

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«КРЫМСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ В. И. ВЕРНАДСКОГО»
ОРДENA ТРУДОВОГО КРАСНОГО ЗНАМЕНИ МЕДИЦИНСКИЙ ИНСТИТУТ
ИМЕНИ С. И. ГЕОРГИЕВСКОГО

КРЫМСКИЙ ЖУРНАЛ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ И КЛИНИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ

CRIMEAN JOURNAL OF EXPERIMENTAL AND CLINICAL MEDICINE

2025, том 15, № 4

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

А. В. Кубышкин, член-корреспондент РАН (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. Матсую (Осакасаяма, 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 (Омаха, 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 «Уильям Гарвей (англ. William Harvey; 1578-1657) — английский врач, прославившийся открытием системы кровообращения». Труд Гарвеля «Анатомическое исследование о движении сердца и крови у животных» (Exercitatio anatomica de motu cordis et sanguinis in animalibus) опубликован в 1628 году во Франкфурте. В нём он впервые сформулировал теорию кровообращения, которая представляет замкнутый цикл движения крови через артерии, капилляры и вены, и привёл экспериментальные доказательства в её пользу.

АДРЕС РЕДАКЦИИ:

295051, Республика Крым, г. Симферополь, бульвар Ленина 5/7

ФГАОУ ВО «КФУ имени В. И. Вернадского», Ордена Трудового Красного Знамени Медицинский институт

имени С. И. Георгиевского

E-mail: ejestm_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 ученой степени 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, медико-социальная реабилитация (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).

Печатается по решению Научно-технического совета
ФГАОУ ВО «КФУ им. В. И. Вернадского»,
протокол № 9 от 28.10.2025 г.

УЧРЕДИТЕЛЬ И ИЗДАТЕЛЬ:
ФГАОУ ВО «КРЫМСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ В.И.ВЕРНАДСКОГО
295007, Республика Крым, г. Симферополь, пр-т Академика Вернадского, 4

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

© Ордена Трудового Красного Знамени Медицинский институт имени С. И. Георгиевского, ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», 2025

СОДЕРЖАНИЕ

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

ORIGINAL ARTICLES

Алиев К. А., Макалиш Т. П., Дорош Н. В., Зяблицкая Е. Ю.	
АНАЛИЗ ПРЕДИКТОРОВ ХИМИОРЕЗИСТЕНТНОСТИ ОПУХОЛЕВОГО МИКРООКРУЖЕНИЯ МЕСТНО- РАСПРОСТРАНЕННОГО РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ	6
Aliev K. A., Makalish T. P., Dorosh N. V., Zyablitetskaya E. Yu.	
ANALYSIS OF PREDICTORS OF CHEMORESISTANCE IN THE TUMOR MICROENVIRONMENT OF LOCALLY ADVANCED BREAST CANCER.....	6
Линев К. А., Тананакина Т. П., Паринов Р. А., Замуруева Е. А.	
ОСОБЕННОСТИ СТРОЕНИЯ ВЫСОХШЕЙ КАПЛИ ПЕРИТОНЕАЛЬНОГО ЭКССУДАТА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ КИШЕЧНОЙ НЕПРОХОДИМОСТИ.....	14
Linyov K. A., Tananakina T. P., Parinov R. A., Zamurueva E. A.	
STRUCTURAL FEATURES OF PERITONEAL EXUDATE DRY DROP IN EXPERIMENTAL INTESTINAL OBSTRUCTION.....	14
Никитина К. А., Гафиятуллина Г. Ш., Дорош Н. В., Сорокина Л. Е., Макалиш Т. П., Зяблицкая Е. Ю.	
МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ СОСУДОВ ГОЛОВНОГО МОЗГА ЛАБОРАТОРНЫХ ГРЫЗУНОВ ПОСЛЕ ПЕРЕНЕСЕННОЙ ИНФЕКЦИИ COVID-19	21
Nikitina K. A., Gafiyatullina G. Sh., Dorosh N. V., Sorokina L. E., Makalish T. P., Zyablitetskaya E. Yu.	
MORPHOLOGICAL FEATURES OF BRAIN VESSELS IN LABORATORY RODENTS AFTER COVID-19	21
Павлова Т. В., Никонова Н. А., Каплин А. Н., Затолокина М. А., Бахрамова Ш. У., Гончаров И. Ю., Бадах И. А., Качмарская Л. М.	
НОВЫЕ ПРЕДИКТОРЫ ПАТОМОРФОЛОГИИ ЭРИТРОЦИТОВ ПРИ ПРЕЭКЛАМПСИИ.....	29
Pavlova T. V., Nikonova N. A., Kaplin A. N., Zatolokina M. A., Bakhramova Sh. U., Goncharov I. Yu., Badakh I. A., Kachmarskaya L. M.	
NEW PREDICTORS OF ERYTHROCYTE PATHOMORPHOLOGY IN PREECLAMPSIA.....	29
Павлюченко И. И., Клименко Я. В., Мартыненко М. Н., Коков Е. А., Федотова Н. В., Мороз А. Н.	
ОЦЕНКА СТЕПЕНИ РАЗВИТИЯ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА И ЭНДОГЕННОЙ ИНТОКСИКАЦИИ ПРИ ПОЛЛИНОЗЕ У ЖИТЕЛЕЙ КРАСНОДАРСКОГО КРАЯ	35
Pavlyuchenko I. I., Klimenko Ya. V., Martynenko M. N., Kokov E. A., Fedotova N. V., Moroz A. N.	
ASSESSMENT OF THE DEGREE OF OXIDATIVE STRESS AND ENDOGENOUS INTOXICATION IN POLLINOSIS IN RESIDENTS OF THE KRASNODAR TERRITORY.....	35
Смаглий Л. В., Гусакова В. С., Степовая Е. А., Акбашева О. Е., Ковалев И. В., Носарев А. В., Ласукова Т. В., Пшемысский М. А. Гусакова С. В.	
РОЛЬ Na^+ , K^+ - АТФАЗЫ В РЕГУЛЯЦИИ СОКРАТИТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ГЛАДКОМЫШЕЧНЫХ СЕГМЕНТОВ СОННОЙ АРТЕРИИ КРЫСЫ ПРИ ГИПОКСИИ И РЕОКСИГЕНАЦИИ.....	41
Smaglili L. V., Gusakova V. S., Stepovaya E. A., Akbasheva O. E., Kovalev I. V., Nosarev A. V., Lasukova T. V., Pschemyskiy M. A., Gusakova S. V.	
ROLE OF Na^+ , K^+ - ATPASE IN THE REGULATION OF CONTRACTILE ACTIVITY OF THE RAT CAROTID ARTERY SMOOTH MUSCLE SEGMENTS DURING HYPOXIA AND REOXYGENATION	41

**Тутаришева С. М., Шевченко А. С., Цымбалюк И. Ю., Любченко Д. А.,
Устинова Е. С., Быков И. М.**

МЕТАБОЛИЧЕСКАЯ ПРОФИЛАКТИКА ПОСТРЕЗЕКЦИОННОЙ ПЕЧЕНОЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ В
ЭКСПЕРИМЕНТЕ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ РЕМАКСОЛА И АДЕМЕТИОНИНА.....48

**Tutarisheva S. M., Shevchenko A. S., Tsymbalyuk I. Yu., Lubchenko D. A.,
Ustinova E. S., Bykov I. M.**

METABOLIC PROPHYLAXIS OF POSTRESECTION LIVER FAILURE IN AN EXPERIMENT USING
REMAXOL AND ADEMETHIONINE48

Хабаров О. Р., Зима Д. В., Асанова Э. Р., Макалиш Т. П., Зяблицкая Е. Ю.

ДИНАМИКА ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ ВОСПАЛЕНИЯ И КАНЦЕРОГЕНЕЗА В ТКАНИ
ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ В НОРМЕ И ПРИ ПАТОЛОГИИ У ЛИЦ, ПЕРЕНЕСШИХ COVID-1955

Khabarov O. R., Zima D. V., Asanova E. R., Makalish T. P., Zyablitetskaya E. Yu.

DYNAMICS OF IMMUNOHISTOCHEMICAL MARKERS OF INFLAMMATION AND CARCINOGENESIS IN
THYROID TISSUE IN NORMAL AND PATHOLOGICAL CONDITIONS IN PATIENTS WITH COVID-1955

Черноротов В. А., Костенич В. С.

ДООПЕРАЦИОННЫЕ ПРЕДИКТОРЫ НЕДЕРЖАНИЯ МОЧИ ПОСЛЕ РАДИКАЛЬНОЙ ПРОСТАТАКТОМИИ
КАК ОСНОВА ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННОЙ РЕАБИЛИТАЦИИ: РЕТРОСПЕКТИВНОЕ КОГОРТНОЕ
ИССЛЕДОВАНИЕ.....62

Chernorotov V. A., Kostenich V. S.

PREDICTORS OF POST-PROSTATECTOMY URINARY INCONTINENCE IN THE EARLY POSTOPERATIVE
PERIOD: A RETROSPECTIVE CLINICAL COHORT STUDY62

Шатохина А. С., Филиппов Е. Ф., Любченко Д. А.

АНАЛИЗ БИОХИМИЧЕСКОГО ПРОФИЛЯ ДЛЯ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ КЛИНИЧЕСКИХ РЕЗУЛЬТАТОВ У
БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ.....70

Shatokhina A. S., Filippov E. F., Lubchenko D. A.

BIOCHEMICAL PROFILE ANALYSIS FOR PREDICTING CLINICAL OUTCOMES IN BREAST CANCER
PATIENTS70

Яцков И. А., Дворянчиков Я. В., Белоглазов В. А., Деунежева С. М.,

Агеева Е. С., Репинская И. Н., Загидуллина Э. Р., Кумельский Е. Д.

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ МЕТОДОВ ИНСУЛИНОТЕРАПИИ НА УРОВЕНЬ ЭНДОТОКСИН-СВЯЗЫВАЮЩИХ
СИСТЕМ, МАРКЕРОВ ВОСПАЛЕНИЯ И ГЛИКЕМИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ У ПАЦИЕНТОВ С САХАРНЫМ
ДИАБЕТОМ 1 ТИПА76

Yatskov I. A., Dvoryanchikov Ya. V., Beloglazov V. A., Deunzhewa S. M.,

Ageeva E. S., Repinskaya I. N., Zagidullina E. R., Kumelsky E. D.

EFFECT OF DIFFERENT METHODS OF INSULIN THERAPY ON LEVELS OF ENDOTOXIN-BINDING
SYSTEMS, INFLAMMATORY MARKERS AND GLYCEMIC CONTROL IN PATIENTS WITH TYPE 1
DIABETES MELLITUS.....76

ОБЗОРЫ

REVIEWS

Волкова Н. А., Юрченко К. А., Дегирменджи Э. Т., Саенко Ю. С.,

Фомочкина И. И., Кубышкин А. В.

БИОПРИНТИНГ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ЭКСТРУЗИОННЫХ МЕТОДИК И ОПТИМАЛЬНЫЕ
БИОМАТЕРИАЛЫ ДЛЯ 3D-БИОПЕЧАТИ КОМПОНЕНТОВ КОЖИ84

Volkova N. A., Yurchenko K. A., Degirmenji E. T., Saenko J. S., Fomochkina I. I.,

Kubyshkin A. V.

BIOPRINTING USING EXTRUSION TECHNIQUES AND OPTIMAL BIOMATERIALS FOR 3D
BIOPRINTING OF SKIN COMPONENTS84

Громенко Д. А., Имаева А. К., Данилко К. В., Тимербулатов В. М., Маркелов В. А.	
РОЛЬ ЭКЗОСОМ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК В РЕГЕНЕРАЦИИ ТКАНЕЙ.....	96
Gromenko D. A., Imaeva A. K., Danilko K. V., Timerbulatov V. M., Markelov V. A.	
THE ROLE OF EXOSOMES OF MESENCHYMAL STEM CELLS IN TISSUE REGENERATION	96
Жариков Ю. О., Устянова А. В., Ильичева В. Н., Орлюк М. А., Антонян С. Ж., Игизова Д. И., Жарикова Т. С., Николенко В. Н.	
ПОЛНАЯ ТРАНСПЛАНТАЦИЯ ЛИЦА: ПОКАЗАНИЯ, ХИРУРГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ, ОСЛОЖНЕНИЯ	104
Zharikov Yu. O., Ustyanova A. V., Ilyicheva V. N., Orliuk M. A., Antonyan S. Zh., Igizova D. I., Zharikova T. S., Nikolenko V. N.	
TOTAL FACE TRANSPLANTATION: INDICATIONS, SURGICAL ASPECTS, COMPLICATIONS.....	104
Коврижных Е. В., Петрова Д. А., Заурова М. Б., Кубышкин А. В., Фомочкина И. И.	
ИЗМЕНЕНИЕ СПЕЦИФИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ ПРИ МЕТАБОЛИЧЕСКОМ СИНДРОМЕ	114
Kovrzhnykh E. V., Petrova D. A., Zaurova M. B., Kubyshkin A.V., Fomochkina I. I.	
CHANGES IN SPECIFIC MARKERS OF ENDOTHELIAL DYSFUNCTION IN METABOLIC SYNDROME	114

АНАЛИЗ ПРЕДИКТОРОВ ХИМИОРЕЗИСТЕНТНОСТИ ОПУХОЛЕВОГО МИКРООКРУЖЕНИЯ МЕСТНО- РАСПРОСТРАНЕННОГО РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Алиев К. А., Макалиш Т. П., Дорош Н. В., Зяблицкая Е. Ю.

Ордена Трудового Красного Знамени Медицинский институт имени С. И. Георгиевского федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского» (Медицинский институт им. С. И. Георгиевского ФГАОУ ВО «КФУ им. В. И. Вернадского»), 295051, бул. Ленина, 5/7, Симферополь, Россия

Для корреспонденции: Зяблицкая Евгения Юрьевна, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник Центральной научно-исследовательской лаборатории, Медицинский институт им. С. И. Георгиевского ФГАОУ ВО «КФУ им. В. И. Вернадского», e-mail: evgu79@mail.ru

For correspondence: Evgenia Yu. Ziablitskaya, MD, Leading Researcher at the Central Research Laboratory, Order of the Red Banner of Labor Medical Institute named after S. I. Georgievsky V. I. Vernadsky Crimean Federal University (Medical Institute named after S. I. Georgievsky of Vernadsky CFU), e-mail: evgu79@mail.ru

Information about authors:

Aliev K. A., <https://orcid.org/0000-0003-3911-1245>

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

Dorosh N. V., <https://orcid.org/0009-0000-4279-8936>

Zyablitetskaya E. Yu., <http://orcid.org/0000-0001-8216-4196>

РЕЗЮМЕ

В настоящее время по данным мировой и российской статистики показатели заболеваемости и смертности при раке молочной железы растут. Стадия выявленного злокачественного новообразования, определяющая тактику лечения и отдаленные параметры выживаемости, несмотря на развитие технологий и методик диагностических скринингов, редко представлена начальными этапами роста I-II, чаще это местно-распространенные формы. В связи с этим, большинство пациентов требуют проведения неоадьювантной химиотерапии, к которой опухолевые клетки могут проявить резистентность. Фактором, определяющим чувствительность опухоли к терапии, является комплекс молекулярно-биологических параметров ее микроокружения. Целью данного исследования стало определение предикторов рефрактерности к химиотерапии у больных местно-распространенным раком молочной железы, индивидуализация алгоритма лекарственной терапии его резистентных форм. Материал и методы. Ретроспективное исследование проведено на 24 пациентах ГБУЗ РК «Крымский республиканский онкологический клинический диспансер им. В. М. Ефетова» возрастом 40-76 лет. Критерии включения: подтвержденный диагноз местно-распространенного РМЖ, трижды негативный или люминальный B Her-2/neu отрицательный морфологический подтип опухоли, получение не менее 2 курсов неоадьювантной химиотерапии. На первом этапе лечения пациенты получили терапию по схеме антрациклины (схема - АС (доксорубицин 60 мг/м² в/в внутривенно, циклофосфамид 600 мг/м² в/в), далее таксаны (паклитаксел 175 мг/м²). Критерии исключения: Her-2-положительный статус опухоли или хороший ответ на химиотерапию. Все пациенты раздelenы на 4 группы по 6 человек в зависимости от морфологического подтипа опухоли и схемы химиотерапии, на которой отмечался рост первичной опухоли и/или метастатических регионарных лимфоузлов. Группа 1: больные трижды негативным раком с ростом опухоли на фоне терапии таксанами. Группа 2: пациенты с трижды негативным раком и местной опухолевой прогрессией на фоне терапии антрациклиниами. Группа 3: пациентки с прогрессией гормонозависимого мРМЖ на фоне терапии таксанами. Группа 4: пациентки с люминальным раком и отрицательной динамикой зафиксированной при проведении химиотерапии по схеме АС (антрациклиновые противоопухолевые препараты). Результаты. Фрагменты опухоли и ткани с сохранными протоками изучены методом иммуногистохимии, определена экспрессия маркеров микроокружения: CD4, CD8, CD20, CD68, VEGF, ANGP2, HIF-1α стандартными рекомендованными протоколами преаналитического и аналитического этапа на иммуногистостейнере Bond-MAX (Leica) с последующей математико-статистической обработкой данных непараметрическими методами. Отмечена слабая инфильтрация лимфоцитами представленных образцов, вне зависимости от ее морфологического подтипа и применяемой схемы терапии. При этом, многофакторный анализ выявил существенную степень влияния молекулярно-биологического подтипа опухоли и варианта резистентности к цитостатикам на экспрессию маркеров ангиогенеза. Морфологический подтип опухоли влияет наиболее интенсивно на выраженность реакции с антителами к VEGF и экспрессию HIF-1α. При этом на экспрессию ангиоэптина влияет исключительно вариант резистентности опухоли, однако сила данного влияния невелика. Заключение. Таким образом, слабая инфильтрация лимфоцитами делает малоэффективной иммунотерапию резистентных форм рака молочной железы. Более чувствительной и эффективной может оказаться терапия, направленная на блокирование неоангиогенеза, в случаях резистентного люминального B, Her-2/neu негативного местно-распространенного рака.

Ключевые слова: рак молочной железы, неоадьювантная химиотерапия, лекарственная устойчивость, микроокружение опухоли, иммуногистохимия.

ANALYSIS OF PREDICTORS OF CHEMORESISTANCE IN THE TUMOR MICROENVIRONMENT OF LOCALLY ADVANCED BREAST CANCER

Aliev K. A., Makalish T. P., Dorosh N. V., Zyablitetskaya E. Yu.

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

SUMMARY

Currently, according to world and Russian statistics, the incidence and mortality rates of breast cancer are growing. The stage of the detected malignant neoplasm, which determines the treatment tactics and remote survival parameters, despite the development of technologies and methods of diagnostic screening, is rarely represented by the initial stages of growth I-II, more often these are locally advanced forms. In this regard, most patients require neoadjuvant chemotherapy, to which tumor cells can show resistance. The factor determining the sensitivity of the tumor to therapy is a complex of molecular biological parameters of its microenvironment. The purpose of this study was to determine the predictors of refractoriness to chemotherapy in patients with locally advanced breast cancer, individualization of the algorithm of drug therapy for its resistant forms. Material and methods. A retrospective study was conducted on 24 patients of the State Healthcare Institution of the Republic of Crimea «Crimean Republican Oncology Clinical Dispensary named after V. M. Efetov» aged 40-76 years. Inclusion criteria: confirmed diagnosis of locally advanced breast cancer, triple negative or luminal B Her-2/neu negative morphological subtype of the tumor, receipt of at least 2 courses of neoadjuvant chemotherapy. At the first stage of treatment, patients received therapy according to the anthracycline regimen (scheme - AC (doxorubicin 60 mg / m² intravenously, cyclophosphamide 600 mg / m² intravenously)), then taxanes (paclitaxel 175 mg / m²). Exclusion criteria: Her-2-positive tumor status or a good response to chemotherapy. All patients were divided into 4 groups of 6 people depending on the morphological subtype of the tumor and the chemotherapy regimen, which noted the growth of the primary tumor and / or metastatic regional lymph nodes. Group 1: patients with triple-negative cancer with tumor growth during taxane therapy. Group 2: patients with triple-negative cancer and local tumor progression during anthracycline therapy. Group 3: patients with progression of hormone-dependent mrBC during taxane therapy. Group 4: patients with luminal cancer and negative dynamics recorded during chemotherapy according to the AC regimen (anthracycline antitumor drugs). Results. Tumor fragments and tissues with preserved ducts were studied by immunohistochemistry, expression of microenvironment markers was determined: CD4, CD8, CD20, CD68, VEGF, ANGP2, HIF-1α using standard recommended protocols of the preanalytical and analytical stages on the Bond-MAX immunohistostainer (Leica) with subsequent mathematical and statistical data processing using nonparametric methods. Weak lymphocyte infiltration of the presented samples was noted, regardless of its morphological subtype and the applied therapy regimen. At the same time, multivariate analysis revealed a significant degree of influence of the molecular-biological tumor subtype and the variant of resistance to cytostatics on the expression of angiogenesis markers. The morphological subtype of the tumor has the most intense effect on the intensity of the reaction with antibodies to VEGF and the expression of HIF-1α. At the same time, the expression of angiopoietin is affected exclusively by the variant of tumor resistance, but the strength of this effect is small. Conclusion. Thus, weak lymphocyte infiltration makes immunotherapy of resistant forms of breast cancer ineffective. Therapy aimed at blocking neoangiogenesis may be more sensitive and effective in cases of resistant luminal B, Her-2 / neu negative locally advanced cancer.

Key words: breast cancer, neoadjuvant chemotherapy, drug resistance, tumor microenvironment, immunohistochemistry.

Несмотря на значительные достижения в понимании биологии рака молочной железы (РМЖ), это заболевание доминирует в заболеваемости и смертности у женщин во всем мире. Ежегодно в мире диагностируется почти 2,3 миллиона новых случаев РМЖ, и более 660 000 женщин умирают от этого заболевания. Это составляет почти 11,6 % новых случаев заболевания и 6,9 % случаев смерти от рака [1]. Прогнозируется, что к 2050 году заболеваемость РМЖ увеличится до 3,2 миллиона случаев в год [2].

