C., Wakeham A., Göbl C., Zhou W., Jafari S. M., Snow B., Jones L., Palomero L., Thu K. L., Cassetta L., Soong D., Berger T., Ramachandran P., Baniasadi S. P., Duncan G., Lindzen M., Yarden Y., Herranz C., Lazaro C., Chu M. F., Haight J., Tinto P., Silvester J., Cescon D. W., Petit A., Pettersson S., Pollard J. W., Mak T. W., Pujana M. A., Cappello P., Gorrini C. AhR controls redox homeostasis and shapes the tumor microenvironment in BRCA1-associated breast cancer. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2019;116(9):3604-3613. doi:10.1073/pnas.1815126116.
36. Marks J.R. Refining the role of BRCA1 in combating oxidative stress. *Breast Cancer Res*. 2013;15(6):320. doi:10.1186/bcr3583.
37. Cuadrado A. Structural and functional characterization of Nrf2 degradation by glycogen synthase kinase 3/p-TrCP. *Free Radic Biol Med*. 2015;88:147-157. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2015.04.029.
38. Pande D., Negi R., Karki K., Khanna S., Khanna R. S., Khanna H. D. Oxidative damage markers as possible discriminatory biomarkers in breast carcinoma. *Transl Res*. 2012;160(6):411-8. doi:10.1016/j.trsl.2012.07.005.
39. Xu P., Liu Q., Xie Y., Shi X., Li Y., Peng M., Guo H., Sun R., Li J., Hong Y., Liu X., Xu G. Breast cancer susceptibility protein 1 (BRCA1) rescues neurons from cerebral ischemia/reperfusion injury through NRF2-mediated antioxidant pathway. *Redox Biol*. 2018;18:158-172. doi:10.1016/j.redox.2018.06.012.
40. Gorrini C., Harris I. S., Mak T. W. Modulation of oxidative stress as an anticancer strategy. *Nat Rev Drug Discov*. 2013;12(12):931-47. doi:10.1038/nrd4002.
41. Wang Q., Li J., Yang X., Sun H., Gao S., Zhu H., Wu J., Jin W. Nrf2 is associated with the regulation of basal transcription activity of the BRCA1 gene. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*. 2013;45(3):179-87. doi:10.1093/abbs/gmt001.
42. Gardini A., Baillat D., Cesaroni M., Shiekhattar R. Genome-wide analysis reveals a role for BRCA1 and PALB2 in transcriptional co-activation. *EMBO J*. 2014;33(8):890-905. doi:10.1002/emboj.201385567.
43. Harte M. T., Gorski J. J., Savage K. I., Purcell J. W., Barros E. M., Burn P. M., McFarlane C., Mullan P. B., Kennedy R. D., Perkins N. D., Harkin D. P. NF- κ B is a critical mediator of BRCA1-induced chemoresistance. *Oncogene*. 2014;33(6):713-723. doi:10.1038/onc.2013.10.
44. Kamarajugadda S., Cai Q., Chen H., Nayak S., Zhu J., He M., Jin Y., Zhang Y., Ai L., Martin S.S., Tan M., Lu J. Manganese superoxide dismutase promotes anoikis resistance and tumor metastasis. *Cell Death Dis*. 2013;4(2):e504. doi:10.1038/cddis.2013.20.
45. Hayes J. D., Dinkova-Kostova A. T., McMahon M. Cross-talk between transcription factors AhR and Nrf2: lessons for cancer chemoprevention from dioxin. *Toxicol Sci*. 2009;111(2):199-201. doi:10.1093/toxsci/kfp168.
46. Zwyer S. Understanding the role of BRCA1 in redox homeostasis regulation. 2017. RUcore: Rutgers University Community Repository. doi:10.7282/T3F76GRG.