Наиболее изученным опухолевым предиктором является стадия злокачественного новообразования (ЗНО), этот прогностический показатель, во многом, определяет тактику лечения РМЖ, коррелируя с показателями отдаленной выживаемости. Как правило, самые высокие показатели пятилетней выживаемости наблюдаются при локализованном РМЖ (0 и I стадия – до 99 %),

прогрессивно снижаясь при регионарной метастазировании (II и III стадия – 87 %) и демонстрирует худшие показатели при отдаленном метастазировании (32 %). Больные местно-распространенным раком молочной железы (mrPMЖ) также подвержены высокому риску смертности от прогрессии заболевания в виде отдаленного метастазирования [3]. Медиана выживаемости в клинических исследованиях, в которых изучалось специализированное лечение больных mrPMЖ, составляет от 28 до 66 месяцев. Общая пяти- и десятилетняя выживаемость составляет 40-75 % и 30-40 % соответственно [2]. Эти данные ясно указывают на то, что для борьбы с mrPMЖ необходимы более эффективные методы лечения.

Современный стандарт лечения mrPMЖ основан на комплексном подходе, который включает три ключевых этапа: а) неоадьювантный (предо-

перационный) этап: лекарственная терапия (химио-, гормонотерапия или таргетная терапия); б) хирургический этап: выполнение радикальной операции различного объема; в) адьювантный (послеоперационный) этап: лекарственная и/или лучевая терапия направлена на профилактику метастатического процесса в ложе опухоли, регионарных лимфоузлов и удаленных органах-мишенях. Системное лекарственное лечение мрРМЖ демонстрирует хорошие результаты [4]. Задачами неoadьювантной лекарственной (химиотерапии) терапии (НХТ) является девитализация и уменьшение размеров опухоли, повышение резектабельности, с целью проведения операции с радикальным результатом и нивелирования метастатической болезни.

Концепция работы многих противоопухолевых препаратов заключается в метаболической инактивации опухолевых клеток для достижения полного опухолевого регресса, и препараты НХТ для РМЖ не являются исключением [5]. При этом опухолевые клетки способны развивать устойчивость к препарата姆 за счет снижения их активации либо замедление метаболизма для инактивации соединений. Механизм лекарственной резистентности РМЖ сложен и представляет собой многофакторный и многоэтапный процесс. Это результат взаимодействия раковых клеток внутри опухоли, а также тесно связанный с ролью клеток РМЖ и окружающей их среды. Микроокружение опухоли (TME) представляет собой сложную интегрированную систему, в его состав входят опухоль-ассоциированные клетки и внеклеточный матрикс, разнообразные стромальные клетки, иммунные клетки, сигнальные молекулы (цитокины, факторы роста, хемокины и др.). Эти компоненты взаимодействуют в сложных клеточно-клеточных и клеточно-матриксных коммуникациях, формируя микросреду, благоприятную для роста и метастазирования опухолевых клеток. Динамическое взаимодействие между раковыми клетками и компонентами TME может как способствовать, так и сдерживать прогрессирование заболевания [6].

Целью данного исследования явилось определение предикторов рефрактерности к химиотерапии у больных местно-распространенным РМЖ, индивидуализация алгоритма лекарственной терапии резистентного местно-распространенного РМЖ.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Ретроспективное исследование проведено на 24 пациентках ГБУЗ РК «Крымский республиканский онкологический клинический диспансер им. В. М. Ефетова» возрастом от 40 до 76 лет. Критериями включения в исследование

послужили подтвержденный диагноз мрРМЖ, трижды негативный или люминальный В Her-2/neu отрицательный морфологический подтип опухоли, получение не менее 2 курсов неoadьювантной химиотерапии. На первом этапе лечения цитостатиками все пациенты получили НХТ по схеме антрациклины (схема - АС (доксорубицин 60 мг/м² в/в внутривенно, циклофосфамид 600 мг/м² в/в)), далее таксаны (паклитаксел 175 мг/м²). Критериями исключения послужили Her-2-положительный статус опухоли или хороший ответ на химиотерапию.

Все пациентки были разделены на 4 группы поровну согласно морфологическому подтипу опухоли и схеме химиотерапии, на которой отмечался рост первичной опухоли и/или метастатических регионарных лимфоузлов. В первую группу вошли пациентки с трижды негативным мрРМЖ, с ростом опухоли на фоне терапии таксантами, во вторую – больные трижды негативным мрРМЖ с местной опухолевой прогрессией на фоне терапии антрациклином, третью группу составили пациентки с прогрессией гормонозависимого мрРМЖ на фоне терапии таксантами, а четвертую – с люминальным мрРМЖ, у которых отрицательная динамика была зафиксирована при проведении химиотерапии по схеме АС (антрациклические противоопухолевые препараты).

Для исследования были отобраны залитые в парафин фрагменты опухоли, в которых помимо инвазивного компонента опухоли присутствовали участки ткани с сохранными протоками. Из блоков изготавливали срезы толщиной 4 мкм, которые окрашивали методом иммуногистохимии с маркерами к CD4 (Leica, clone 4B12), CD8 (Elabscience, clone YN00246m), CD20 (Leica, clone L26), CD68 (Abcam, clone 125212), VEGF (Thermo Scientific, clone RB-9031-P1), ANGP2 (Abcam, clone 8452), HIF-1α (Epitomics, clone EP118). Протокол окрашивания включал в себя депарафинизацию, высокотемпературную демаскировку эпитопа, блокировку эндогенной пероксидазы, инкубацию с первичным антителом, визуализацию с помощью системы детекции Bond Polymer Refine Detection System (Leica) на основе диаминбензидина и пероксидазы хрена, а также полимерного усилителя сигнала. Окрашивание производилось в автоматическом иммуногистостейнере Bond-MAX (Leica). Окрашенные препараты заключали под покровное стекло и сканировали на сканере гистопрепаратов Aperio CS2 с увеличением в 40 крат. Анализ изображений производили с использование ПО Aperio Image Scope. На каждом стекле в пяти полях зрения для опухолевой ткани и пяти полях зрения для окружающей опухоль сохранной ткани оценивали интенсивность окрашивания на VEGF в баллах по шкале

Allred Score, для стромы – количество позитивно окрашенных клеток в поле зрения. Для остальных маркеров также подсчитывали число клеток в поле зрения, имеющих позитивное окрашивание не зависимо от его интенсивности. Для лейкоцитарных маркеров отдельно посчитывали число позитивных клеток в зоне демаркации опухоли.

Статистическую обработку данных осуществляли в программе Statistica 10. Поскольку выборки были небольшими, а характер данных имел прерывный или категориальный характер, для сравнения групп применяли непараметрические методы (U-критерий Манна-Уитни, факторный анализ ANOVA). С учетом множественности сравнений (выполняли 4 попарных сравнения

групп) для определения уровня значимости была введена поправка Бонферрони, а уровень значимости рассчитан как равный 0,0125.

РЕЗУЛЬТАТЫ

У пациенток с резистентными формами мрPMЖ опухоли имеют, как правило, «холодный» иммунологический фенотип, и являются мало нефильтрованными лимфоидными клетками как в самой опухоли, так и в прилежащей к опухоли ткани. При этом выявились различия в преобладании определенных типов лейкоцитов в зависимости от морфологического подтипа опухоли и устойчивости к определенным препаратам (Таблица 1).

Таблица 1. Иммунологический профиль опухолей молочной железы при разных типах резистентности (Me(Q1; Q3)).

Table 1. Immunological profile of breast tumors with different types of resistance (Me(Q1; Q3)).

Маркер	Морфологический подтип	Тройной негативный		Люминальный В	
		Схема НХТ		Tаксаны	AC
		Код группы		1, n=6	2, n=6
CD68	число клеток в строме опухоли, шт	0(0;1)	1,5(1;4)	1(0;4)	1(1;2)
	число клеток в зоне демаркации, шт	5(3;7)	2,5(1;4)	3(2;4)	4(4;5)
	число клеток в прилежащей к опухоли строме, шт	5(3;7)	3(0;4)	3(1;7)	6(5;6)
CD20	число клеток в строме опухоли, шт	0(0;0)	0,5(0;2)	0(0;0)	0(0;1)
	число клеток в зоне демаркации, шт	0(0;1)	0,5(0;3)	0(0;2)	0(0;0)
	число клеток в прилежащей к опухоли строме, шт	0(0;1)	1(0;1)	0(0;0)	1(0;1)
CD4	число клеток в строме опухоли, шт	3(0;13)	2(0;5)	0(0;1)	1(0;2)
	число клеток в зоне демаркации, шт	12(6;22)	5,5(3;7)*	6(3;16)	3(0;5)
	число клеток в прилежащей к опухоли строме, шт	6(3;14)	5(3;8)	3(2;5)	1(0;2)†
CD8	число клеток в строме опухоли, шт	2(0;11)	0(0;6)	2(0;9)	3(2;3)
	число клеток в зоне демаркации, шт	7(3;19)	4(1;13)	6(3;19)	5(0;5)
	число клеток в прилежащей к опухоли строме, шт	3(2;4)	3(2;4)	3(0;4)	1(1;3)

Примечания: * - достоверные отличия от группы с аналогичным морфологическим подтипов, но иной схемой лечения, p=0,009033. †- достоверные отличия от группы с другим морфологическим подтипов, но идентичной схемой лечения, p=0,010113. ⁰- Антрациклиновые противоопухолевые препараты

При таксан-резистентном трижды негативном мрPMЖ в опухоли преобладают цитотоксические и хелперные Т-лимфоциты, особенно многочисленные в зоне демаркации опухоли. Макрофаги также расположены преимущественно по периферии опухолевой ткани. В-лимфоциты практически не встречаются.

Схожая картина наблюдается при прогрессировании тройного негативного мрPMЖ на антра-

циклиновых цитостатиках. При этом наблюдаются достоверное уменьшение числа CD4+ клеток в зоне демаркации, незначительное увеличение числа В-лимфоцитов и проникновение макрофагов в опухолевую ткань.

В группах больных люминальным мрPMЖ наблюдается несколько большая инфильтрация макрофагами, практически полное отсутствие В-лимфоцитов и снижение числа CD4+ клеток

относительно исследуемых подгрупп с трижды негативным РМЖ, что носит статистически значимый характер. При этом несколько увеличивается число Т-хелперов в опухолевой ткани в слу-чаях антрациклиновых резистентного мРМЖ

(прогрессия на схеме АС).

Более динамично и значимо изменялась экспрессия факторов ангиогенеза, таких как VEGF, ANGP2 и фактора гипоксии HIF-1 α (таблица 2).

Таблица 2. Экспрессия маркеров ангиогенеза при различных резистентных формах РМЖ (Me(Q1; Q3)).
Table 2. Expression of angiogenesis markers in various resistant forms of breast cancer (Me(Q1; Q3)).

Маркер	Морфологический подтип	Тройной негативный		Люминальный В	
		Таксаны	АС	Таксаны	АС
	Схема НХТ	1, n=6	2, n=6	3, n=6	4, n=6
VEGF	эпителий опухоли PS, баллы	2(2;3)	2(2;3)	2(1;3)	1(1;2)
	эпителий опухоли IS, баллы	1(1;1)	1(1;2)	2(2;3) #	1(1;3)
	эпителий опухоли TS, баллы	3(3;4)	3(3;5)	4(3;6) #	2(2;5)
	эпителий здоровый PS, баллы	0(0;2)	1,5(1;2)	2(0;2)	2(2;2)
	эпителий здоровый IS, баллы	0(0;1)	1(1;1)	3(0;3) #	3(2;3)
	эпителий здоровый TS, баллы	0(0;3)	2,5(2;3)	4(0;5) #	5(4;5)
	число клеток в строме опухоли, шт	9(5;14)	5(3;6)	24(16;32)	5(3;6)*
	число клеток в строме здоровой ткани, шт	52(37;65)	15,5(10;19)*	39(23;86)	16(15;26)*
HIF-1 α	число эпителиоцитов в опухоли, шт	0(0;3)	25(11;34)	10(5;19)	10(9;20)
	число клеток в строме опухоли, шт	5(3;7)	4(3;6)	3(1;4) #	3(3;3)
	число эпителиоцитов в здоровой ткани, шт	0(0;1)	0,5(0;2)	0(0;0)	0(0;0)
	число эпителиоцитов в строме здоровой ткани, шт	6(2;6)	3(1;6)	3(3;4)	2(2;3)
ANGP2	число клеток в строме опухоли, шт	39(30;59)	29(21;35)*	32(0;62)	20(10;29)
	число эпителиоцитов опухоли, шт	56(43;61)	25(21;35)	36(22;38)	21(11;28)
	число клеток в строме здоровой ткани, шт	31(21;34)	27(13;31)	32(30;46)	20(15;30)
	число эпителиоцитов здоровой ткани, шт	3(1;4)	1,5(1;2)*	2(1;4)	4(2;5)

Примечания: * - достоверные отличия от группы с аналогичным морфологическим подтипов, но иной схемой лечения, $p \leq 0,0125$. #- достоверные отличия от группы с другим морфологическим подтипов, но идентичной схемой лечения, $p \leq 0,0125$. ⁰ - Антрациклиновые противоопухолевые препараты

Экспрессия VEGF в опухолевой и прилежащей ткани невысока, и редко превышает 2 балла по шкале AllredScore как в интенсивности окрашивания, так и по числу позитивных клеток. При этом в группе больных люминальным В мРМЖ опухоли экспрессия VEGF выше, чем при трижды негативном подтипе, особенно при резистентности к таксанам, что носит статистически значимый характер как для собственно опухолевой ткани ($p=0,000001$), так и для окружающих ее структур молочной железы ($p=0,001448$). Также характерна высокая экспрессия данного фактора в строме окружающей опухоль ткани, при этом она выше у больных,

резистентным течение на фоне терапии антрациклиными, как при тройном негативном ($p=0,000101$), так и при люминальном В подтипе мРМЖ ($p=0,001240$).

Ангиопоэтин 2 высоко экспрессируется в ткани опухоли, при этом более ярко при таксан-резистентном мРМЖ, что достигает статистической значимости у больных трижды негативным мРМЖ ($p=0,003918$). Для окружающей опухоли ткани оказалась характерна экспрессия преимущественно в строме, с сохранением тенденции к более слабой экспрессии у пациенток, с прогрессией на антрациклиновых цитостатиках ($p=0,039105$).

Фактор гипоксии HIF-1 α также наиболее выражен непосредственно в опухоли, и несколько меньше в строме прилежащей ткани. Определяется статистическое значимое снижение экспрессии данного маркера в группе больных таксан-резистентным гормонозависимым мРМЖ по сравнению с тройным негативным вариантом ($p=0,004574$).

Проведение многофакторного анализа ANOVA выявило существенную степень влияния как молекулярно-биологического опухолевого подтипа, так и вариант резистентности к цитостатикам на экспрессию маркеровangiогенеза. Влияния изучаемых факторов на степень инфильтрации опухоли лейкоцитами и их соотношение выявлено не было. Морфологический подтип опухоли влияет наиболее интенсивно. В частности, сила данного фактора на интенсивность окрашивания опухолевых клеток антителами к VEGF составила $F=80,62$ при $p\leq 0,000001$, на интенсивность окрашивания прилежащей к опухоли ткани $F=33,10$ при $p\leq 0,000001$. На экспрессию HIF-1 α влияет также исключительно морфологический подтип, однако сила данного влияния существенно ниже ($F=6-9$ при $p\leq 0,0125$). При этом на экспрессию angiopoetina влияет исключительно вариант резистентности опухоли, однако сила данного влияния также невелика ($F=4-12$ при $p\leq 0,0125$).

ОБСУЖДЕНИЕ

Опухолевое микроокружение (TME) представляет собой сложную сеть стромальных клеток, иммунных клеток и внеклеточных компонентов, которые поддерживают опухолевые клетки посредством взаимодействия с сигнальными молекулами и физическими факторами. Продемонстрировано, что взаимодействие между TME и опухолевыми клетками влияет на агрессивное течение, метастазирование и лекарственную устойчивость [7]. Таким образом, представляется критически важным провести всесторонний анализ микроокружения опухоли (TME), с акцентом на изучение иммунокомпетентных клеток, и их составляющих.

Результаты нашего исследования выявили значительную инфильтрацию цитотоксическими и хелперными Т-лимфоцитами, преимущественно в зоне опухолевой демаркации (таксан-резистентный вариант), а также статистически значимое уменьшение числа CD4+ клеток в зоне демаркации (антракциклин-резистентный вариант) в трижды негативных опухолях молочной железы с резистентным к терапии течением. Многочисленные исследования продемонстрировали, что CD4+ Т-клетки играют ключевую роль в процессах онкогенеза, метастазирования,

а также в клинической диагностике и прогнозировании эффективности химиотерапевтических режимов. Функциональная гетерогенность и парадоксальное поведение CD4+ Т-клеток обусловлены сложностью микроокружения опухоли, что делает их многогранное влияние на опухлевый процесс предметом интенсивного изучения. Эти клетки демонстрируют разнообразные фенотипические и функциональные состояния, регулируя иммунный ответ и координируя активность других иммунокомпетентных клеток. В результате их действия оказывают существенное влияние на опухлевое поведение и реакцию на терапию, что, в свою очередь, определяет прогноз заболевания [8].

В частности, различные субпопуляции CD4+ Т-клеток вносят дифференцированный вклад в противоопухлевый иммунитет. Они модулируют гуморальный иммунный ответ, активируют В-клетки и CD8+ Т-клетки, способствуя их цитотоксической активности против опухолевых клеток. Цитотоксические CD4+ Т-клетки непосредственно участвуют в элиминации злокачественных клеток, что подчеркивает их значимость в противоопухлевой защите организма [8].

Еще одним ключевым фактором резистентности является гипоксия, характерная для быстрорастающих опухолей с высоким метаболизмом. Внутриопухловая гипоксия существенно ухудшает прогноз заболевания. Поскольку в опухолевых тканях angiogenез протекает более интенсивно, более того индукция angiогенеза в опухоли стимулирует ее метастазированию. В свете проблемы интратуморальной гипоксии особое внимание уделяют регуляторному белку HIF-1 α (фактор, индуцированный гипоксией) [9]. Поиск ингибиторов является актуальным направлением в экспериментальной онкологии. По результатам представленного исследования, в группе больных таксан-резистентным гормонозависимым мРМЖ по сравнению с тройным негативным вариантом было выявлено статистическое значимое снижение экспрессии HIF-1 α .

Гипоксия, опосредованная фактором HIF-1 α , влияет на свойства стволовых клеток и способствует развитию рефрактерности к химиотерапии, активирует фактор роста эндотелия сосудов (VEGF) [10]. VEGF, стимулятор angiогенеза, подавляет опухлевый иммунитет, ингибируя созревание дендритных клеток, и индуцирует иммуносупрессивные клетки, такие как регуляторные Т-клетки, ассоциированные с опухолью макрофаги.

Анализ сосудистых факторов показал разнонаправленные изменения: экспрессия VEGF в опухоли в группе больных люминальным В мРМЖ была статистически значимо выше, чем

при трижды негативном подтипе, особенно при резистентности к таксанам, тогда как ANGP2 высоко экспрессируется в ткани опухоли при таксан-резистентном трижды негативным мрРМЖ. Это соответствует известным функциям данных маркеров: VEGF стимулирует патологический ангиогенез, в то время как ANGP2 считается антиангиогенным фактором, способствующим регрессии сосудов [11]. Уровень циркулирующего VEGF может динамически меняться в ходе лечения и служить индикатором резистентности [12].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, слабая инфильтрация лимфоцитами делает малоэффективной иммунотерапию резистентных форм РМЖ вне зависимости от ее морфологического подтипа и ранее применяемой схемы НХТ. Более чувствительной и эффективной может оказаться терапия, направленная на блокирование неоангиогенеза, в случаях резистентного люминального В, Her-2/neu негативного мрРМЖ.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

Финансирование. Работа финансирована государственным заданием по науке Министерства высшего образования и науки Российской Федерации FZEG-2023-0009 «Изучение гетерогенности микроокружения опухоли как фактора ее агрессивности и резистентности к терапии».

Funding. The work was carried out with the financial support of the Ministry of Education and Science of the Russian Federation, state assignment FZEG-2023-0009 «Study of the heterogeneity of the tumor microenvironment as a factor in its aggressiveness and resistance to therapy».

ЛИТЕРАТУРА

- Sung H., Ferlay J., Siegel R. L., Laversanne M., Soerjomataram I., Jemal A., Bray F. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. CA Cancer J Clin. 2021;71(3):209-249. doi:10.3322/caac.21660.
- Kim J., Harper A., McCormack V., Sung H., Houssami N., Morgan E., Mutebi M., Garvey G., Soerjomataram I., Fidler-Benaoudia M.M. Global patterns and trends in breast cancer incidence and mortality across 185 countries. Nat Med. 2025;31(4):1154-1162. doi:10.1038/s41591-025-03502-3.
- Siegel R. L., Miller K. D., Jemal A. Cancer statistics, 2017. CA Cancer J Clin. 2017;67(1):7-30. doi: 10.3322/caac.21387.

4. Klein J., Tran W., Watkins E., Vesprini D., Wright F. C., Look Hong N. J., Ghandi S., Kiss A., Czarnota G. J. Locally advanced breast cancer treated with neoadjuvant chemotherapy and adjuvant radiotherapy: a retrospective cohort analysis. BMC Cancer. 2019;19(1):306. doi:10.1186/s12885-019-5499-2.

5. Wang H., Mao X. Evaluation of the Efficacy of Neoadjuvant Chemotherapy for Breast Cancer. Drug Des. Devel. Ther. 2020;14:2423-2433. doi: 10.2147/DDDT.S253961.

6. van der Spek Y. M., Kroep J. R., Tollenaar R. A. E. M., Mesker W. E. Chemotherapy resistance and stromal targets in breast cancer treatment: a review. Mol Biol Rep. 2020; 47, 8169-8177. doi:10.1007/s11033-020-05853-1.

7. Зяблицкая Е. Ю., Кубышкин А. В., Сорокина Л. Е., Серебрякова А. В., Алиев К. А., Максимова П. Е., Лазарев А. Э., Балакчина А. И., Головкин И. О. Клеточное микроокружение как объект таргетной терапии злокачественных новообразований. Успехи молекулярной онкологии. 2023;10(4):8-20. doi:10.17650/2313-805X-2023-10-4-8-20.

8. An Q., Duan L., Wang Y., Wang F., Liu X., Liu C., Hu Q. Role of CD4+ T cells in cancer immunity: a single-cell sequencing exploration of tumor microenvironment. J Transl Med. 2025;23(1):179. doi:10.1186/s12967-025-06167-1.

9. Rashid M., Zadeh L. R., Baradaran B., Molavi O., Ghesmati Z., Sabzichi M., Ramezani F. Up-down regulation of HIF-1 α in cancer progression. Gene. 2021;798:145796. doi:10.1016/j.gene.2021.145796.

10. Wang Y., Wang X., Zhao H., Liang B., Du Q. Clusterin confers resistance to TNF-alpha-induced apoptosis in breast cancer cells through NF-kappa B activation and Bcl-2overexpression. J. Chemother. 2012;24:348-357. doi:10.1179/1973947812Y.0000000049

11. Shen D. W., Goldenberg S., Pastan I., Gottesman M. M. Decreased accumulation of (14C) carboplatin in human cisplatin-resistant cells results from reduced energy-dependent uptake. J Cell Physiol 2000;183(1):108-16. doi:10.1002/(SICI)1097-4652(200004)183:1<108::AID-JCP13>3.0.CO;2-4.

12. Davis N. M., Sokolosky M., Stadelman K., et al. Deregulation of the EGFR/PI3K/PTEN/Akt/mTORC1 pathway in breast cancer: possibilities for therapeutic intervention. Oncotarget. 2014;5(13):4603-50. doi:10.18632/oncotarget.2209.

REFERENCES

- Sung H., Ferlay J., Siegel R. L., Laversanne M., Soerjomataram I., Jemal A., Bray F. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of

- Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. CA Cancer J Clin. 2021;71(3):209-249. doi:10.3322/caac.21660.
2. Kim J., Harper A., McCormack V., Sung H., Houssami N., Morgan E., Mutebi M., Garvey G., Soerjomataram I., Fidler-Benaoudia M. M. Global patterns and trends in breast cancer incidence and mortality across 185 countries. Nat Med. 2025;31(4):1154-1162. doi: 10.1038/s41591-025-03502-3.
3. Siegel R. L., Miller K. D., Jemal A. Cancer statistics, 2017. CA Cancer J Clin. 2017;67(1):7-30. doi: 10.3322/caac.21387.
4. Klein J., Tran W., Watkins E., Vesprini D., Wright F. C., Look Hong N. J., Ghandi S., Kiss A., Czarnota G. J. Locally advanced breast cancer treated with neoadjuvant chemotherapy and adjuvant radiotherapy: a retrospective cohort analysis. BMC Cancer. 2019;19(1):306. doi:10.1186/s12885-019-5499-2.
5. Wang H., Mao X. Evaluation of the Efficacy of Neoadjuvant Chemotherapy for Breast Cancer. Drug Des. Devel. Ther. 2020;14:2423-2433. doi: 10.2147/DDDT.S253961.
6. van der Spek Y.M., Kroep J. R., Tollenaar R. A. E. M., Mesker W. E. Chemotherapy resistance and stromal targets in breast cancer treatment: a review. Mol Biol Rep. 2020; 47, 8169-8177. doi:10.1007/s11033-020-05853-1.
7. Zyablitetskaya E. Yu., Kubyshkin A. V., Sorokina L. E., Serebryakova A. V., Aliev K. A., Maksimova P. E., Lazarev A. E., Balakchina A. I., Golovkin I. O. Cellular microenvironment as an object of targeted therapy for malignant neoplasms. Advances in Molecular Oncology. 2023;10(4):8-20. (In Russ.) doi:10.17650/2313-805X-2023-10-4-8-20.
8. An Q., Duan L., Wang Y., Wang F., Liu X., Liu C., Hu Q. Role of CD4+ T cells in cancer immunity: a single-cell sequencing exploration of tumor microenvironment. J Transl Med. 2025;23(1):179. doi:10.1186/s12967-025-06167-1.
9. Rashid M., Zadeh L. R., Baradaran B., Molavi O., Ghesmati Z., Sabzichi M., Ramezani F. Up-down regulation of HIF-1 α in cancer progression. Gene. 2021;798:145796. doi:10.1016/j.gene.2021.145796.
10. Wang Y., Wang X., Zhao H., Liang B., Du Q. Clusterin confers resistance to TNF-alpha-induced apoptosis in breast cancer cells through NF-kappa B activation and Bcl-2 overexpression. J. Chemother. 2012;24:348-357. doi:10.1179/1973947812Y.0000000049.
11. Shen D. W., Goldenberg S., Pastan I., Gottesman M. M. Decreased accumulation of (14C) carboplatin in human cisplatin-resistant cells results from reduced energy-dependent uptake. J Cell Physiol 2000;183(1):108-16. doi: 10.1002/(SICI)1097-4652(200004)183:1<108:AID-JCP13>3.0.CO;2-4.
12. Davis N. M., Sokolosky M., Stadelman K., et al. Deregulation of the EGFR/PI3K/PTEN/Akt/mTORC1 pathway in breast cancer: possibilities for therapeutic intervention. Oncotarget. 2014;5(13):4603-50. doi: 10.18632/oncotarget.2209.

ОСОБЕННОСТИ СТРОЕНИЯ ВЫСОХШЕЙ КАПЛИ ПЕРИТОНЕАЛЬНОГО ЭКССУДА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ КИШЕЧНОЙ НЕПРОХОДИМОСТИ

Линев К. А., Тананакина Т. П., Паринов Р. А., Замуруева Е. А.

ФГБОУ ВО «Луганский государственный медицинский университет имени Святителя Луки» МЗ РФ, 291045, кв. 50-летия обороны Луганска, д. 1г, Луганск, Россия

Для корреспонденции: Линёв Константин Алексеевич, кандидат медицинских наук, доцент кафедры госпитальной хирургии, урологии и онкологии имени профессора Ольшанецкого А. А., ФГБОУ ВО «Луганский государственный медицинский университет имени Святителя Луки», e-mail: k_linev@mail.ru

For correspondence: Linyov K. A., PhD, Saint Luka State Medical University, e-mail: k_linev@mail.ru
Information about authors:

Linyov K. A., <https://orcid.org/0000-0001-6863-0736>

Tananakina T. P., <https://orcid.org/0000-0002-0978-6009>

Parinov R. A., <https://orcid.org/0000-0002-3723-5116>

Zamurueva E. A., <https://orcid.org/0009-0008-8696-6522>

РЕЗЮМЕ

Перitoneальная жидкость при острой кишечной непроходимости обогащается клеточными элементами и белком, принимает характер экссудата. Целью исследования было определение особенностей строения высохшей капли перitoneальной жидкости крыс при экспериментальной обструкции кишечника. Материал и методы. Экспериментальную кишечную непроходимость создавали на крысах "Wistar" весом 220-260 г. У животных основной группы (21 особь) выполнили бандажирование сигмовидной кишки пластиковой трубкой, не вызывая нарушения кровообращения кишки. Крысы выводили из эксперимента на 7-10 день после операции для взятия перitoneальной жидкости. Каплю перitoneальной жидкости наносили на новое предметное стекло и высушивали в течение 3-4 часов в стандартных условиях для получения фации. Строение фации изучали при помощи светового микроскопа МБИ-1, через окуляр микроскопа делали снимки камерами смартфона Samsung Galaxy A25 5G. Группу сравнения составили 30 интактных крыс, у которых пипеткой набирали перitoneальную жидкость после эвтаназии животного и последующей лапаротомии. Результаты. Перitoneальная жидкость у крыс с экспериментальной кишечной непроходимостью образовывала капли куполообразной формы, фации имели широкую промежуточную зону и крупные везикулы диаметром более 7 мкм. Капли перitoneальной жидкости интактных крыс контрольной группы обладали блюдцеобразной формой, при микроскопии имели узкую промежуточную зону, везикулы встречались редко. При нормальной перitoneальной жидкости (контрольная группа) максимальный размер отдельностей отмечался в промежуточной зоне. В фациях перitoneальной жидкости основной группы такая закономерность не отмечалась. Обсуждение: указанные изменения объясняем изменением конфигурации капли за счёт повышения удельного веса и вязкости перitoneальной жидкости при экспериментальной кишечной непроходимости. Заключение. Фации экссудата брюшной полости при острой кишечной непроходимости отличались расширением промежуточной зоны, появлением пузырей диаметром более 7 мкм.

Ключевые слова: экспериментальная кишечная непроходимость, бандажирование сигмовидной кишки, перitoneальная жидкость, клиновидная дегидратация, фации.

STRUCTURAL FEATURES OF PERITONEAL EXUDATE DRY DROP IN EXPERIMENTAL INTESTINAL OBSTRUCTION

Linyov K. A., Tananakina T. P., Parinov R. A., Zamurueva E. A.

Saint Luka State Medical University, Lugansk, Russia

SUMMARY

Peritoneal fluid in acute intestinal obstruction is enriched with cellular elements and protein, and takes on the character of an exudate. The aim of the study was to determine the structural features of rat peritoneal fluid dried drop in experimental intestine obstruction. Material and methods. Experimental intestinal obstruction was created in 220-260 g "Wistar" rats. In the main group of animals (21 individuals), the sigmoid colon was bandaged with a plastic tube without causing circulatory disorders in the colon. The rats were removed from the experiment 7-10 days after surgery to collect peritoneal fluid. A drop of peritoneal fluid was placed on a new glass slide and dried for 3-4 hours under standard conditions to obtain the firm phase. The structure of the facies was studied using an MBI-1 light microscope, and photographs were taken using a Samsung Galaxy A25 5G smartphone camera through the microscope's eyepiece. The comparison group consisted of 30 intact rats, from which peritoneal fluid was collected using a pipette after the animal's euthanasia and subsequent laparotomy. Results. The peritoneal fluid in rats with experimental intestinal obstruction formed dome-shaped droplets, with a wide intermediate zone and large vesicles with a diameter of more than 7 μ m. The peritoneal fluid droplets in intact rats from the control group had a saucer-shaped appearance, with a narrow intermediate zone and few vesicles. In normal peritoneal fluid (control group), the maximum size of the separateness was observed in the intermediate zone. This pattern was not observed in the peritoneal fluid of the main group. Discussion.

These changes are explained by a change in the configuration of the drop due to an increase in the specific weight and viscosity of the peritoneal fluid in experimental intestinal obstruction. Conclusion. Facies of abdominal exudate in acute intestinal obstruction were characterized by the expansion of the intermediate zone, the appearance of bubbles with a diameter of more than 7 microns.

Key words: **experimental intestinal obstruction, sigmoid colon bandaging, peritoneal fluid, wedge-shaped dehydration, facies.**

Доля пациентов с острой кишечной непроходимостью (ОКН) достигает 7-8% среди всех госпитализируемых с острыми заболеваниями органов брюшной полости в хирургические стационары Российской Федерации [1]. Если учесть количество случаев динамической кишечной непроходимости, осложняющей ургентную абдоминальную патологию, последствия травмы органов брюшной полости, в том числе операционной травмы, то приходит понимание об универсальном нарушении моторно-эвакуаторной функции кишечника при любом повреждении или воспалении органов брюшной полости.

ОКН сопровождается отёком кишечной стенки, её венозным полнокровием, что приводит к повышению транссудации жидкости в просвет кишечника, а также к увеличению продукции перitoneальной жидкости (ПЖ) [2]. ПЖ при ОКН изменяет свои физико-химические свойства, свой состав и по содержанию белка принимает характер экссудата [3] (с. 54-55). Экссудат отличается повышенiem удельного веса и вязкости за счёт увеличения содержания клеточных элементов и белка. Для отличия экссудата от транссудата определяют удельный вес жидкости, концентрацию белка, используют реакцию Ривальта [4].

Клиновидная дегидратация – исследование морфологии сухого остатка высохшей в стандартных условиях капли биологической жидкости – применяется для определения состава и свойств биологической жидкости [5]. В частности, была изучена морфология сухого остатка высохшей капли перitoneального экссудата при экспериментальном и послеоперационном перитоните, когда в ПЖ присутствовали патологические посторонние примеси – моча, каловая взвесь, раствор Люголя и т.п. [6]. Так как исследование ПЖ при ОКН в условиях только повышения проницаемости капиллярно-сосудистой сети брюшины [7] без посторонних примесей не выполнялось, то данное исследование представляет теоретический интерес. Практическое значение изучение фации ПЖ при ОКН имело бы для отличия её патогенетических форм (страндгуляционная, обтурационная), протекающих с различной степенью нарушений внутристеночной гемоциркуляции кишечного сегмента на уровне микроциркуляторного русла, а также для различения стадии ОКН – стадии острых расстройств внутристеночной кишечной гемоциркуляции и стадии перитонита,

что отражается на характере ПЖ [7]. В доклинической стадии изучения проблемы необходим эксперимент в связи с этическим и физиологическим аспектами. Они заключаются в недопустимости и невозможности взятия ПЖ у людей при отсутствии заболевания брюшной полости как «контрольной группы», а также предельно малом количестве ПЖ «в норме».

Целью исследования было определение особенностей строения высохшей капли перitoneальной жидкости крыс при экспериментальной обструкции кишечника.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Проспективное исследование выполнено на 60 половозрелых крысах “Wistar” весом 220-260 г (30 самцов и 30 самок). Крысы содержались в виварии Луганского государственного медицинского университета при температуре 20-22°C, относительной влажности 50±10%, в суточном ритме свет/тёмнота 12/12 часов со свободным доступом к стандартному корму и воде в хорошо вентилируемых и чистых вольерах. Перед экспериментом крысы находились в виварии в указанных условиях как минимум в течение недели. Настоящий эксперимент был утверждён локальным этическим комитетом Луганского государственного медицинского университета (протокол № 1 от 09.04.25).

Экспериментальные животные были рандомно распределены на контрольную (30 особей) и основную (30 особей) группы. Животным основной группы создавали экспериментальную кишечную непроходимость (ЭКН) по методике Jiali Mo et al., 2020 [8]. Вмешательство выполняли на наркотизированном животном после достижения хирургической стадии наркоза (внутрибрюшинное введение 1 мг натрия тиопентала). С соблюдением правил асептики выполняли нижне-серединную лапаротомию протяжённостью 3-4 см. На сигмовидную кишку через окошко её брыжейки надевали стерильную полихлорвиниловую трубку, изготовленную из системы для переливания крови. Длина трубки - 1 см, наружный диаметр - 4 мм, внутренний диаметр – 3 мм, трубка была предварительно разрезана вдоль для образования кольцевидного футляра для обжатия кишки. После помещения кишки в бандаж последний обвязывался снаружи лигатурой «капрон № 4» для предупреждения смещения бандажа. Обжа-

тая на протяжении 1,0 см кишечная погружалась в брюшную полость, оставалась без возможности кишечного пассажа, но без нарушения питания кишки. После операции животные содержались в прежних условиях. Эксперимент носил характер хронического. Выбор места бандажирования — сигмовидная кишка — подразумевал создание толстокишечной непроходимости без некроза кишки с наличием временного интервала для продукции перitoneального экссудата.

После операции поведение животных становилось активным — проявляли ориентировочный и защитный рефлексы, вычёсывались, пили воду. Животные делали вялые попытки есть. Восстанавливавшийся суточный ритм «сон-бодрствование».

На 6-7-е сутки животные делались адинамичными, отказывались от пищи и воды. При надавливании на живот издавали писк. Грудная клетка выглядела запавшей при вздутом животе. При наступлении декомпенсированной кишечной непроходимости по клиническим критериям, указанным выше, то есть на 7-10-е сутки послеоперационного периода животные выводились из эксперимента путём однократного внутрибрюшного введения 3мг тиопентала натрия для эвтаназии. Затем выполнялась релапаротомия и взятие пипеткой ПЖ. Из основной группы исключены 9 крыс, которые погибли от экспериментальной кишечной непроходимости раньше седьмых суток после операции.

Всем животным контрольной группы ($n=30$) оперативное вмешательство не выполняли. После эвтаназии указанным выше методом выполняли лапаротомию и забор внутрибрюшной жидкости новой лабораторной пипеткой. В складках брюшины возле печени возможно было набрать пипеткой ПЖ в количестве, приблизительно 0,5 мл, достаточном для исследования.

Уход, манипуляции, эвтаназия животных выполнялись по постановлениям Европейской Конвенции о защите прав позвоночных животных, используемых для экспериментальных или в иных научных целях (ETS №123 от 18.03.1986 г) [9], директивам 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского Союза от 22 сентября 2010 г. по охране животных, используемых в научных целях [10].

Каплю ПЖ наносили на новое предметное стекло и высушивали на горизонтальной поверхности при температуре воздуха 22-26°C, относительной влажности 50-70% без выраженных воздушных потоков в течение 3-4 часов. Строение фации ПЖ изучали при помощи светового микроскопа МБИ-1, через окуляр микроскопа делали снимки камерами смартфона “Samsung Galaxy A25 5G.” Проводили сравнительный анализ фаций ПЖ основной и контрольной группы

по трем качественным дихотомическим признакам: промежуточная зона узкая или широкая; наличие или отсутствие пузырьков, наличие или отсутствие пузырьков размером более 7 мкм. Достоверность различия частот указанных признаков в группах оценивалась при помощи критерия χ^2 с поправкой Йейтса, который рассчитали с использованием пакета компьютерных программ “SPSS Statistics 17.0”.

РЕЗУЛЬТАТЫ

У животных основной группы с экспериментальной кишечной непроходимостью ПЖ была мутная и густая, на стекле образовывала куполообразную каплю. У животных контрольной группы ПЖ была жидкой и прозрачной, на стекле капля имела форму блюдца, т.е. имела западение центральной зоны и валикообразное возвышение промежуточной зоны, которая по периферии снижалась к краевой зоне фации.

Форма высыхающей капли определяла ширину промежуточной зоны по отношению к радиусу капли. В случае блюдцеобразной капли (контрольная группа) промежуточная зона была узкой, так как валик циркулярного периферического возвышения высыхающей капли был высокий, но узкий. При этом промежуточная зона, которая представляет собой валик возвышения, составляла менее 20% радиуса фации и состояла из ячеек максимального размера (рис. 1А). В рассматриваемой контрольной группе промежуточная зона фации в 28 случаях (93,3%) была узкой (рис. 1А), из них в 8 случаях (26,7%) состояла только из одного ряда отдельностей.

Иное строение имели фации ПЖ крыс основной группы. Фации ПЖ животных с ЭКН за счёт куполообразной формы капель имели широкую промежуточную зону без изменения размера её отдельностей. Промежуточная зона постепенно переходила в центральную зону и во всех случаях ширина промежуточной зоны составляла более 20% радиуса фации. Промежуточная зона фаций всех крыс основной группы состояла из многих рядов полигональных отдельностей (рис. 1Б).

Другой характерной особенностью фаций ПЖ крыс изучаемых групп, кроме строения промежуточной зоны, было наличие пузырей в местах соединения трёхлучевых трещин (рис. 1В). Пузыри определялись во всех фациях животных основной группы и в фациях у 20 (66,6%) крыс контрольной группы. Отличительным признаком между фациями сравниваемых групп стало наличие пузырей размером более 7 мкм (рис. 1Г), что отмечалось у 20 (95,2%) крыс основной группы и только у 10 (33,3%) животных контрольной группы (табл.1).



Схема конфигурации капли - блюдцеобразная



Схема конфигурации капли - куполообразная



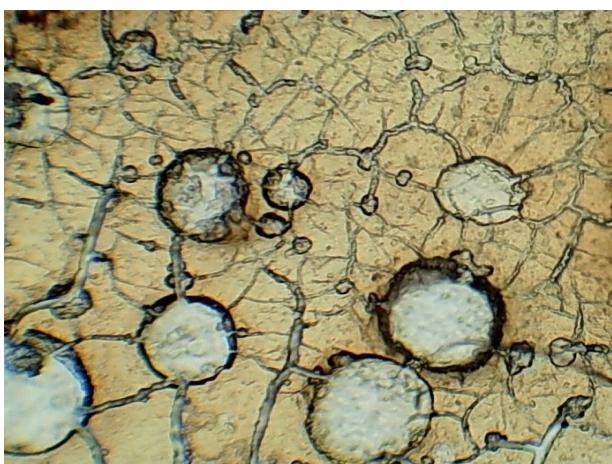
А. Промежуточная зона узкая с голубоватым оттенком (указана стрелкой). Нативно, ув.x80.



Б. Промежуточная зона широкая, без чётких границ переходит в центральную зону. Нативно, ув.x80



В. Везикула менее 7 мкм (указана стрелкой). Нативно, ув.x80. На шкале одно малое деление – 1 мкм



Г. Везикулы более 7 мкм. Нативно, ув.x200. В виде чёрных контуров определяются разрушенные стенки пузырей

**Рис. 1. Различия изучаемых признаков фаций ПЖ крыс основной и контрольной групп.
Fig. 1. Differences in the studied rat peritoneal fluid facies features of the main and control groups.**

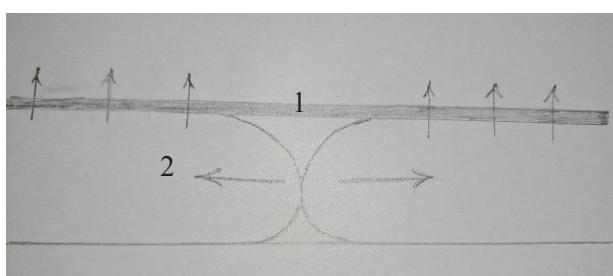


Рис. 2. Схема образования пузыря (объяснение в тексте). 1 – верхняя плёнка вещества повышенной плотности, из которого сформируется крыша пузыря; 2 – направление сокращения отдельностей; 3 – пузырь.

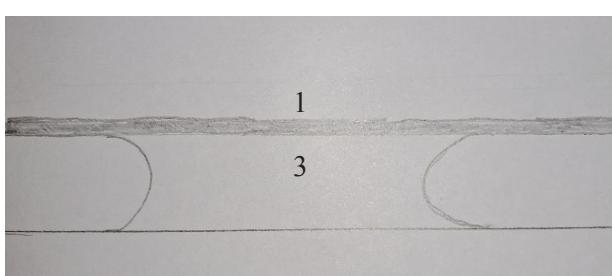


Fig. 2. Bubble formation scheme (explanation in the text). 1 - the upper film of a high-density substance, from which the bubble roof will form; 2 - the direction of separateness contraction; 3 - the bubble.

Таблица 1. Распределение изучаемых признаков строения фации ПЖ у крыс основной и контрольной группы

Table 1. Distribution of the studied signs in rat peritoneal fluid facies structure of the main and control groups

Название признака	Контрольная группа (n=30), абс. (%)	Основная группа (n=21), абс. (%)	χ^2 с поправкой Йейтса	p
Наличие узкой промежуточной зоны с максимальными ячейками	30 (100%)	-	-	-
Наличие везикул	20 (66,6%)	21 (100%)	-	-
Наличие везикул размером более 7 мкм	10 (33,3%)	20 (95,2%)	17,072	p<0,001

Примечание: абс. – абсолютное количество особей.

Note: abs. – is the absolute number of individuals.

ОБСУЖДЕНИЕ

Свободная жидкость брюшной полости – это небольшое количество жидкости, которое производится брюшиной и обеспечивает подвижность органов брюшной полости. При ОКН жидкость брюшной полости приобретает характер экссудата [2; 3; 7]. Экссудат теряет прозрачность за счёт повышения количества клеточных элементов (нейтрофилы, лимфоциты, эритроциты, десквамированные клетки), микрофлоры и повышения содержания белка выше 3%. Удельный вес и вязкость экссудата превышают удельный вес транссудата [4].

Повышение вязкости биологической жидкости уменьшает степень растекания капли жидкости по стеклу, меняет форму капли. Изменение формы капли отразилось на микроскопической картине сухого остатка высохшей капли. Потеря блюдцеобразной формы капли и её превращение в куполообразную привели к расширению промежуточной зоны фации, плавному переходу промежуточной зоны в центральную (рис. 1Г).

Повышение вязкости жидкости вызвало появление пузырьков и привело к увеличению их размеров за счёт механизма, объяснение которого приведено в монографии Краевого С. А., Колтового Н. А. [11]. При повышении вязкости жидкости скорость гелеобразования повышается по причине уменьшения количества свободной воды. Увеличение скорости гелеобразования приведёт к образованию и последующему сохранению пленки геля на верхней поверхности капли (рис. 2А). Вода из внутренней части капли испаряется вверх через верхнюю пленку геля. Объем внутренней части капли уменьшается, и верхняя пластина проседает вниз. При дальнейшем высыхании верхняя пластина матрикса не успевает разрушиться и остаётся в виде мостика, который образует крышу пузыря (рис. 2Б).

Таким образом, пузырь как элемент возникает из сохранившейся верхней пластины матрикса. Чем вязче жидкость и быстрее высыхание, тем больше напряжения и сокращения матрикса отдельности, тем следует ожидать большие размеры пузырьков, которые образуются в месте расхождения трещин, разделяющих отдельности.

Настоящее исследование установило изменение фации ПЖ при экспериментальной кишечной непроходимости, что является отражением повышения белка и клеточных элементов в ПЖ за счёт повышения проницаемости капиллярно-сосудистой сети висцеральной брюшины кишечника. Следовательно, исследование сухого остатка ПЖ при кишечной непроходимости имеет перспективу в плане диагностики её странгуляционной формы, подтверждения перехода кишечной непроходимости в стадию острых расстройств внутристеночной кишечной гемоциркуляции и в стадию перитонита.

Исходя из действующих клинических рекомендаций [1], для выбора лечебной тактики при ОКН первоочередной задачей является диагностика ишемии (странгуляции) кишечника, так как часто происходит необоснованно долгая задержка оперативного лечения при запоздалом диагнозе странгуляционных форм кишечной непроходимости, требующих исключительно оперативного лечения [1]. Необходима клиническая апробация метода клиновидной дегидратации ПЖ как метода диагностики некробиотических изменений в ущемлённой кишке, исходя из характера изменений ПЖ. S. R. Rami Reddy, M. S. Cappell, 2017, в случае наличия визуализируемого скопления ПЖ при ОКН рекомендуют во всех случаях выполнять диагностический парacentез для исключения перитонита, определение при КТ наличия ПЖ при ОКН относят к признакам ишемии кишки [12]. В. J. O'Daly et al., 2009, рассматривая острую спаечную кишечную непроходи-

мость, сам факт наличия ПЖ, выявляемой на КТ, расценивают уже как показание к оперативному лечению [13]. Цитологическому, биохимическому, микробиологическому исследованию ПЖ при ОКН уделяется незаслуженно мало внимания. Клиновидная дегидратация образца ПЖ, взятой при лапароцентезе, после прохождения клинической аprobации может служить диагностическим тестом выявления ишемии кишки.

ВЫВОДЫ

- Перitoneальная жидкость интактных крыс образовывала фации с узкой чётко выраженной промежуточной зоной, которая содержала наибольшие по размеру ячейки.

- Перitoneальная жидкость при экспериментальной кишечной непроходимости образовывала фации с широкой промежуточной зоной и наличием множественных пузырьков диаметром, превышающим 7 мкм.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

ЛИТЕРАТУРА

- Клинические рекомендации. Острая неопухоловая кишечная непроходимость – 2024-2025-2026 (09.12.2024). URL: http://disuria.ru/_ld/15/1527_kr24K56K45K46MZ.pdf. (Дата обращения: 05.04.2025).
- Эргашев И. Ш., Жураев Ж. Н., Яхиев М. У. Острая кишечная непроходимость и внутрибрюшная гипертензия. Биология и интегративная медицина. 2019; 12 (40). URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/ostraya-kishechnaya-neprohodimost-i-vnutribryushnaya-gipertensiya>. (Дата обращения: 04.04.2025).
- Дедерер Ю. М. Патогенез и лечение острой непроходимости кишечника. М: «Медицина»; 1971.
- Долгов В. В., Меньшиков В. В. Клиническая лабораторная диагностика: национальное руководство: в 2 т. Т. I. M: ГЭОТАР-Медиа, 2012:404-405.
- Захарова Г. П., Шабалин В. В., Донская О. С. Функциональная морфология как основа системного подхода к исследованию биологических жидкостей. РМЖ. 2017;6:430-434. URL: https://www.rmj.ru/articles/otorinolaringologiya/Funktionalynaya_morfologiya_kak_osnova_sistemnogo_podkhoda_k_issledovaniyu_biolicheskikh_ghidkostey/#ixzz8vi6cyEOo. (Дата обращения: 05.04.2025).
- Замуруева Е. А., Тананакина Т. П., Линев К. А. Перспективы применения метода клиновидной дегидратации перitoneального экс-

судата в хирургии. Университетская клиника. 2023;3(48):5-9.

- Чернов В. Н., Белик Б. М. Острая непроходимость кишечника (патогенез, клиническая картина, диагностика и лечение). М.: ОАО «Издательство «Медицина»; 2008.

- Mo J., Zhang N., Li D., Fan L., Xie J. Reversible small bowel obstruction in rats. Int J Clin Exp Med. 2020;13(4):2276-2285.

- Цыганцова С. И. Защита животных в Совете Европы и России: сравнительно-правовой анализ. Электронное приложение к «Российскому юридическому журналу». 2022;6:58-70. doi:10.34076/22196838_2022_6_58.

- Hartung T. Comparative analysis of the revised directive 2010/63/EU for the protection of laboratory animals with its predecessor 86/609/EEC—a t4 report. Altex. 2010;27(4):285-303. doi:10.14573/altex.2010.4.285.

- Краевой С. А., Колтовой Н. А. Диагностика по капле крови. Кристаллизация биожидкостей. Книга 1. Метод открытой капли (угловая дегидратация). М; 2013.

- Rami Reddy S. R., Cappell M. S. A Systematic Review of the Clinical Presentation, Diagnosis, and Treatment of Small Bowel Obstruction. Curr Gastroenterol Rep. 2017;19:28. doi:10.1007/s11894-017-0566-9

- O'Daly B. J., Ridgway P. F., Keenan N., Sweeney K. J., Brophy D. P., Hill A. D., Evoy D., O'Higgins N. J., McDermott E. W. Detected peritoneal fluid in small bowel obstruction is associated with the need for surgical intervention. Can J Surg 2009;52(3):201-206.

REFERENCES

- Clinical recommendations. Acute non-cancerous intestinal obstruction - 2024-2025-2026 (12/09/2024) – Approved by the Ministry of Health of the Russian Federation. (In Russ.). URL: http://disuria.ru/_ld/15/1527_kr24K56K45K46MZ.pdf. (Accessed 05.04.2025).
- Ergashev I. Sh., Zhurayev Zh. N., Yahshiev M. U. Acute intestinal obstruction and intraperitoneal hypertension. Biology and integrative medicine. 2019; 12 (40). (In Russ.). URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/ostraya-kishechnaya-neprohodimost-i-vnutribryushnaya-gipertensiya> (Accessed 04.04.25).
- Dederer Yu. M. Pathogenesis and treatment of intestine acute obstruction. Moscow: Medicine; 1971. (In Russ.).
- Dolgov V. V., Menyshikov V. V. Clinical laboratory diagnostics: national guide. Vol. 1. Moscow: GEOTAR-Media, 2012: 404-405. (In Russ.).
- Zakharova G. P., Shabalin V. V., Donskaya O. S. Functional morphology as the basis for systemic

- approach to the biologic fluids' investigation. RMZh. 2017;6:430-434. (In Russ.). URL: https://www.rmj.ru/articles/otorinolaringologiya/Funktionalynaya_morfologiya_kak_osnova_sistemnogo_podkhoda_k_issledovaniyu_biolicheskikh_ghidkostey/#ixzz8vi6cyEOo. (Accessed 05.04.2025).
6. Zamurueva E. A., Tananakina T. P., Linev K. A. The prospect of peritoneal exudate wedge-shaped dehydration using in surgery. University clinic. 2023;3(48):5-9. (In Russ.).
7. Chernov V. N., Belik B. M. Acute intestinal obstruction (pathogenesis, clinical picture, diagnosis and treatment). Moscow: Medicine Publish.; 2008. (In Russ.).
8. Mo J., Zhang N., Li D., Fan L., Xie J. Reversible small bowel obstruction in rats. Int J Clin Exp Med. 2020;13(4):2276-2285.
9. Tsygantsova S. Animal protection in the Council of Europe and Russia: a comparative legal analysis. Elektronnoe prilozhenie k «Rossiiskomu yuridicheskomu zhurnalu». 2022;6:58-70. (In Russ.). doi:10.34076/22196838_2022_6_58.
10. Hartung T. Comparative analysis of the revised directive 2010/63/EU for the protection of laboratory animals with its predecessor 86/609/EEC—a t4 report. Altex. 2010;27(4):285-303. doi:10.14573/altex.2010.4.285. P21240470.
11. Krayevoy S. A., Koltovoy N. A. Diagnosis by a drop of blood. Crystallization of biofluids. Vol. 1. Open drop method (angular dehydration). Moscow; 2013. (In Russ.).
12. Rami Reddy S. R., Cappell M. S. A Systematic Review of the Clinical Presentation, Diagnosis, and Treatment of Small Bowel Obstruction. Curr Gastroenterol Rep. 2017;19:28. doi:10.1007/s11894-017-0566-9
13. O'Daly B. J., Ridgway P. F., Keenan N., Sweeney K. J., Brophy D. P., Hill A. D., Evoy D., O'Higgins N. J., McDermott E. W. Detected peritoneal fluid in small bowel obstruction is associated with the need for surgical intervention. Can J Surg 2009;52(3):201-206.

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ СОСУДОВ ГОЛОВНОГО МОЗГА ЛАБОРАТОРНЫХ ГРЫЗУНОВ ПОСЛЕ ПЕРЕНЕСЕННОЙ ИНФЕКЦИИ COVID-19

Никитина К. А.¹, Гафиатуллина Г. Ш.¹, Дорош Н. В.², Сорокина Л. Е.², Макалиш Т. П.²,

Зяблицкая Е. Ю.²

¹ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации; 344022, пер. Нихичеванский, 29, Ростов-на-Дону, Россия

²Ордена Трудового Красного Знамени Медицинский институт имени С. И. Георгиевского федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского» (Медицинский институт им. С. И. Георгиевского ФГАОУ ВО «КФУ им. В. И. Вернадского»), 295051, бул. Ленина, 5/7, Симферополь, Россия

Для корреспонденции: Зяблицкая Евгения Юрьевна, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник Центральной научно-исследовательской лаборатории, Медицинский институт им. С. И. Георгиевского ФГАОУ ВО «КФУ им. В. И. Вернадского», e-mail: evgu79@mail.ru

For correspondence: Evgenia Yu. Ziaiblitskaya, MD, Leading Researcher at the Central Research Laboratory, Order of the Red Banner of Labor Medical Institute named after S. I. Georgievsky V. I. Vernadsky Crimean Federal University (Medical Institute named after S. I. Georgievsky of Vernadsky CFU), e-mail: evgu79@mail.ru

Information about authors:

Nikitina K. A., <https://orcid.org/0009-0005-9177-4451>
 Gafiyatullina G. Sh., <https://orcid.org/0000-0002-7656-2101>
 Dorosh N. V., <https://orcid.org/0009-0000-4279-8936>
 Sorokina L. E., <https://orcid.org/0000-0002-1862-6816>
 Makalish T. P., <https://orcid.org/0000-0003-1884-2620>
 Zyablitetskaya E. Yu., <http://orcid.org/0000-0001-8216-4196>

РЕЗЮМЕ

На сегодняшний день значительную медико-социальную проблему составляют отдаленные последствия инфекции COVID-19 со стороны центральной нервной системы. Не вызывает сомнений ключевое значение повреждения эндотелия сосудов и формирования эндотелиальной дисфункции в развитии долгосрочных осложнений COVID-19. В то же время необходимо проведение дополнительных исследований для расширения наших представлений о характере повреждений центральной нервной системы в случаях «длительного COVID-19». Целью данного исследования стало уточнение характера морфологических изменений сосудов головного мозга после перенесенной инфекции COVID-19. Материал и методы. Экспериментальное исследование проведено на 18 гуманизированных мышах линии B6.CG-TG (K18-ACE2)2, которые были рандомизированы на 2 группы: контрольную группу составили 6 интактных животных, в основную группу вошли 12 животных, которым был смоделирован тяжелый острый респираторный синдром посредством введение суспензии, содержащей высокое количество частиц вируса SARS-CoV-2. Через 30 суток от начала заболевания под наркозом осуществлялась эвтаназия животных. Для морфологического исследования сосудов головного мозга мышей использовали гистологические (окраска гематоксилином-эозином) и морфометрические методы исследования. Результаты. В результате проведенного экспериментального исследования продемонстрировано, что структурные изменения в сосудах головного мозга после перенесенного COVID-19 носят неспецифический характер. В гистопатологической картине наблюдается существенное расширение сосудов, которое одновременно сопровождается значительным увеличение отёка и выраженной воспалительной реакцией, что, по нашему предположению, согласующемуся с данными других исследований, обусловлено преимущественно вторичным вовлечением нервной системы в патологический процесс. Заключение. Таким образом, с учетом накопленного опыта представляется вероятным, что сосудистая дилатация при SARS-CoV-2-инфекции не является адаптивной реакцией, а представляет собой патологический процесс, способствующий нарушению церебральной перфузии и развитию отёка. Эти изменения составляют морфофункциональную основу для развития патологической неврологической симптоматики, наблюданной у пациентов в рамках постковидного синдрома.

Ключевые слова: COVID-19, длительный COVID-19, постковидный синдром, сосуды головного мозга, эндотелиальная дисфункция.

MORPHOLOGICAL FEATURES OF BRAIN VESSELS IN LABORATORY RODENTS AFTER COVID-19

**Nikitina K. A.¹, Gafiyatullina G. Sh.¹, Dorosh N. V.², Sorokina L. E.², Makalish T. P.²,
 Zyablitetskaya E. Yu.²**

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

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

SUMMARY

To date, a significant medical and social problem is the long-term consequences of COVID-19 infection on the part of the central nervous system. There is no doubt about the key importance of damage to the vascular endothelium and the formation of endothelial dysfunction in the development of long-term complications of COVID-19. At the same time, additional research is needed to expand our understanding of the nature of damage to the central nervous system in cases of «long-term COVID-19». This study aimed to clarify the nature of morphological changes in the vessels of the brain after COVID-19 infection. Material and methods. The experimental study was conducted on 18 humanized mice of the B6.CG-TG (K18-ACE2)2 line, which were randomized into 2 groups: the control group consisted of 6 intact animals, and the main group included 12 animals that were modeled with severe acute respiratory syndrome by administering a suspension containing a high number of SARS-CoV-2 virus particles. After 30 days from the onset of the disease, the animals were euthanized under anesthesia. For the morphological study of the brain vessels of mice, histological (hematoxylin and eosin staining) and morphometric methods of research were used. Results. As a result of the experimental study, the nonspecific nature of structural changes in the brain vessels of animals after suffering COVID-19 was demonstrated. In the neuropathological picture, a significant expansion of blood vessels prevailed, which was simultaneously accompanied by a significant increase in edema and a pronounced inflammatory reaction, which, from the point of view of most researchers and in our opinion, is consistent with the predominantly secondary involvement of the nervous system in the pathological process. Conclusion. Thus, considering the accumulated experience, it seems likely that vascular dilation in SARS-CoV-2 infection is not an adaptive response but rather a pathological process that contributes to impaired cerebral perfusion and the development of edema. These changes form the morphofunctional basis for the development of pathological neurological symptoms observed in patients within the framework of post-COVID syndrome.

Key words: COVID-19, long-term COVID-19, post-COVID syndrome, cerebral vessels, endothelial dysfunction.

Начавшись с единичного случая пневмонии в Ухани (КНР), инфекция, вызванная вирусом SARS-CoV-2, стремительно распространилась по миру, приняв масштабы пандемии. По мере течения эпидемиологического процесса стали накапливаться данные о внелегочных и атипичных клинических проявлений новой короновирусной инфекции (Corona Virus Disease 2019, COVID-19) [1]. Распространенность неврологических проявлений нарастает со степенью тяжести COVID-19, составляя примерно 40% пациентов с начальной стадией и достигая 80% случаев при тяжелом течении болезни [2]. Среди неврологических проявлений у пациентов преобладают головная боль, головокружение, судороги, острые нарушения мозгового кровообращения, что указывает на вовлеченность центральной нервной системы (ЦНС) в патогенез COVID-19 [3].

Неврологические нарушения наблюдались не только в остром периоде болезни, но и в отдаленные сроки. По данным метаанализа Premraj L. и соавт., включавшего 11 000 пациентов, более 30% пациентов отмечали различные неврологические нарушения спустя 3 месяца после перенесенного COVID-19. Более того, показано, с течением времени процент обнаружения психоневрологических нарушений у амбулаторных больных возрастал значительно выше, чем у пациентов, перенесших госпитализацию [4].

С учетом высокой частоты встречаемости и социальной значимости отдаленных клинических проявлений в постковидном периоде, было введено понятие «длительный COVID-19».

Несмотря на высокую частоту встречаемости и медико-социальную значимость постковидных

нарушений со стороны ЦНС, многие аспекты, касающиеся патогенеза, остаются предметом дискуссий. На сегодняшний день мнения исследователей о природе таких нарушений разнятся. Считается, что повреждение головного мозга может являться как прямым следствием цитопатических эффектов вируса SARS-CoV-2 на эндотелий сосудов [5], так и вторичным, обусловленным системным воспалительным ответом с развитием цитокинового шторма, повреждением гематоэнцефалического барьера (ГЭБ), гипоксией на фоне дыхательной недостаточности, коагулопатией и др. [6; 7].

Между тем, не вызывает сомнений ключевое значение повреждения эндотелия сосудов и формирования эндотелиальной дисфункции в развитии долгосрочных осложнений COVID-19 [8]. Учитывая, что SARS-CoV-2 тропен к эндотелиоцитам сосудов головного мозга млекопитающих в связи с высокой экспрессией на них ангиотензинпревращающего фернента (АПФ2) [9; 10], становится ясным механизм повреждения эндотелия сосудов и увеличение проницаемости гематоэнцефалического барьера. В то же время представления о характере повреждений центральной нервной системы в случаях «длительного COVID-19» не являются исчерпывающими и требуют проведения дополнительных исследований, которые должны базироваться на патоморфологическом анализе органов-мишеней, т.к. это напрямую отражает происходящие в тканях патологические процессы. В то же время на сегодняшний день имеются лишь единичные данные о патоморфологических изменениях в головном мозге в случаях «длительного COVID-19» [11].

Цель настоящего исследования - уточнение характера морфологических изменений сосудов головного мозга после перенесенной инфекции COVID-19.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Экспериментальное исследование проведено на гуманизированных мышах линии B6.CG-TG (K18-ACE2)2, полученных из Jakson Laboratory (США). После периода карантина и адаптации животные были рандомизированы на 2 группы: контрольную группу составили 6 интактных животных, в основную группу вошли 12 животных, которым был смоделирован тяжелый острый респираторный синдром (TOPC). Моделирование TOPC осуществлялось в боксированном помещении, где мышам интраназально вводили 20 мкл супензии, содержащей высокое количество частиц вируса SARS-CoV-2, полученных от пациентов с ПЦР-подтвержденным COVID-19. Через 3 дня у животных наблюдали признаки TOPC, такие как повышение температуры тела, горбленная поза, малоподвижность, посинение ушей, учащенное дыхание. Через 30 суток от начала заболевания, когда все признаки TOPC отсутствовали, животных выводили из эксперимента под изофлурановым наркозом. После декапитации извлекали мозг, фиксировали его в 10% забуференном формалине и фиксировали в течение 48 часов. После дегидратации и пропитки формалином, изготавливали срезы толщиной 4 мкм, которые окрашивали гематоксилином и эозином по стандартной методике. Готовые препараты просматривали на микроскопе Leica DM2000, с использованием объективов Plan 10x и 40x. Оценивали сохранность гистоархитектоники коры, наличие дистрофических изменений в нейронах, а также состояние микроциркуляторного русла.

Для морфометрического анализа препараты головного мозга мышей были отсканированы с использованием цифрового сканера гистопрепараторов Aperio CS2. Полученные сканированные изображения загружали в программное обеспечение Aperio Image Scope версии 12.4.6, в котором измеряли относительную площадь сосудов и периваскулярных отёков, выделяя на изображениях соответствующие области. Для определения площади сосудов использовали выделение сосудистых структур, а площадь периваскулярных отёков оценивали на основании выявленных зон повышенной светимости вокруг сосудов.

Данные представляли в виде относительной площади (% от общей площади поля зрения) для каждого параметра. Полученные числовые результаты подвергали статистической обработке с использованием программного обеспечения STATISTICA версии 10. Проверку распределения

данных на нормальность проводили с помощью критерия Колмогорова – Смирнова. Поскольку в результате анализа данных было выяснено, что распределение значений признака не соответствовало нормальному, значимость различий между группами оценивали с помощью непараметрического U-критерия Манна – Уитни. Различия считались достоверными при $p < 0,05$. Данные в тексте представлены в виде медианы, верхнего и нижнего quartилей ($Me(Q1;Q3)$).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Гистологическое исследование головного мозга мышей контрольной группы показало нормальное строение коры больших полушарий и сосудистого русла. Капилляры имели четко очерченные стенки без признаков утолщения. Периваскулярные пространства были слабо выражены, что свидетельствует об отсутствии выраженного отека (рис. 1). Нейроны и нейроглия сохраняли характерное расположение и морфологические признаки, что указывает на отсутствие воспалительной реакции и повреждений. Данные результаты соответствуют физиологической норме.

Гистологическое исследование группы мышей, перенесших COVID19, показало значительное увеличение площади сосудов, при этом их стенки остаются четкими без признаков дегенеративных изменений. Периваскулярный отек выражен слабо. Нейроны и глиальные клетки не демонстрируют выраженных изменений. Умеренное увеличение отека при столь выраженной сосудистой реакции может свидетельствовать о частичном нарушении сосудистой проницаемости (рис. 2).

У части животных выявлены выраженные патологические изменения сосудистого русла и окружающих его тканей. Наблюдается значительное расширение сосудов относительно контрольной группы, что свидетельствует о выраженной вазодилатации. Эндотелиальные клетки сохраняют свою целостность, однако стенки сосудов местами утончены. Вокруг сосудов выявляются большие зоны периваскулярного отека, межклеточные пространства расширены. В некоторых участках отмечается частичное смещение клеток, что подтверждает высокую степень отека (рис. 3). Эти изменения могут указывать на повышение проницаемости сосудистой стенки в условиях воспалительного процесса.

В контрольной группе средняя площадь сосудов составила $26,29 \text{ мкм}^2$, а площадь отека $29,23 \text{ мкм}^2$. Наличие незначительных изменений в сосудистом русле здоровых мышей вероятно является следствием взятия биоматериала на исследование. В группе перенесших COVID19 мышей относительная площадь сосудов увеличилась в

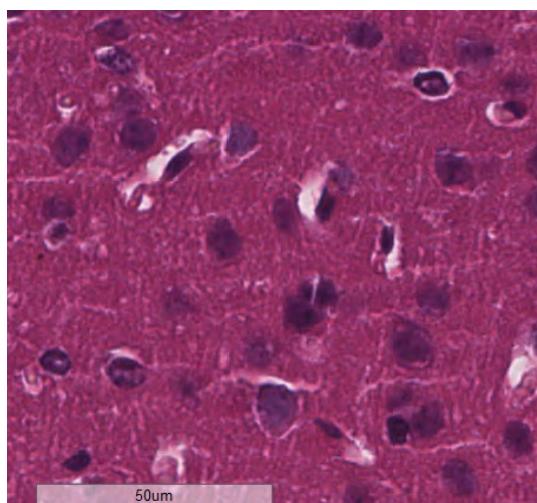
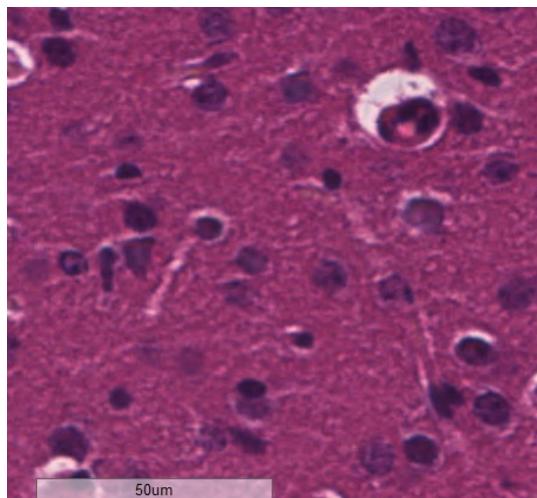


Рис.1. Фрагмент головного мозга мыши контрольной группы. Гематоксилин-эозин, об. 40х
Fig.1. Fragment of the brain of a control group mouse.

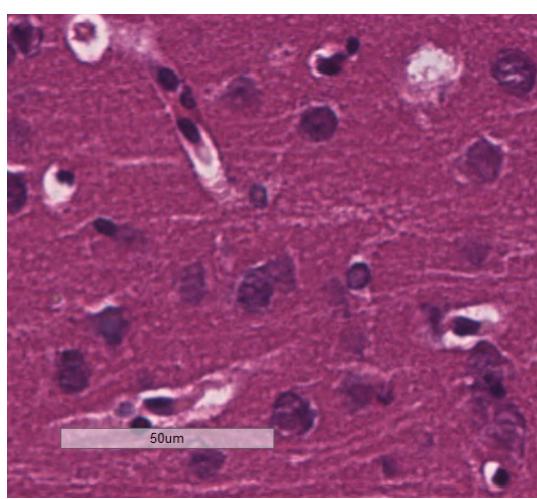


Рис. 2. Фрагмент головного мозга мыши основной группы. Гематоксилин-эозин, об. 40х
Fig.2. Fragment of the brain of a mouse from the main group.

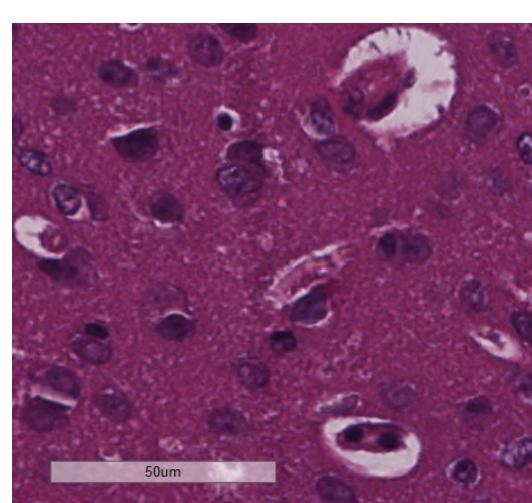
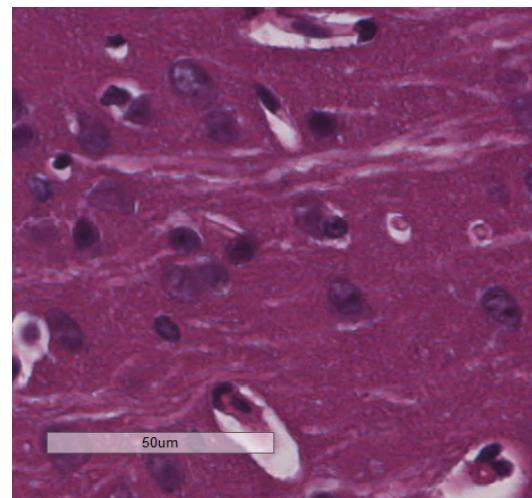


Рис. 3. Фрагмент головного мозга мыши основной группы. Гематоксилин-эозин, об. 40х
Fig.3. Fragment of the brain of a mouse from the main group.

1,5 раза ($p \leq 0,000007$) относительно контроля, что свидетельствует о вазодилатации, при этом относительная площадь отека увеличилась на 52,07%, что подтверждает усиление периваскулярного отека у инфицированных животных. Таким образом, у инфицированных животных наблюдается существенное расширение сосудов, которое одновременно сопровождается значительным увеличением отёка и выраженной воспалительной реакцией.

ОБСУЖДЕНИЕ

Для COVID-19 характерно возникновение и длительное поддержание провоспалительного и прокоагулянтного состояний, что напрямую указывает на эффекторную роль состояния эндотелия сосудов. Эндотелиоциты при этом могут выступать в качестве прямой мишени для вируса, а также подвергаться изменениям в ответ на хроническое воспаление. В любом случае, изменение

Таблица 1. Абсолютные и относительные площади сосудистого русла у здоровых и зараженных мышей (Me(Q1;Q3)).**Table 1. Absolute and relative areas of the vascular bed in healthy and infected mice (Me(Q1;Q3)).**

Показатели	Контрольная группа	Основная группа
Площадь сосудов, мкм ²	26,29 (15,35;47,98)	60,9 (24,97;139,39) *
Площадь отека, мкм ²	29,23 (14,55;45,46)	44,45 (12,11;112,35)
Относительная площадь сосудов, %	1,99 (1,16;30,63)	4,61 (1,89;10,56) *
Относительная площадь отека, %	2,21 (1,10;30,44)	3,37 (0,92;8,51)

Примечание: * - $p \leq 0,05$

эндотелия сосудов может способствовать неблагоприятным исходам, связанным с «длительным COVID-19» [12].

Текущее экспериментальное исследование расширяет имеющиеся представления о патофизиологической основе постковидных нарушений ЦНС и демонстрирует структурные и функциональные изменения сосудов головного мозга у животных, перенесших COVID-19.

Полученные в ходе морфологического анализа данные о наличии периваскулярного отека и сосудистой дилатации у животных, перенесших инфекцию SARS-CoV-2, полностью сопоставимы с представленными в литературе результатами клинических исследований. Так в исследовании Suwanto S, Ferriastuti W., авторы также демонстрируют, что при проведении магнитно-резонансной томографии у пациентов с постковидным синдромом на FLAIR-взвешенных изображениях нередко регистрируются гиперинтенсивные сигналы в белом веществе, свидетельствующие о периваскулярной отёчности [13]. Представленные в литературе результаты аутопсийных исследований головного мозга при COVID-19 демонстрируют наличие периваскулярного отёка, расширения сосудов, инфильтрации Т-лимфоцитами и разрушения сосудистых стенок [14]. Эти изменения сопровождаются локальной гипоперфузией, несмотря на общее расширение сосудистого русла, что объясняется стазом, микротромбозами и нарушением ламинарного тока [15].

Инфекция COVID-19 способствует развитию комплексных нарушений цереброваскулярной регуляции, в центре которых находится патологическая вазодилатация сосудов и связанное с ней формирование периваскулярного отёка. Ранее было показано, что основной клеточной мишенью SARS-CoV-2 служит АПФ2 - естественный фактор гемососудистой регуляции, широко экспрессирующийся на поверхности эндотелия сосудов головного мозга [6,7].

Прямое инфицирование клеток эндотелия приводит к повреждению сосудистой стенки, нарушению ауторегуляции и устойчивому рас-

ширению капилляров и артериол. Этот процесс сопровождается снижением вазомоторной реактивности, что проявляется парадоксальной неспособностью сосудов адекватно реагировать на изменения метаболических потребностей ткани [15].

Кроме того, блокирование АПФ2 и усиление негативной активности АПФ приводит к нарушению ренин-ангиотензиновой ферментной оси, что провоцирует прооксидативные и провоспалительные процессы в сосудистом эндотелии [16].

Посредником между ЦНС и иммунной системой мозга является ГЭБ. Как показали предыдущие модельные исследования, нарушение защитной функции ГЭБ происходит в результате деградации контактных белков на прорхности эндотелиоцитов вследствие репликации вирусов в эндотелиальных клетках [17]. Нарушение защитных механизмов вызывает нейровоспаление, влекущее за собой весь спектр неврологических нарушений, выявляемых при COVID-19 [18]. Нейровоспалительный ответ включает в себя гиперэкспрессию молекул иммунной защиты, активацию окислительных процессов, вызывающих апоптоз нейронов, что служит основой для развития неврологических осложнений в постковидном периоде [19].

Таким образом, с учетом накопленного опыта представляется вероятным, что сосудистая дилатация при SARS-CoV-2-инфекции не является адаптивной реакцией, а представляет собой патологический процесс, способствующий нарушению церебральной перфузии и развитию отёка. Эти изменения составляют морфофункциональную основу для развития патологической неврологической симптоматики, наблюданной у пациентов в рамках постковидного синдрома.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В исследовании продемонстрировано, что структурные изменения в сосудах головного мозга после перенесенного COVID-19 носят неспецифический характер. В гистопатологической картине наблюдается существенное расширение

сосудов, которое одновременно сопровождается значительным увеличение отёка и выраженной воспалительной реакцией, что, по нашему предположению, согласующемуся с данными других исследований, обусловлено преимущественно вторичным вовлечением нервной системы в патологический процесс.

Учитывая высокую частоту сосудистых нарушений у пациентов с лёгким и среднетяжёлым течением COVID-19, важным направлением дальнейших исследований остаётся разработка методов ранней диагностики сосудистой дисрегуляции, а также терапевтических стратегий, направленных на стабилизацию сосудистого тонуса.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

ЛИТЕРАТУРА

1. Niazkar H. R., Zibaee B., Nasimi A., Bahri N. The neurological manifestations of COVID-19: a review article. *Neurol Sci.* 2020;41(7):1667-1671. doi:10.1007/s10072-020-04486-3.
2. Liotta E. M., Batra A., Clark J. R., Shlobin N. A., Hoffman S. C., Orban Z. S., Koralnik I. J. Frequent neurologic manifestations and encephalopathy-associated morbidity in Covid-19 patients. *Ann Clin Transl Neurol.* 2020;7(11):2221-2230. doi:10.1002/acn3.51210.
3. Sisniega D. C., Reynolds A. S. Severe Neurologic Complications of SARS-CoV-2. *Curr Treat Options Neurol.* 2021;23(5):14. doi:1007/s11940-021-00669-1.
4. Premraj L., Kannapadi N.V., Briggs J., Seal S.M., Battaglini D., Fanning J., Suen J., Robba C., Fraser J., Cho S.M. Mid and long-term neurological and neuropsychiatric manifestations of post-COVID-19 syndrome: a meta-analysis. *J Neurol Sci.* 2022;434:120162. doi:10.1016/j.jns.2022.120162.
5. Paniz-Mondolfi A., Bryce C., Grimes Z., Gordon R. E., Reidy J., Lednický J., Sordillo E.M., Fowkes M. Central nervous system involvement by severe acute respiratory syndrome coronavirus-2 (SARS-CoV-2). *J Med Virol.* 2020;92(7):699-702. doi:10.1002/jmv.25915.
6. Fabbri V. P., Rieffoli M., Lazzarotto T., Gabrielli L., Cenacchi G., Gallo C., Aspide R., Frascaroli G., Liguori R., Lodi R., Tonon C., D'Errico A., Foschini M. P. COVID-19 and the brain: the neuropathological Italian experience on 33 adult autopsies. *Biomolecules.* 2022;12(5):629. doi:10.3390/biom12050629.
7. Dunai C., Collie C., Michael B. D. Immune-mediated mechanisms of COVID-19 neuropathology. *Front Neurol.* 2022;13:882905. doi:10.3389/fneur.2022.882905.
8. Кокаева И. О., Жернакова Ю. В., Блинова Н. В. Эндотелиальная дисфункция у больных COVID-19 – ключевой механизм развития осложнений Системные гипертензии. 2022;19(4):37-44. doi:10.38109/2075-082X-2022-4-37-44.
9. South A. M., Diz D. I., Chappell M. C. COVID-19, ACE2, and the cardiovascular consequences. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2020;318(5): H1084-H1090. doi:10.1152/ajpheart.00217.2020.
10. Magrone T., Magrone M., Jirillo E. Focus on receptors for coronaviruses with special reference to angiotensin-converting enzyme 2 as a potential drug target – a perspective. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets* 2020; 20(6): 807-811. doi:10.2174/18753032066200427112902.
11. Omidian N., Mohammadi P., Sadeghalvad M., Mohammadi-Motlagh H.R. Cerebral microvascular complications associated with SARS-CoV-2 infection: How did it occur and how should it be treated? *Biomed Pharmacother.* 2022;154:113534. doi:10.1016/j.biopha.2022.113534.
12. Klok F. A., Kruip M., van der Meer N. J., Arbous M. S., Gommers D., Kant K. M., Kaptein F. H. J., van Paassen J., Stals M. A. M., Huisman M.V., Endeman H. Incidence of thrombotic complications in critically ill ICU patients with COVID-19. *Thromb Res* 2020;191:145-147. doi:10.1016/j.thromres.2020.04.013.
13. Suwanto S., Ferriastuti W. Posterior reversible encephalopathy syndrome on COVID-19. *Radiology Case Reports.* 2022;17(9):3415-3418. doi:10.1016/j.radi.2022.06.081.
14. Wenzel J., Lampe J., Müller-Fielitz H., Schuster R., Zille M., Müller K., Krohn M., Körbelin J., Zhang L., Özorhan Ü., Neve V., Wagner J.U.G., Bojkova D., Shumliakivska M., Jiang Y., Fähnrich A., Ott F., Sencio V., Robil C., Pfefferle S., Sauve F., Coêlho C.F.F., Franz J., Spiecker F., Lembrich B., Binder S., Feller N., König P., Busch H., Collin L., Villaseñor R., Jöhren O., Altmeppen H.C., Pasparakis M., Dimmeler S., Cinatl J., Püschel K., Zelic M., Ofengeim D., Stadelmann C., Trottein F., Nogueiras R., Hilgenfeld R., Glatzel M., Prevot V., Schwaninger M. The SARS-CoV-2 main protease Mpro causes microvascular brain pathology by cleaving NEMO in brain endothelial cells. *Nat Neurosci.* 2021;24(11):1522-1533. doi:10.1038/s41593-021-00926-1.
15. Haidar M. A., Shakkour Z., Reslan M. A., Al-Haj N., Chamoun P., Habashy K., Kaafarani H., Shahjouei S., Farran S. H., Shaito A., Saba E. S., Badran B., Sabra M., Kobeissy F., Bizri M. SARS-CoV-2 involvement in central nervous system tissue

damage. *Neural Regen Res.* 2022;17(6):1228-1239. doi:10.4103/1673-5374.327323.

16. Гомазков О.А. Ковид-19. Клеточные и молекулярные механизмы поражения мозга. Успехи современной биологии. 2021;141(5):457-466. doi:10.31857/S0042132421050033.

17. Leda A.R., Bertrand L., Andras I.E. et al. Selective disruption of the blood-brain barrier by Zika virus. *Front. Microbiol.* 2019;10:2158. doi:10.3389/fmicb.2019.02158.

18. Erickson M.A., Dohi K., Banks W.A. Neuroinflammation: a common pathway in CNS diseases as mediated at the blood-brain barrier. *Neuroimmunomodulation.* 2012;19(2):121-130. doi:10.1159/000330247.

19. Wang M, Hao H, Leeper NJ, Zhu L. Thrombotic Regulation From the Endothelial Cell Perspectives. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology* 2018;38:e90-e95. doi:10.1161/atvaha.118.310367.

REFERENCES

- Niazkar H. R., Zibaei B., Nasimi A., Bahri N. The neurological manifestations of COVID-19: a review article. *Neurol Sci.* 2020;41(7):1667-1671. doi:10.1007/s10072-020-04486-3.
- Liotta E. M., Batra A., Clark J. R., Shlobin N. A., Hoffman S. C., Orban Z. S., Koralnik I. J. Frequent neurologic manifestations and encephalopathy-associated morbidity in Covid-19 patients. *Ann Clin Transl Neurol.* 2020;7(11):2221-2230. doi:10.1002/acn3.51210.
- Sisniega D. C., Reynolds A. S. Severe Neurologic Complications of SARS-CoV-2. *Curr Treat Options Neurol.* 2021;23(5):14. doi:1007/s11940-021-00669-1.
- Premraj L., Kannapadi N.V., Briggs J., Seal S. M., Battaglini D., Fanning J., Suen J., Robba C., Fraser J., Cho S. M. Mid and long-term neurological and neuropsychiatric manifestations of post-COVID-19 syndrome: a meta-analysis. *J Neurol Sci.* 2022;434:120162. doi:10.1016/j.jns.2022.120162.
- Paniz-Mondolfi A., Bryce C., Grimes Z., Gordon R. E., Reidy J., Lednický J., Sordillo E.M., Fowkes M. Central nervous system involvement by severe acute respiratory syndrome coronavirus-2 (SARS-CoV-2). *J Med Virol.* 2020;92(7):699-702. doi:10.1002/jmv.25915.
- Fabbri V. P., Rieffoli M., Lazzarotto T., Gabrielli L., Cenacchi G., Gallo C., Aspide R., Frascaroli G., Liguori R., Lodi R., Tonon C., D'Errico A., Foschini M. P. COVID-19 and the brain: the neuropathological Italian experience on 33 adult autopsies. *Biomolecules.* 2022;12(5):629. doi:10.3390/biom12050629.
- Dunai C., Collie C., Michael B. D. Immune-mediated mechanisms of COVID-19 neuropathology.

Front Neurol. 2022;13:882905. doi:10.3389/fneur.2022.882905.

8. Izolda O. Kokaeva, Yuliya V. Zhernakova, Nataliya V. Blinova. Endothelial dysfunction in patients with COVID-19 is a key mechanism for the development of complications. *Systemic Hypertension.* 2022;19(4):37-44. doi:10.38109/2075-082X-2022-4-37-44.

9. South A. M., Diz D. I., Chappell M. C. COVID-19, ACE2, and the cardiovascular consequences. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2020;318(5): H1084-H1090. doi:10.1152/ajpheart.00217.2020.

10. Magrone T., Magrone M., Jirillo E. Focus on receptors for coronaviruses with special reference to angiotensin-converting enzyme 2 as a potential drug target – a perspective. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets* 2020; 20(6): 807-811. doi:10.2174/187153032066200427112902.

11. Omidian N., Mohammadi P., Sadeghalvad M., Mohammadi-Motlagh H.R. Cerebral microvascular complications associated with SARS-CoV-2 infection: How did it occur and how should it be treated? *Biomed Pharmacother.* 2022;154:113534. doi:10.1016/j.biopha.2022.113534.

12. Klok F. A., Kruip M., van der Meer N. J., Arbous M. S., Gommers D., Kant K. M., Kaptein F. H. J., van Paassen J., Stals M. A. M., Huisman M.V., Endeman H. Incidence of thrombotic complications in critically ill ICU patients with COVID-19. *Thromb Res* 2020;191:145-147. doi:10.1016/j.thromres.2020.04.013.

13. Suwanto S., Ferrriastuti W. Posterior reversible encephalopathy syndrome on COVID-19. *Radiology Case Reports.* 2022;17(9):3415-3418. doi:10.1016/j.radcr.2022.06.081.

14. Wenzel J., Lampe J., Müller-Fielitz H., Schuster R., Zille M., Müller K., Krohn M., Körbelin J., Zhang L., Özorhan Ü., Neve V., Wagner J.U.G., Bojkova D., Shumliakivska M., Jiang Y., Fähnrich A., Ott F., Sencio V., Robil C., Pfefferle S., Sauve F., Coêlho C.F.F., Franz J., Spiecker F., Lembrich B., Binder S., Feller N., König P., Busch H., Collin L., Villaseñor R., Jöhren O., Altmeppen H.C., Pasparakis M., Dimmeler S., Cinatl J., Püschel K., Zelic M., Ofengeim D., Stadelmann C., Trottein F., Nogueiras R., Hilgenfeld R., Glatzel M., Prevot V., Schwaninger M. The SARS-CoV-2 main protease Mpro causes microvascular brain pathology by cleaving NEMO in brain endothelial cells. *Nat Neurosci.* 2021;24(11):1522-1533. doi:10.1038/s41593-021-00926-1.

15. Haidar M. A., Shakkour Z., Reslan M. A., Al-Haj N., Chamoun P., Habashy K., Kaafarani H., Shahjouei S., Farran S. H., Shaito A., Saba E. S., Badran B., Sabra M., Kobeissy F., Bizri M. SARS-CoV-2 involvement in central nervous system tissue

- damage. *Neural Regen Res.* 2022;17(6):1228-1239. doi:10.4103/1673-5374.327323.
16. Gomazkov O.A. Kovid-19. Kletochnye i molekuljarnye mehanizmy porazhenija mozga. *Uspehi sovremennoj biologii.* 2021;141(5):457-466. doi:10.31857/S0042132421050033.
17. Leda A.R., Bertrand L., Andras I.E. et al. Selective disruption of the blood-brain barrier by Zika virus. *Front. Microbiol.* 2019;10:2158. doi:10.3389/fmicb.2019.02158.
18. Erickson M.A., Dohi K., Banks W.A. Neuroinflammation: a common pathway in CNS diseases as mediated at the blood-brain barrier. *Neuroimmunomodulation.* 2012;19(2):121-130. doi:10.1159/000330247.
19. Wang M, Hao H, Leeper NJ, Zhu L. Thrombotic Regulation From the Endothelial Cell Perspectives. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology* 2018;38:e90-e95. doi:10.1161/atvaha.118.310367.

НОВЫЕ ПРЕДИКТОРЫ ПАТОМОРФОЛОГИИ ЭРИТРОЦИТОВ ПРИ ПРЕЭКЛАМПСИИ

Павлова Т. В.¹, Никонова Н. А.², Каплин А. Н.³, Затолокина М. А.^{4,5}, Бахрамова Ш. У.⁶,

Гончаров И. Ю.⁷, Бадах И. А.⁸, Качмарская Л. М.⁵

¹ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава РФ, 197022, ул. Льва Толстого, д. 6-8, Санкт-Петербург, Россия

²ГБУЗ ЯНАО «Ноябрьская ЦГБ», 629806, ул. Муравленко, д. 42-Б, Ноябрьск, Россия,

³ОБУЗ «Патологоанатомическое бюро», 305007, Сумская ул., 45А, корп. 3, Курск, Россия

⁴ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава России, 305041, ул. Карла Маркса, д. 3, Курск, Россия

⁵ФГБОУ ВО «Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева, Медицинский институт», 302026, ул. Комсомольская д. 95, Орел, Россия

⁶Бухарский Государственный Медицинский Институт имени Абу Али ибн Сино, 200118, Гиждуванская ул. 23, Бухара, Республика Узбекистан

⁷ГБОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» Минздрава РФ, 308015, ул. Победы, д.85, Белгород, Россия

⁸Клиника им. Э.Э. Эйхвальда СЗГМУ им. И.И. Мечникова, патологоанатомическое отделение клинической молекулярной морфологии, 197022, ул. Кирочная, д.41, Санкт-Петербург, Россия

Для корреспонденции: Затолокина М.А., ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава России; заведующий кафедрой гистологии, цитологии и эмбриологии ФГБОУ ВО ОГУ им. И.С. Тургенева Медицинский институт, e-mail: marika1212@mail.ru

For correspondence: Maria A. Zatolokina, Kursk State Medical University; Head of the Department of Histology, Cytology, and Embryology, Oryol State University named after I.S. Turgenev, Medical Institute, e-mail: marika1212@mail.ru

Information about authors:

Pavlova T. V., <https://orcid.org/0009-0003-6143-5139>

Nikonova N. A., <https://orcid.org/0009-0003-6143-5139>

Kaplin A. N., <https://orcid.org/0000-0001-5968-7132>

Zatolokina M. A., <https://orcid.org/0000-0002-9553-1597>

Bakhramova S. U., <https://orcid.org/009-0006-2996-2897>

Goncharov I. Y., <https://orcid.org/0000-0002-7734-0535>

Badakh I. A., <https://orcid.org/0009-0002-9162-4064>

Kachmarskaya L. M., <https://orcid.org/0000-0003-2335-2829>

РЕЗЮМЕ

Среди вариантов патологии беременности гипертензивные состояния входят в тройку лидеров. Распространенность их в России, по данным различных авторов, формирует 5-9%, то есть акушер-гинеколог сталкивается с данной проблемой практически каждые десятые роды. Цель исследования: изучение микроархитектоники эритроцитов при ПЭ с применением инновационных методов исследования (атомно-силовая микроскопия). Материал и методы. Выполнено всестороннее изучение 26 беременных, в числе которых 16 женщин были с преэклампсией умеренной (8) и тяжелой (8) степени тяжести и 10 пациенток, составивших контрольную группу. Результаты. Изменения в эритроцитах при преэклампсии имеют одинаковый вектор как в кровеносном русле, так и в органах и тканях матери, в том числе – матке. Эритроциты, как показано при помощи атомно-силовой микроскопии в трехмерном изображении, меняют форму становясь как вытянутыми, за счет нарушения строения эндотелия и уменьшения просвета сосудов, так и в виде шара, в результате прогрессирующего отека. Происходит нарушение их дисковидной формы. Наблюдается нарушение строение плазмолеммы частиц, вплоть до частичного или полного гемолиза. Заключение. Дефекты формы эритроцитов – прямой путь к гипоксии тканей в системе мать-плацента-плод, что лежит в основе альтеративных процессов и, как следствие, возможного развития полиорганной недостаточности у матери и нарушений жизнедеятельности плода и новорожденного.

Ключевые слова: атомно-силовая микроскопия, преэклампсия, эритроциты, матка

NEW PREDICTORS OF ERYTHROCYTE PATHOMORPHOLOGY IN PREECLAMPSIA

Pavlova T. V.¹, Nikonova N. A.², Kaplin A. N.³, Zatolokina M. A.^{4,5}, Bakhramova Sh. U.⁶,

Goncharov I. Yu.⁷, Badakh I. A.⁸, Kachmarskaya L. M.⁵

¹First Saint Petersburg State Medical University named after I.P. Pavlov, St. Petersburg, Russia

²Noyabrsk Central District Hospital, Noyabrsk, Russia

³Pathological Anatomy Hospital, Kursk, Russia

⁴Kursk State Medical University, Kursk, Russia

⁵Orel State University named after I.S. Turgenev, Medical Institute, Orel, Russia

⁶Bukhara State Medical Institute named after Abu Ali ibn Sino, Bukhara, Republic of Uzbekistan

⁷Belgorod State National Research University, Belgorod, Russia

⁸Eichwald Clinic of the North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, Pathological Anatomy Department of Clinical Molecular Morphology, St. Petersburg, Russia

SUMMARY

Among the variants of pregnancy pathology, hypertensive conditions are among the top three. Their prevalence in Russia, according to various authors, is 5-9%, that is, an obstetrician-gynecologist encounters this problem almost every tenth birth. The aim: to study the microarchitecture of erythrocytes in PE using innovative research methods (atomic force microscopy). Material and methods. A comprehensive study of 26 pregnant women was performed, including 16 women with moderate (8) and severe (8) preeclampsia and 10 patients who made up the control group. Results. Changes in erythrocytes in preeclampsia have the same vector both in the bloodstream and in the organs and tissues of the mother, including the uterus. Red blood cells, as shown by atomic force microscopy in a three-dimensional image, change shape, becoming either elongated, due to disruption of the endothelium structure and reduction of the lumen of the vessels, or in the form of a ball, as a result of progressive edema. Their discoid shape is disrupted. A disruption of the structure of the plasma membrane of the particles is observed, up to partial or complete hemolysis. Conclusion. Defects in the shape of red blood cells are a direct path to tissue hypoxia in the mother-placenta-fetus system, which underlies alternative processes and, as a consequence, the possible development of multiple organ failure in the mother and the vital activity of the fetus and newborn.

Key words: atomic force microscopy, preeclampsia, red blood cells, uterus

Среди вариантов патологии беременности гипертензивные состояния входят в тройку лидеров. Распространенность их в России, по данным различных авторов, формирует 5-9%, то есть акушер-гинеколог сталкивается с данной проблемой практически каждые десятые роды. Из них, преэклампсия (ПЭ) и эклампсия составляют 60% и более [1; 4; 5; 7-10]. Связанные с данным заболеванием особенности развития плода и новорождённого могут иметь дальнейшие неблагоприятные исходы. Гипертензивные осложнения беременности, по данным Минздрава России, занимают 4-е место в списке причин материнской смертности [1]. Данная патология снижает качество жизни женщины в связи с развитием заболеваний сердечно-сосудистой системы (раннего атеросклероза, инфаркта, инсульта), эндокринопатий, в первую очередь сахарного диабета 2 типа, формированием метаболического синдрома и других заболеваний.

Новые парадигмы в изучении ПЭ, включая морфологические, позволяют расширить знания о патогенезе, а также сделать возможным внедрения инновационных вариантов диагностики данной патологии [5; 11]. Сюда, безусловно, можно отнести и исследование крови, в том числе методы сканирующей микроскопии [2-4; 6]. Так же факт, наличия взаимосвязи между изменением формы эритроцита и его функциональной активностью, достоверно доказанный в работах отечественных и зарубежных коллег, повышает актуальность изучаемой проблемы [12; 13].

В связи с этим, целью данного исследования явилось изучение микроархитектоники эритроцитов при ПЭ с применением инновационных методов исследования (атомно-силовая микроскопия).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Выполнено всестороннее изучение 26 беременных, в числе которых 16 женщин были с ПЭ умеренной (8) и тяжелой (8) степени тяжести и 10 пациенток, составивших контрольную группу. Роды проведены путем операции кесарево сечение. Материал был отобран в «Белгородской областной клинической больнице Святителя Иоасафа», а также в ГБУЗ ЯНАО «Ноябрьская ЦГБ» (2021-2024г). На проведение данного исследования получено разрешение регионального этического комитета №2 от 18.05.2022 г. при Курском государственном медицинском университете.

Кровь забирали из локтевой вены в пробирки с гепарином. Эритроцитарную массу отмывали методом последовательного разведения изотоническим раствором хлорида натрия (0,9%) и центрифугирования. Полученные образцы наносили на обезжиренные предметные стекла для иммуногистохимического исследования и инкубировали во влажной камере перед сканированием. Изучение морфологии поверхности эритроцитов проводили с использованием сканирующего зондового микроскопа. Пробы эритроцитов помещали во влажную камеру атомно-силового микроскопа «Ntegra-Aura». Сканирование клеток было про-

ведено в режиме полуконтактной микроскопии. Помимо этого, на парафиновых блоках, было осуществлено исследование образцов матки. Обработку и построение ACM-изображений выполняли при помощи программного обеспечения «NOVA» (НТ-МДТ, Россия) и «ImageAnalysis» (НТ-МДТ, Россия) в научно-образовательном и инновационном центре «Наноструктурных материалов и нанотехнологий» ФГАОУ ВО «Белгородского государственного национального исследовательского университета».

Статистическую обработку полученных данных проводили с применением параметрических методов. Нормальность распределения количественных показателей была подтверждена с помощью критерия Шапиро-Уилка и визуального анализа гистограмм. Для сравнения показателей использовали t-критерий Стьюдента для незави-

симых выборок и критерий хи-квадрат. Статистически значимыми считались различия при $p<0.05$. Все расчеты выполнены в программе IBM SPSS Statistics 28.0.

РЕЗУЛЬТАТЫ

При беременности и наличии ПЭ, основная часть эритроцитов была представлена нормоцитами. При этом значительно возрастало число клеток с частичным или полным гемолизом, особенно при тяжелом течении состояния. Часть клеток приобретала форму неправильного овала. Наблюдались клетки вытянутой формы. Возрастало количество цитоплазматических мостиков между структурами, что было составным компонентом коагулопатии: стаз, сладж тромбоз. Наблюдалось появление шаровидных клеток, образованных за счет их отека.

Таблица 1. Состояние эритроцитов в венозном русле у женщин при беременности с наличием пре-экклампсии

Table 1. The state of erythrocytes in the venous bed in women during pregnancy with the presence of preeclampsia

Исследуемые группы	Площадь, μm^2	Объем μm^3	Локальный максимум, μm	Периметр, μm	Диаметр, μm
Контроль	46,08±2,60	8243,50±223,50	642,0±6,20	47,65±2,32	7,65±1,30
ПЭ умеренная	70,30±3,50*	1115,80±350,00*	390,25±40,80*	43,8±2,60	10,20±0,80*
ПЭ тяжелая	75,40±3,20*	13115,80±370,00***	445,20±50,60***	45,8±2,30	12,20±1,20*

Примечание. Площадь – площадь сечения частицы, Объем – объем клетки, Локальный максимум – значение локального максимума (высота эритроцита, отсчитанная от общего нулевого значения), Периметр – периметр сечения, Диаметр – эффективный диаметр (диаметр окружности: площадь приравнивается к площади сечения). * $p<0,05$ в сравнении с контрольной группой. ** $p<0,05$ в сравнении между группами с преэкламсией

Нами было показано (табл.1, рис.1), что при беременности с наличием ПЭ происходило достоверное ($p<0,05$) увеличение площади сечения частицы и составляла при умеренном и тяжелом течении соответственно: 70,30±3,50 μm^2 и 75,40±3,20 μm^2 (в контрольной группе – 46,08±2,60 μm^2). Еще в большей степени менялись величины объема клеток: 1115,80±350,00 μm^3 и 13115,80±370,00 μm^3 (8443,50±223,50 μm^3). Показатели значение локального максимума, наоборот, уменьшались. Периметр сечения достоверно не изменялся в отличии от эффективного диаметра, показатели которого возрастали и составляли: 10,20±0,80 μm и 12,20±1,20 μm (7,65±1,30 μm).

Глубина впадины дискоцитов была: 0,14±0,06 μm и 0,13±0,07 μm , (0,25±0,06 μm). Соотношение диаметра эритроцита к показателям впадины составляли: 17±1 и 16±2 единиц (21±2). Форма и количество пор было изменено. Их становилось

меньше, и они имели значительный разброс в диаметре ($0,61\pm0,21 \mu\text{m}$) и были с рельефными выступами внутри. Расположение их было менее упорядоченным, чем в контрольной группе. Конструкция цитоплазматических отростков была искажена. Они были неоднозначны по размерам и внешнему виду. При этом, в значительной части клеток они вообще отсутствовали. Кривизна центрального углубления изменялась незначительно.

В сосудах эндометрия матки эритроциты при ПЭ чаще были в виде сферы. Величина их составляла 5,15±0,65 мкм. Уменьшение размера следует отнести за счет иного подхода к обработке материала (фиксация, парафиновая проводка и заливка в блоки). Четко выражено полнокровие. Определялись также: стаз, сладж и тромбоз. Поверхность клеток была неровной. Происходило нарушение строения плазмолеммы клеток.

Идентичная тенденция была характерна и для эритроцитов в спиральных артериях миометрия

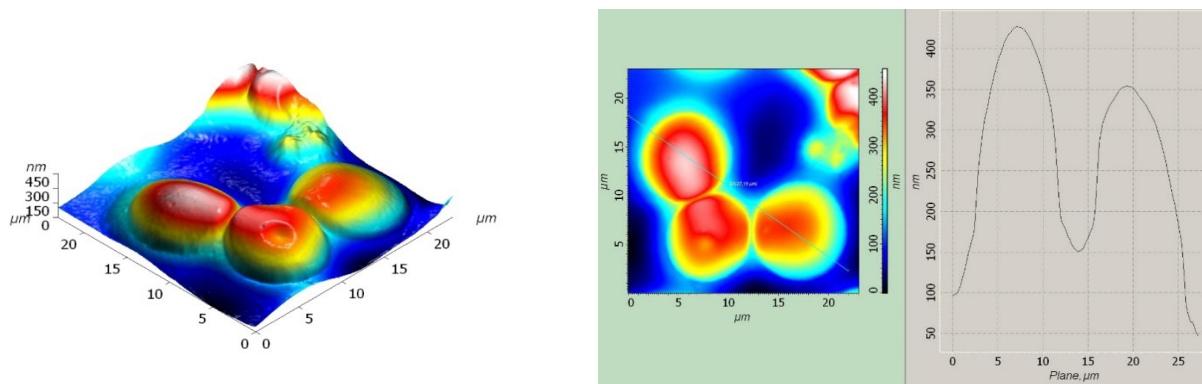
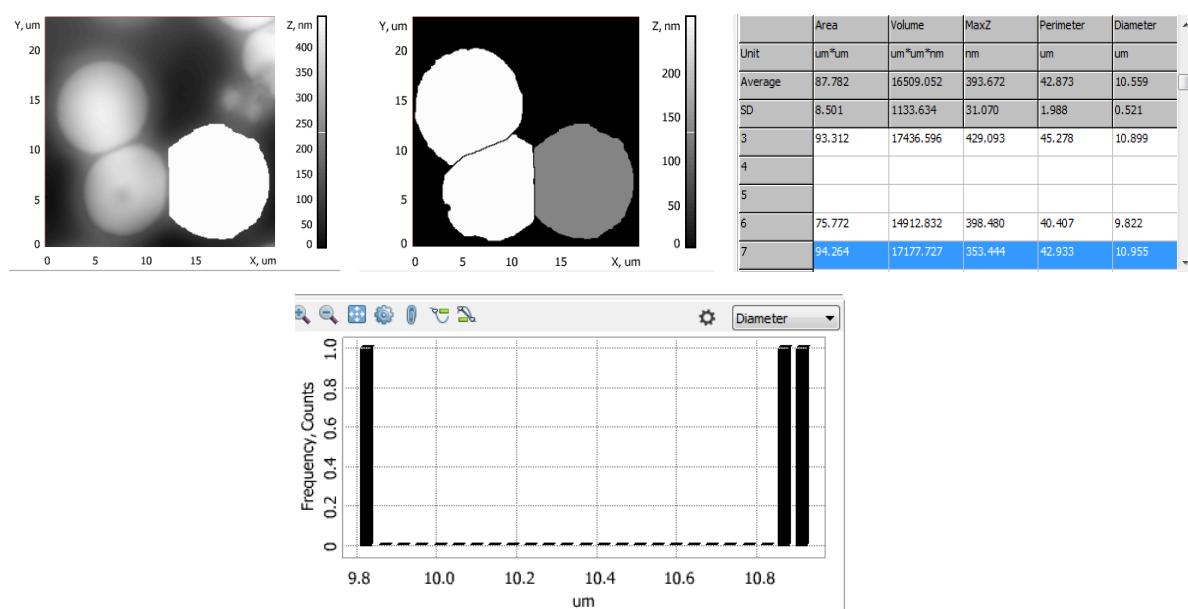


Рис.1. Эритроциты беременных женщин с умеренной преэкламсией. Стаз и сладж. Форма клеток в виде неправильного диска. Уменьшение глубины полости клетки.

Fig. 1. Erythrocytes of pregnant women with moderate preeclampsia. Stasis and sludge. The shape of the cells is an irregular disk. Decreased depth of the cell cavity.



АСМ. Рис. А – трехмерное изображение. Б – двухмерное. Рис. В – графическое изображение рис. Б.
AFM. Fig. A – three-dimensional image. B – two-dimensional. Fig. B – graphic image of Fig. B.

матки с наличием нарушением кровообращения в виде гиперкоагуляции. Причем число тромбов, которые частично или полностью обтурировали просвет сосудов, было больше при тяжелом варианте ПЭ. Помимо этого, для данной патологии беременности, было характерно полнокровие, а также диапедез красных частиц крови за пределы кровеносного русла со скоплениями клеток. Форма и строение эритроцитов в значительной мере была изменена. Часто, за счет отека, они принимали форму шара. Наблюдались варианты неправильного овала за счет нарушения строения эндотелия сосудов. Часть клеток была с частичным или полным патологическим внутриклеточным и внутрисосудистым гемолизом, что в большей степени было характерно для тяжелого течения ПЭ.

ОБСУЖДЕНИЕ

Таким образом, проведенное исследование демонстрирует наличие системных изменений эритроцитов при преэклампсии, имеющих единый патогенетический вектор. Независимо от локализации – в системном кровотоке, органах-мишениях или матке – наблюдаются односторонние патологические процессы: развитие гиперкоагуляции, сочетающейся с геморрагическими проявлениями, прогрессирующие структурные нарушения эритроцитов и усиление гемолиза. Выраженность этих нарушений напрямую коррелирует с тяжестью преэклампсии.

С помощью атомно-силовой микроскопии с трехмерной визуализацией установлены характерные морфологические изменения эритроци-

тов. Выявляются два основных патологических варианта изменения формы: удлиненные формы, обусловленные повреждением эндотелия и сужением просвета сосудов, и сферические формы, формирующиеся вследствие прогрессирующего внутриклеточного отека. Оба варианта представляют собой отклонение от физиологической дисковидной формы эритроцитов.

На ультраструктурном уровне отмечаются значительные повреждения клеточной мембраны эритроцитов, варьирующие от локальных дефектов до полной дезинтеграции мембранны, что приводит к частичному или полному гемолизу. Обнаруженные нарушения соответствуют данным литературы о критическом влиянии изменения формы эритроцитов на их функциональную активность. В частности, исследования Preiser P.R. и соавт. (2021) продемонстрировали сходные морфофункциональные изменения эритроцитов при малярии, а работа Tomaiuolo G. и соавт. (2014) подтвердила универсальность взаимосвязи между структурными аномалиями эритроцитов и их функциональной недостаточностью при использовании современных диагностических методик.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные данные позволяют сделать вывод, что нарушение структурной целостности эритроцитов является ключевым звеном патогенеза преэклампсии, определяющим как микроциркуляторные расстройства, так и прогрессирование системной эндотелиальной дисфункции.

Дефекты формы эритроцитов – прямой путь к гипоксии тканей в системе мать-плацента-плод, что лежит в основе альтеративных процессов и, как следствие, возможного развития полиорганной недостаточности у матери и нарушений жизнедеятельности плода и новорожденного.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflicts of interest. The authors have no conflicts of interest to declare.

ЛИТЕРАТУРА

1. Александрова Г. А., Голубев Н. А., Тюрина Е. М. и др. Основные показатели здоровья матери и ребенка, деятельность службы охраны детства и родовспоможения в Российской Федерации. 2018. М.; 2019.
2. Бухонкина Ю. М., Стрюк Р. И., Чижова Г. В. Функциональное состояние мембран эритроцитов у беременных с гипертонической болезнью, возможности коррекции. Дальневосточный медицинский журнал. 2010;2:45-47.
3. Дрозд Е. С. Атомно-силовая микроскопия структурно-механических свойств мембран эритроцитов. Российский журнал биомеханики. 2009;4(46):22-30.
4. Клинические рекомендации – Преэклампсия. Эклампсия. Отеки, протеинурия и гипертензивные расстройства во время беременности, в родах и послеродовом периоде – 2021-2022-2023 (24.06.2021) – Утверждены Минздравом РФ URL: https://cr.minsdrav.gov.ru/view-cr/637_2
5. Медведев Б. И., Сюндюкова Е. Г., Сашенков С. Л. и др. Клинико-лабораторно-инструментальная модель раннего прогноза преэклампсии. Российский вестник акушера-гинеколога. 2019;19(1):12-17.
6. Павлова Т. В., Щёголев А. И., Каплин А. Н., Селиванова А. В., Землянская Л. О. Применение атомно-силовой микроскопии в комплексной оценке системы «мать-плацента-плод» при акушерской и эндокринной патологии на фоне беременности. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2021;171(2):223-227.
7. Сюндюкова Е. Г., Чулков В. С., Рябикова М. Г. Преэклампсия: современное состояние проблемы. Доктор.Ру. 2021;20(1):11-16.
8. Ходжаева З. С., Ошхунова М. С., Муминова К. Т., Горина К. А., Холин А. М. Прогнозирование и ранняя диагностика преэклампсии: научные перспективы и клинические возможности. Акушерство и гинекология. 2022; 12:57-65
9. Ormesher L., Higson S., Luckie M., Roberts S.A., Glossop H., Trafford A., et al. [Postnatal Enalapril to Improve Cardiovascular Function Following Preterm Preeclampsia (PICkUP): A Randomized Double-Blind Placebo-Controlled Feasibility Trial]. Hypertens (Dallas, Tex 1979). 2020; 76(6):1828 – 37
10. Ghafarzadeh M., Shakarami A., Yari F., Namdari P. [The comparison of side effects of methyldopa, amlodipine, and metoprolol in pregnant women with chronic hypertension]. Hypertens pregnancy. 2020; 39(3): 314 – 8.
11. Pavlova T. V., Malyutina E. S., Selivanova A. V., Petrukhin V. A., Kaplin A. N., Zemlianskaia L. O. New approaches in assessing the clinical and pathomorphological aspects of obstetric pathology in the structure of the mother-placenta-fetus using atomic force research. Systematic Reviews in Pharmacy. 2020;11(6):21-25.
12. Tomaiuolo G., Simeone M., Guido F., де Кандиа Р., Migliaresi C., Oliva A., Pierro L. Red blood cell deformability analysis by microfluidics. Microvasc Res. 2014 Sep;95:49-56. doi: 10.1016/j.mvr.2014.07.005.
13. Sandoval N. M, et al. Red blood cell shape changes and aggregation in diabetes mellitus. PLoS One. 2023 Mar 23;18(3):e0283314. doi: 10.1371/journal.pone.0283314.

REFERENCES

1. Aleksandrova G. A., Golubev N. A., Tyurina E. M., et al. Key indicators of maternal and child health, activities of child welfare and maternity services in the Russian Federation. 2018. M.; 2019. (In Russ.).
2. Bukhonkina Yu. M., Stryuk R. I., Chizhova G. V. Functional state of erythrocyte membranes in pregnant women with hypertension, correction possibilities. Far Eastern Medical Journal. 2010;2:45-47. (In Russ.).
3. Drozd E. S. Atomic force microscopy of structural and mechanical properties of erythrocyte membranes. Russian Journal of Biomechanics. 2009;4(46):22-30. (In Russ.).
4. Clinical guidelines - Preeclampsia. Eclampsia. Edema, proteinuria and hypertensive disorders during pregnancy, childbirth and the postpartum period - 2021-2022-2023 (06.24.2021) - Approved by the Ministry of Health of the Russian Federation URL: https://cr.minsdrav.gov.ru/view-cr/637_2(In Russ.).
5. Medvedev B. I., Syundyukova E. G., Sashenkov S. L. et al. Clinical, laboratory and instrumental model of early prognosis of preeclampsia. Russian Bulletin of Obstetrician-Gynecologist. 2019;19(1):12-17. (In Russ.).
6. Pavlova T. V., Shchegolev A. I., Kaplin A. N., Selivanova A. V., Zemlyanskaya L. O. Application of atomic force microscopy in comprehensive assessment of the mother-placenta-fetus system in obstetric and endocrine pathology during pregnancy. Bulletin of Experimental Biology and Medicine. 2021;171(2):223-227.
7. Syundyukova E. G., Chulkov V. S., Ryabikina M. G. Preeclampsia: current state of the problem. Doctor.Ru. 2021;20(1):11-16. (In Russ.).
8. Khodjaeva Z. S., Oshkhunova M. S., Muminova K. T., Gorina K. A., Kholin A. M. Prediction and early diagnosis of preeclampsia: scientific prospects and clinical possibilities. Obstetrics and Gynecology. 2022; 12:57-65(In Russ.).
9. Ormesher L., Higson S., Luckie M., Roberts S.A., Glossop H., Trafford A., et al. [Postnatal Enalapril to Improve Cardiovascular Function Following Preterm Preeclampsia (PICKUP): A Randomized Double-Blind Placebo-Controlled Feasibility Trial]. Hypertens (Dallas, Texas 1979). 2020; 76(6):1828 – 37
10. Ghafarzadeh M., Shakarami A., Yari F., Namdari P. [The comparison of side effects of methyldopa, amlodipine, and metoprolol in pregnant women with chronic hypertension]. Hypertens pregnancy. 2020; 39(3): 314 – 8.
11. Pavlova T. V., Malyutina E. S., Selivanova A. V., Petrukhin V. A., Kaplin A. N., Zemlianskaia L. O. New approaches in assessing the clinical and pathomorphological aspects of obstetric pathology in the structure of the mother-placenta-fetus using atomic force research. Systematic Reviews in Pharmacy. 2020;11(6):21-25.
12. Tomaiuolo G., Simeone M., Guido F., de Candia P., Migliaresi C., Oliva A., Pierro L. Red blood cell deformability analysis by microfluidics. Microvasc Res. 2014 Sep;95:49-56. doi: 10.1016/j.mvr.2014.07.005.
13. Sandoval N. M., et al. Red blood cell shape changes and aggregation in diabetes mellitus. PLoS One. 2023 Mar 23;18(3):e0283314. doi: 10.1371/journal.pone.0283314.

ОЦЕНКА СТЕПЕНИ РАЗВИТИЯ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА И ЭНДОГЕННОЙ ИНТОКСИКАЦИИ ПРИ ПОЛЛИНОЗЕ У ЖИТЕЛЕЙ КРАСНОДАРСКОГО КРАЯ

Павлюченко И. И.¹, Клименко Я. В.¹, Мартыненко М. Н.¹, Коков Е. А.¹, Федотова Н. В.²,

Мороз А. Н.¹

¹ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Минздрава России, 350063, ул. Митрофана Седина, 4, Краснодар, Россия

²ГБУЗ «НИИ - Краевая клиническая больница № 1 им. профессора С. В. Очаповского», 350086, ул. 1 Мая, 167, Краснодар, Россия

Для корреспонденции: Клименко Яна Владимировна, аспирант кафедры нормальной физиологии, ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет», e-mail: yana.klimenk@mail.ru

For correspondence: Yana V. Klimenko, postgraduate student of the Department of Normal Physiology, Kuban State Medical University, e-mail: yana.klimenk@mail.ru

Information about authors:

Pavluchenko I. I., <http://orcid.org/0001-0001-7080-7641>

Klimenko Ya. V., <http://orcid.org/0000-0002-1470-2391>

Martynenko M. N., <http://orcid.org/0000-0002-7035-0394>

Kokov E. A., <https://orcid.org/0000-0001-5239-0846>

Fedotova N. V., <https://orcid.org/0000-0003-0631-7212>Moroz A. N., <https://orcid.org/0000-0002-0106-0350>

РЕЗЮМЕ

Поллиноз, имеющий мультифакториальную природу, является одним из часто встречающихся аллергических заболеваний, в особенности в Краснодарском крае. Ключевым звеном в патогенезе поллиноза, как и большинства мультифакторных заболеваний, выступает окислительный стресс, обуславливающий целый каскад патобиохимических реакций, приводящих к развитию эндогенной интоксикации в организме. Целью работы стало исследование изменения уровня малонового диальдегида (МДА) и сорбционной способности эритроцитов (ССЭ) как факторов контроля развития окислительного стресса и эндогенной интоксикации при поллинозе в одном из самых аллергенных регионов страны – Краснодарском крае. Материал и методы. Проведено исследование лиц, страдающих поллинозом и пациентов с бронхиальной астмой (БА) изолированной и коморбидной с поллинозом формами, определены показатели уровня МДА и ССЭ в венозной крови. Исследуемая группа пациентов была разделена на подгруппы в зависимости от формы заболевания, результаты сопоставлены с данными контрольной группы. Результаты. Выявлено, изолированный поллиноз характеризуется статистически достоверно повышенными, в сравнении с контрольной группой, реакциями перекисного окисления липидов (высокий МДА) и специфической трансформацией мембран эритроцитов (снижение ССЭ). У пациентов с коморбидной формой поллиноза на фоне БА, а также у пациентов с БА на фоне хронического течения заболевания отмечено менее выраженное повышение уровня МДА и менее выраженное снижение показателя ССЭ. Заключение. Это, возможно, связано с активацией защитных механизмов при хроническом течении БА, что проявляется снижением прооксидантной нагрузки на клеточные структуры у данной группы пациентов на фоне проводимого лечения.

Ключевые слова: мультифакториальные заболевания, поллиноз, сорбционная способность эритроцитов, малоновый диальдегид, окислительный стресс, эндогенная интоксикация

ASSESSMENT OF THE DEGREE OF OXIDATIVE STRESS AND ENDOGENOUS INTOXICATION IN POLLINOSIS IN RESIDENTS OF THE KRASNODAR TERRITORY

Pavlyuchenko I. I.¹, Klimenko Ya. V.¹, Martynenko M. N.¹, Kokov E. A.¹, Fedotova N. V.²,
Moroz A. N.¹

¹Kuban State Medical University, Krasnodar, Russia

²Scientific Research Institute – Ochapovsky Regional Clinical Hospital No. 1, Krasnodar, Russia

SUMMARY

Hay fever, which has a multifactorial nature, is one of the most common allergic diseases, especially in the Krasnodar Territory. The key link in the pathogenesis of pollinosis, like most multifactorial diseases, is oxidative stress, which causes a cascade of pathobiochemical reactions, leading to the development of endogenous intoxication in the body. The aim of the work was to study changes in the level of malondialdehyde (MDA) and the sorption capacity of erythrocytes (SCE) as factors controlling the development of oxidative stress and endogenous intoxication in pollinosis in one of the most allergenic regions of the country – the Krasnodar Territory. Material and methods. A study of people suffering from pollinosis and patients with isolated and comorbid forms of bronchial asthma (BA) with pollinosis was conducted, and the levels of MDA and SCE in venous blood were determined. The study group of patients was divided

into subgroups depending on the form of the disease, the results were compared with the data of the control group. Results. Isolated pollinosis was found to be characterized by statistically significantly increased lipid peroxidation reactions (high MDA) and specific transformation of erythrocyte membranes (decreased SCE) in comparison with the control group. In patients with a comorbid form of pollinosis on the background of BA, as well as in patients with BA on the background of the chronic course of the disease, there was a less pronounced increase in the level of MDA and a less pronounced decrease in the SCE index. Conclusion. This may be due to the activation of protective mechanisms in the chronic course of BA, which is manifested by a decrease in the pro-oxidant load on cellular structures in this group of patients during treatment.

Key words: multifactorial diseases, pollinosis, sorption capacity of erythrocytes, malondialdehyde, oxidative stress, endogenous intoxication

Мультифакториальные заболевания (МФЗ) – обширная группа болезней, имеющих значительный клинический полиморфизм, полигенное наследование, различный возраст манифестации. Распространенность МФЗ составляет около 80-90% от всех патологий человека [1; 2]. Одним из часто встречаемых аллергических заболеваний (АЗ) является поллиноз, который имеет мультифакториальную природу [1]. Пациенты с данной патологией отличаются высокой сенсибилизацией к аэроаллергенам, что является основной причиной развития у них аллергического ринита, конъюнктивита, атопического дерматита (АтД) и БА [1]. Данные нозологии значительно снижают качество жизни лиц, имеющих эти проблемы со здоровьем. По эпидемиологическим данным, заболеваемость поллинозом в стране составляет 15-30%, а на юге России, за счет сложившихся определенных климато-географических и ботанических условий, являющихся благоприятными для роста и распространения аллергенных растений, заболеваемость повышается [1]. Так, в Краснодарском крае более 40% людей имеют гиперчувствительность к аэроаллергенам [1].

Ключевым звеном в патогенезе поллиноза, как и большинства МФЗ, выступает окислительный стресс (ОС), обуславливающий целый каскад патобиохимических реакций свободно-радикального окисления (СРО), прежде всего, реакций перекисного окисления липидов (ПОЛ) [3]. В результате этих процессов образуется большое количество высотоксических продуктов, участвующих в развитии эндогенной интоксикации (ЭИ) [4]. Также, в результате СРО образуются различные представители активных форм кислорода (АФК) в высоких концентрациях, которые инициируют каскадные реакции ПОЛ, в результате чего нарушается структура и функция клеточных мембран и самих клеток всего организма [5]. Особенно токсичное влияние оказывают АФК на красные клетки крови – эритроциты, основная функция которых связана с транспортировкой кислорода [5; 6]. При активации ПОЛ происходят изменения в фосфолипидном слое мембран клеток, в состав которого входят непредельные жирные кислоты, которые являются основной мишенью АФК. Это меняет текучесть мембранны эритроцитов, тем

самым затрудняя их прохождение через ретикуло-эндотелиальный барьер и, соответственно, страдает снабжение тканей кислородом [5; 6]. Компоненты фосфолипидов эритроцитов сами могут становиться токсичными при вовлечении в неконтролируемые реакции ПОЛ, что является фактором образования «брешей» в плазмолемме, влияя на избирательную проницаемость данных клеток крови [6; 7]. Проявления нарушения в мембранных комплексах клеток крови можно отследить по изменению сорбционной способности эритроцитов (ССЭ), которая отражает наличие в организме ОС и ЭИ [7].

В результате неконтролируемых реакций ПОЛ образуется также большое количество разнообразных перекисных продуктов, одним из наиболее часто встречаемых является малоновый диальдегид (МДА). МДА является объективным маркером интенсивности ПОЛ, выраженности ОС и ЭИ, которые имеют место и при поллинозах [1].

Современные исследования выявляют взаимосвязь между ЭИ и ОС при АЗ. В работе Мавлянова Ш. З., Муминова С. Р. и Гулямова Г. Ш. отмечено, что у пациентов с АтД наблюдается разной степени выраженности ЭИ, характеризующаяся повышенным уровнем ССЭ. Так, у лиц с легкой степенью АтД показатель ССЭ в сыворотке крови составил $36,1 \pm 0,69\%$, что достоверно выше ($p < 0,001$), чем в контрольной группе ($29,08 \pm 0,88\%$). При средней тяжести заболевания ССЭ достигла $38,3 \pm 0,28\%$, а уровень пептидов молекул средний массы, отражающих ЭИ – $0,363 \pm 0,005$ ЕЭ. У пациентов с тяжелой формой АтД показатель ССЭ возрос до $40,2 \pm 0,8\%$ [8]. Лаврентьев А. А. и соавторы в исследовании маркеров ЭИ отмечают, что динамика ССЭ коррелирует с клинической картиной – при подостром течении с положительной динамикой отмечается нормализация ССЭ и снижение гипоосмотического гемолиза, а в острых случаях, напротив, наблюдается снижение ССЭ на фоне прогрессирования симптомов [9].

ОС как ключевой фактор патогенеза изучался при многих МФЗ, в том числе и при БА. Так китайские исследователи выявили повышение концентрации МДА в назальной жидкости у пациентов с БА на 38,6-54,9% [10]. Дополняя эти

данные, в работе Abboud M. M. и его коллег демонстрируются значимые изменения окислительных маркеров, включая МДА, в сыворотке крови и слюне лиц с БА по сравнению с контрольной группой ($p<0,05$) [11]. Роль ОС и реакций ПОЛ в аллергических реакциях подтверждается исследованием Zanjani B. N. и ее коллег [12]. У пациентов с аллергической БА уровень МДА в плазме ($4,98\pm1,77$ нмоль/мл) существенно превышал показатели здоровых лиц ($1,14\pm0,31$ нмоль/мл; $p<0,001$), что указывает на вовлеченность процессов ПОЛ в развитие АЗ [12].

Таким образом, изменения ССЭ и основных маркеров ОС, таких как МДА, являются важными индикаторами при оценке тяжести и динамики аллергических патологий, в том числе поллиноза.

Цель данной работы – исследование уровня МДА и ССЭ как факторов контроля развития и течения ОС и ЭИ при поллинозе и БА у жителей Краснодарского края.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Проведено обсервационное когортное исследование «случай-контроль». Осуществлено лабораторно-биохимическое исследование венозной крови 128 человек, страдающих поллинозом, обратившихся в краевой аллергологический центр ГБУЗ «НИИ – ККБ № 1» (81 женщина и 47 мужчин, возраст – 37,0 (20,0;51,75) лет) по поводу обострения заболевания в период март-октябрь 2023 и 2024 годов. Исследуемая группа была разделена на три подгруппы: первая – лица с поллинозом, имеющие подтвержденный диагноз «Аллергический ринит, вызванный пыльцой аллергенных растений» в сочетании с диагнозом «Аллергический конъюнктивит», «Атопический дерматит» (78 человек – 52 женщины и 26 мужчин); вторая – лица с диагнозом «Астма с преобладанием аллергического компонента» (13 человек – 6 женщин и 7 мужчин); третья – сочетанная форма АЗ, включающая диагнозы «Аллергический ринит, вызванный пыльцой аллергенных растений», «Аллергический конъюнктивит», «Атопический дерматит», «Астма с преобладанием аллергического компонента» (37 человек – 23 женщин и 14 мужчин). Диагноз устанавливался на основании сбора данных клинического (анамнез, объективный осмотр) и лабораторного обследования (положительный прик-тест и/или специфические IgE как минимум к одному сезонному аллергену, специальному для региона). В качестве контрольной группы принимались условно здоровые лица, не имеющие данного АЗ, сравнимого с основной группой возраста (114 человек – 44 женщины и 70 мужчины, возраст – 31,0 (22,0; 44,00) год). Все обследованные – жители Краснодарского края. Критерии включения: возраст

от 18 до 75 лет, добровольное информированное согласие, наличие верифицированного диагноза «Аллергический ринит, вызванный пыльцой растений», «Аллергический конъюнктивит», «Атопический дерматит» и «Астма с преобладанием аллергического компонента». Критерии исключения: возраст младше 18 и старше 75 лет; наличие активной симптоматики поллиноза вне сезона цветения аллергенных растений; проведение симптоматической и/или аллергенспецифической терапии на момент исследования; отсутствие добровольного медицинского согласия; инфекционные, онкологические заболевания на момент исследования.

Исследование проведено на базе лаборатории кафедры биологии с курсом медицинской генетики ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Минздрава России, где имеется соответствующее оборудование. Разрешение получено этическим комитетом ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Минздрава России (протокол №111 от 14.09.2022).

Для определения уровня МДА использовалась методика, основанная на определении МДА по реакции с тиобарбитутовой кислотой [13]. ССЭ устанавливали в соответствии с методикой образования окрашенного комплекса с метиленовой синью Тогайбаева А. А. в модификации Копытовой Т. В. [14]. Статистическая обработка осуществлена с помощью языка статистического программирования Python (v. 3.13.3). Расчеты проводились в программе Visual Studio Code (v. 1.101.0). Количественные переменные описаны медианой выборки и выборочными квартилями (Me (Q1-Q3)). Все количественные показатели проверялись на подчинение закону Гаусса с помощью теста Шапиро-Уилка, осуществлялась оценка однородности дисперсий с помощью теста Левена. Попарные сравнения проводились с помощью теста Данна с поправкой Холма. В случае ненормального распределения статистически значимые различия рассчитывались с помощью теста Краскела-Уолиса и U-тест Манна-Уитни. Статистически значимыми признаны показатели при уровне значимости менее 0,05 ($p<0,05$).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Осуществлено исследование крови исследуемых групп лиц, определены показатели уровня МДА и ССЭ. Данные сопоставлены с результатами контрольной группы и представлены в виде графика (рис. 1).

Выявлены существенные изменения в показателях ЭИ – уровне ССЭ и ОС – уровне МДА относительно контрольной группы в сторону увеличения, что свидетельствует о развитии

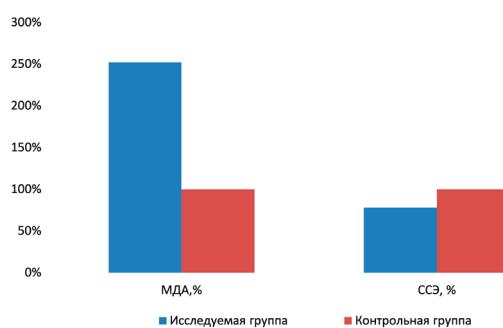


Рис.1. График сравнения показателей ССЭ и уровня МДА в исследуемой и контрольной группах.

Fig.1. Graph of the comparison of SCE and MDA levels in the study and control groups.

Таблица. Показатели уровня МДА и ССЭ контрольной группы и исследуемых подгрупп.
Table. Indicators of the level of MDA and SCE of the control group and the studied subgroups.

	Исследуемая группа (n=128)			Контрольная группа (n=114)
	Поллиноз (n=78)	БА (n=13)	Поллиноз +БА (n=37)	
MDA (мкМоль/л)	23,34 (12,04; 32,58)***			9,27 (5,11; 16,78)
	25,14 (14,24; 33,21)***	18,90 (7,26; 37,09)*	18,54 (11,71; 26,23)***	
ССЭ (усл. ед.)	37,55 (29,70; 50,80)***			48,44 (39,93; 58,29)
	35,33 (29,57; 47,56)***\$	41,67 (27,19; 48,90)	45,00 (32,00; 65,84)	

Примечание: * - различия между группой исследования и контрольной группой при $p<0,05$ (** - при $p<0,01$, *** - при $p<0,001$); \$ - различия между подгруппой лиц с поллинозом и подгруппой поллиноз+БА при $p<0,05$ (\$\$ - при $p<0,01$, \$\$\$ - при $p<0,001$).

Note: * - differences between the study group and the control group at $p<0.05$ (** - at $p<0.01$, *** - at $p<0.001$); \$ - differences between the subgroup of people with hay fever and the subgroup of hay fever+BA at $p<0.05$ (\$\$ - at $p<0.01$, \$\$\$ - at $p<0.001$).

Показатели уровня МДА и ССЭ исследуемой группы пациентов с АЗ имеют статистически достоверные различия относительно группы контроля ($p<0,001$). При анализе подгрупп также установлены статистически значимые изменения изучаемых показателей. Так в подгруппе лиц, страдающих поллинозом без отягощения БА, отмечается повышение уровня МДА в 2,71 раза, а с отягощением в виде БА – 2,00 раз относительно контрольной группы ($p<0,001$), что может быть объяснено приёмом лекарств антиоксидантной направленности у пациентов с БА. При исследовании коморбидной формы данной патологии (поллиноз+БА) отмечается превышение уровня МДА в 2,04 раза относительно здоровых лиц ($p<0,01$). Во всех наблюдаемых подгруппах пациентов наблюдается снижение показателей ССЭ относительно контрольной группы. В подгруппе лиц с поллинозом наблюдается статистически значимое снижение ССЭ в 1,37 раз относительно

типовых патобиохимических процессов у наблюдаемых пациентов на фоне аллергической реакции. Установлено, уровень МДА в крови исследуемой группы в среднем в 2,52 раза превышает показатели контрольной группы. При этом ССЭ в исследуемой группе снижается в 1,29 раз относительно показателей здоровых доноров, что может быть проявлением повышенной плотности клеточных мембран эритроцитов при развитии АЗ.

При разделении исследуемой группы на подгруппы в зависимости от формы заболевания и при сопоставлении показателей между собой, в том числе и с контрольной группой, были получены индивидуальные результаты, которые представлены в виде таблицы (таблица).

контрольной группы ($p<0,001$), а также в 1,27 раз относительно лиц с коморбидной формой заболевания (поллиноз+БА) ($p<0,01$). Статистически достоверных результатов подгруппы БА и коморбидной формы (поллиноз+БА) относительно контрольной группы не было выявлено.

ОБСУЖДЕНИЕ

При сопоставлении полученных показателей выявлено значительное повышение в крови ключевого маркера ПОЛ – МДА, что говорит о выраженному ОС в организме наблюдаемых пациентов. Это повышение наиболее выражено у пациентов с изолированным поллинозом (2,71 раза). Присоединение БА к поллинозу (подгруппа «поллиноз+БА») также приводит к значимому повышению МДА (2,04 раза), однако оно статистически меньше, чем при изолированном поллинозе. Это указывает на то, что наличие БА как сопутствующего заболевания несколько

модифицирует выраженность ОС, измеряемого по МДА, хотя он все равно остается высоким. На фоне повышения уровня МДА наблюдается снижение ССЭ относительно здоровых лиц, что говорит о развитии ЭИ в организме больных. Статистически значимое снижение ССЭ в подгруппе пациентов с изолированным поллинозом в 1,37 раза относительно контроля и в 1,27 раза относительно подгруппы «поллиноз+БА» указывает на нарушение структурно-функциональных свойств мембран эритроцитов при этой форме патологии. ССЭ отражает способность мембран связывать вещества и ее снижение может быть следствием окислительной модификации липидов, а также белков мембранных под действием АФК. Результаты исследования совпадают с ранее опубликованными данными об изменении изучаемых показателей при ОС и ЭИ [8-12]. Важно отметить, что отсутствие статистически значимого снижения ССЭ в подгруппах с коморбидной патологией (поллиноз+БА), а также изолированной БА по сравнению с контролем и изолированным поллинозом, несмотря на наличие значимого ОС (повышенный уровень МДА) позволяет предположить, что при данном течении АЗ, которое имеет хронический характер, ОС отражается на клеточных структурах других органов и систем (в частности сердечно-сосудистой и дыхательных систем), а эритроциты адаптируются к этому состоянию на фоне корректирующей терапии и изменения образа жизни. Это подтверждает факт активизации защитно-адаптационных систем организма при длительно текущих МФЗ, вследствие этого организм пациентов с коморбидной патологией может запускать компенсаторные механизмы, защищающие мембранные эритроцитов, что в дальнейшем предстоит исследовать более подробно.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное исследование выявило важные различия в проявлениях ОС при разных формах поллиноза среди лиц, проживающих в одном из самых аллергенных регионов страны – Краснодарском крае. Изолированный поллиноз характеризуется статистически достоверными наиболее интенсивными реакциями ПОЛ (высокий уровень МДА) и специфической трансформацией мембран эритроцитов (снижение ССЭ), важно также отметить, что наличие коморбидной формы поллиноза с БА, а также изолированной БА, ассоциируется с менее выраженным повышением МДА и меньшим снижением ССЭ. Это может указывать на возможные различные патогенетические механизмы повреждения клеток при данных состояниях и разной степени выраженности уровня ОС и ЭИ у описываемой групп-

пы пациентов, что требует дальнейшего изучения и индивидуальных подходов к терапии.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

ЛИТЕРАТУРА

1. Павлюченко И. И., Клименко Я. В., Прозоровская Ю. И. Полиморфизм генов факторов систем антиоксидантной защиты, биотрансформации ксенобиотиков и иммунной регуляции при аллергических заболеваниях: обсервационное исследование «случай-контроль». Кубанский научный медицинский вестник. 2024;31(6):28-39. doi:10.25207/1608-6228-2024-31-6-28-39.
2. Falcon R. M. G., Caoili S. E. C. Immunologic, genetic, and ecological interplay of factors involved in allergic diseases. Front Allergy. 2023;4:1215616. doi:10.3389/falgy.2023.1215616.
3. Kruk J., Aboul-Enein B. H., Duchnik E., Marchlewicz M. Antioxidative properties of phenolic compounds and their effect on oxidative stress induced by severe physical exercise. J Physiol Sci. 2022;72(1):19. doi:10.1186/s12576-022-00845-1.
4. Пашина Е. В., Золотавина М. Л. Комплекс биохимических показателей в оценке формирования стадий эндогенной интоксикации в клетке. Современные проблемы науки и образования. 2019. 6. URL: <https://science-education.ru/tu/article/view?id=29437>. (Дата обращения: 06.08.2025).
5. Шлапакова Т. И., Костин Р. К., Тягунова Е. Е. Активные формы кислорода: участие в клеточных процессах и развитии патологии. Биоорганическая химия. 2020;46(5):466-485. doi:10.31857/S013234232005022X.
6. Golubeva O. Y., Alikina Y. A., Brazovskaya E. Y. Particles Morphology Impact on Cytotoxicity, Hemolytic Activity and Sorption Properties of Porous Aluminosilicates of Kaolinite Group. Nanomaterials (Basel). 2022;12(15):2559. doi:10.3390/nano12152559
7. Павлюченко И. И., Дынько Ю. В., Басов А. А., Федосов С. Р., Нагорний М. Ю., Павлюченко Е. В. Сорбционная способность эритроцитов и ПОЛ у различных категорий больных с синдромом эндогенной интоксикации. Вопросы анестезиологии и интенсивной терапии : материалы юбил. сессии. Краснодар. 2001:56-60.
8. Федосеев Е. Н., Шаповалова О. О., Шамрова Е. А. Экспериментальное исследование сорбционных свойств эритроцитов. Научное обозрение. Медицинские науки. 2019;1:71-75.
9. Лаврентьев А. А., Попов П. А., Белобородова Л. Л., Бродская Л. В., Черных С. В., Быкова С. В. Маркеры эндотоксикоза: исследование структурных свойств эритроцитов. Науч-

- но-медицинский вестник Центрального Черноземья. 2006;25. URL:<https://cyberleninka.ru/article/n/> (Дата обращения: 06.08.2025).
10. Linchen H., Xiaoxing C., Zhen L., Yanbo T., Karoline K. B., Norris C., Lin F., Lili L., Qian W., Xiaoqian Zh., Jianguo H., Feng L., Yinping Zh., James J. S., Marilyn B., Michael H. Bergin, Junfeng J. Zh. Environmental Science & Technology. 2020;54(18):11405-11413. doi:10.1021/acs.est.0c02558.
 11. Abboud M. M., Al-Rawashde F. A., Al-Zayadneh E. M. Alterations of serum and saliva oxidative markers in patients with bronchial asthma. J Asthma. 2022;59(11):2154-2161. doi:10.1080/0270903.2021.2008426.
 12. Zanjani B. N., Samadi A., Isikhan S. Y., Lay I., Beyaz S., Gelincik A., Buyukozturk S., Arda N. Plasma levels of oxysterols 7-ketosterol and cholestan-3 β , 5 α , 6 β -triol in patients with allergic asthma. J Asthma. 2023;60(2):288-297. doi:10.1080/02770903.2022.2045310.
 13. Стальная И. Д., Гаришвили Т. Г. Метод определения малонового дигидроцида с помощью тиобарбитуровой кислоты. Современные методы в биохимии. М.: Медицина. 1977;37:66-68.
 14. Копытова Т. В. Исследование сорбционной емкости мембран эритроцитов для оценки характера эндогенной интоксикации при дерматозах. Клиническая лабораторная диагностика. 2006;1:18-19.
- REFERENCES**
1. Pavlyuchenko I. I., Klimenko Ya. V., Prozorovskaya Yu. I. Polymorphism of genes of factors of antioxidant protection systems, biotransformation of xenobiotics and immune regulation in allergic diseases: an observational case-control study. Kuban Scientific Medical Bulletin. 2024;31(6):28-39. (In Russ.). doi:10.25207/1608-6228-2024-31-6-28-39.
 2. Falcon R. M. G., Caoili S. E. C. Immunologic, genetic, and ecological interplay of factors involved in allergic diseases. Front Allergy. 2023;4:1215616. doi:10.3389/falgy.2023.1215616.
 3. Kruk J., Aboul-Enein B. H., Duchnik E., Marchlewicz M. Antioxidative properties of phenolic compounds and their effect on oxidative stress induced by severe physical exercise. J Physiol Sci. 2022;72(1):19. doi:10.1186/s12576-022-00845-1.
 4. Pashina E. V., Zolotavina M. L. A complex of biochemical parameters in assessing the formation of stages of endogenous intoxication in a cell. Modern problems of science and education. 2019;6. URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=29437>. (Accessed June 8, 2025). (In Russ.).
 5. Shlapakova T. I., Kostin R. K., Tyagunova E. E. Reactive oxygen species: involvement in cellular processes and the development of pathology. Bioorganic chemistry. 2020;46(5):466-485. (In Russ.). doi:10.31857/S013234232005022X.
 6. Golubeva O. Y., Alikina Y. A., Brazovskaya E. Y. Particles Morphology Impact on Cytotoxicity, Hemolytic Activity and Sorption Properties of Porous Aluminosilicates of Kaolinite Group. Nanomaterials (Basel). 2022;12(15):2559. doi:10.3390/nano12152559.
 7. Pavlyuchenko I. I., Dynko Yu. V., Basov A. A., Fedosov S. R., Nagornin M. Yu., Pavlyuchenko E. V. Erythrocyte sorption capacity and SEX in various categories of patients with endogenous intoxication syndrome. Issues of anesthesiology and intensive care : materials of the jubilee. Scientific sessions. Krasnodar. 2001:56-60. (In Russ.).
 8. Fedoseev E. N., Shapovalova O. O., Shamrova E. A. Experimental study of the sorption properties of erythrocytes. Scientific review. Medical sciences. 2019;1:71-75. (In Russ.).
 9. Lavrentiev A. A., Popov P. A., Beloborodova L. L., Brodskaya L. V., Chernykh S. V., Bykova S. V. Markers of endotoxicosis: a study of the structural properties of erythrocytes. Scientific and Medical Bulletin of the Central Chernozem region. 2006;25. URL:<https://cyberleninka.ru/article/n/> (Accessed June 8, 2025). (In Russ.).
 10. Linchen H., Xiaoxing C., Zhen L., Yanbo T., Karoline K. B., Norris C., Lin F., Lili L., Qian W., Xiaoqian Zh., Jianguo H., Feng L., Yinping Zh., James J. S., Marilyn B., Michael H. Bergin, Junfeng J. Zh. Environmental Science & Technology. 2020;54(18):11405-11413. doi:10.1021/acs.est.0c02558.
 11. Abboud M. M., Al-Rawashde F. A., Al-Zayadneh E. M. Alterations of serum and saliva oxidative markers in patients with bronchial asthma. J Asthma. 2022;59(11):2154-2161. doi:10.1080/0270903.2021.2008426.
 12. Zanjani B. N., Samadi A., Isikhan S. Y., Lay I., Beyaz S., Gelincik A., Buyukozturk S., Arda N. Plasma levels of oxysterols 7-ketosterol and cholestan-3 β , 5 α , 6 β -triol in patients with allergic asthma. J Asthma. 2023;60(2):288-297. doi:10.1080/02770903.2022.2045310.
 13. Stalnaya I. D., Garishvili T. G. Method for the determination of malonic dialdehyde using thiobarbituric acid. Modern methods in biochemistry. M.: Medicine. 1977;37: 66-68. (In Russ.).
 14. Kopytova T. V. Investigation of the sorption capacity of erythrocyte membranes to assess the nature of endogenous intoxication in dermatoses. Clinical laboratory diagnostics. 2006;1:18-19. (In Russ.).

РОЛЬ НА⁺, К⁺ - АТФАЗЫ В РЕГУЛЯЦИИ СОКРАТИТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ГЛАДКОМЫШЕЧНЫХ СЕГМЕНТОВ СОННОЙ АРТЕРИИ КРЫСЫ ПРИ ГИПОКСИИ И РЕОКСИГЕНАЦИИ

Смаглий Л. В.^{1,2}, Гусакова В. С.¹, Степовая Е. А.¹, Акбашева О. Е.¹, Ковалев И. В.¹,

Носарев А. В.¹, Ласукова Т. В.¹, Пшемысский М. А. Гусакова С. В.¹

¹ФГБОУ ВО Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России, 634050, ул. Московский тракт 2, Томск, Россия

²ФГБУН Северский биофизический научный центр ФМБА России, 636013, пер. Чекист, 7/2, Северск, Россия

Для корреспонденции: Гусакова Светлана Валерьевна, доктор медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой биофизики и функциональной диагностики, ФГБОУ ВО Сибирский государственный медицинский университет, e-mail: gusacova@yandex.ru

For correspondence: Svetlana V. Gusakova, Doctor of Medical Sciences, Associate Professor, Head of the Department of Biophysics and Functional Diagnostics, Siberian State Medical University, e-mail: gusacova@yandex.ru

Information about authors:

Smaglia L. V., <https://orcid.org/0000-0002-5263-027X>
 Gusakova V. S., <https://orcid.org/0000-0002-0635-6548>
 Steporovaya E. A., <https://orcid.org/0000-0001-9339-6304>
 Akbasheva O. E., <https://orcid.org/0000-0003-0680-8249>
 Kovalev I. V., <https://orcid.org/0000-0002-9269-0170>
 Nosarev A. V., <https://orcid.org/0000-0002-0119-9707>
 Lasukova T. V., <https://orcid.org/0000-0003-3274-6010>
 Pshemyskiy M. A., <https://orcid.org/0009-0001-4839-6070>
 Gusakova S. V., <https://orcid.org/0000-0001-5047-8668>

РЕЗЮМЕ

Сонная артерия регулирует скорость кровотока в зависимости от содержания кислорода в крови. Механизмы изменения механического напряжения сосудистых гладкомышечных клеток (СГМК) при гипоксии и реоксигенации в настоящее время малоизучены. Цель работы: исследовать вклад НА⁺, К⁺-АТФазы в сократительную активность СГМК сонной артерии крысы при гипоксии и реоксигенации. Материал и методы. Исследовали деэндотелизованные кольцевые сегменты сонной артерии крыс-самцов линии Wistar методом тензометрии. Сокращения гладкомышечных клеток вызывали гиперкалиевым раствором (30 мМ KCl) и α1-адреномиметиком фенилэфрином (ФЭ, 1 мкМ). Гипоксические растворы получали их аэрацией азотом (содержание О₂: 10,0±0,2 об.%). Сократительную активность сегментов оценивали после 60-минутной инкубации в гипоксическом растворе. Реоксигенация достигалась сменой гипоксического раствора на раствор Кребса с нормальным содержанием кислорода и 15-минутной инкубацией. НА⁺, К⁺-АТФазу ингибиравали уабаином (100 мкМ). Результаты. Сократительная активность СГМК, вызванная 30 мМ KCl или ФЭ, снижается в условиях гипоксии и реоксигенации, причем при реоксигенации в большей степени. Уабаин на фоне гипоксии и реоксигенации дополнительно снижает механическое напряжение сосудистых сегментов, предсокращенных ФЭ, но не влияет на сокращения, вызванные 30 мМ KCl. Обсуждение. Различия в действии гипоксии и реоксигенации на сокращения, вызванные 30 мМ KCl или ФЭ, вероятно, обусловлено их природой: активация α1-адренорецепторов вовлекает метаболизм фосфоинозитидов и активацию протеинкиназы С, а 30 мМ KCl деполяризует мембрну и активирует потенциал-зависимый вход Ca²⁺. Выводы. Гипоксия и реоксигенация подавляют сократительную активность ГМК сонной артерии, индуцированную 30 мМ KCl и ФЭ. При этом реоксигенация оказывает более выраженное влияние на сокращения, индуцированные гиперкалиевой деполяризацией мембрны. Ингибирование НА⁺, К⁺ - АТФазы потенцирует ингибиющую вспышку гипоксии и реоксигенации на сократительную активность ГМК сонной артерии, вызванную активацией α1-адренорецепторов.

Ключевые слова: сонная артерия, гладкомышечные клетки, гипоксия, реоксигенация, НА⁺, К⁺-АТФаза.

ROLE OF NA⁺, K⁺ - ATPASE IN THE REGULATION OF CONTRACTILE ACTIVITY OF THE RAT CAROTID ARTERY SMOOTH MUSCLE SEGMENTS DURING HYPOXIA AND REOXYGENATION

Smaglia L. V.^{1,2}, Gusakova V. S.¹, Steporovaya E. A.¹, Akbasheva O. E.¹, Kovalev I. V.¹, Nosarev A. V.¹, Lasukova T. V.¹, Pshemyskiy M. A.¹, Gusakova S. V.¹

¹Siberian State Medical University, Tomsk, Russia

²Seversk Biophysical Research Center, Seversk, Russia

SUMMARY

The carotid artery regulates blood flow velocity depending on the oxygen content of the blood. The mechanisms underlying changes in the mechanical tension of vascular smooth muscle cells (VSMCs) during hypoxia and reoxygenation are currently poorly understood. Objective: To investigate the contribution of Na^+,K^+ -ATPase to the contractile activity of rat carotid VSMCs during hypoxia and reoxygenation. Material and Methods. Deendothelialized carotid artery annular segments in male Wistar rats were examined using mechanography. Smooth muscle contractions were induced by a hyperpotassium solution (30 mM KCl) and the α 1-adrenergic agonist phenylephrine (PE, 1 μM). Hypoxic solutions were prepared by aerating them with argon (O_2 content: 10.0 ± 0.2 vol%). Contractile activity of the segments was assessed after a 60-minute incubation in a hypoxic solution. Reoxygenation was achieved by replacing the hypoxic solution with Krebs solution with normal oxygen content and incubating for 15 minutes. Results. Contractile activity of VSMCs induced by 30 mM KCl or PE decreased under hypoxia and reoxygenation conditions, with a greater decrease under reoxygenation. In hypoxia and reoxygenation conditions, ouabain additionally suppressed contractile activity VSMCs pre-contracted by PE, but had no effect on contractions induced by 30 mM KCl. Na^+,K^+ -ATPase was inhibited by ouabain (100 μM). Discussion. The difference in the effects of hypoxia and reoxygenation on contractions induced by 30 mM KCl or PE is likely due to their nature: activation of α 1-adrenergic receptors involves phosphoinositide metabolism and protein kinase C activation, while 30 mM KCl depolarizes the membrane and activates voltage-dependent Ca^{2+} entry. Conclusions. Hypoxia and reoxygenation suppress the contractile activity of carotid SMCs induced by highpotassium solution and phenylephrine. Reoxygenation has a more pronounced effect on contractions induced by highpotassium membrane depolarization. Inhibition of Na^+,K^+ -ATPase potentiates the inhibitory effect of hypoxia and reoxygenation on carotid SMC contractility induced by α 1-adrenergic receptor activation.

Key words: carotid artery, smooth muscle cells, hypoxia, reoxygenation, Na^+,K^+ -ATPase.

Артериальное давление и тонус кровеносных сосудов регулируются сокращением и расслаблением гладкомышечных клеток (ГМК). Сокращение ГМК инициируется входом в клетку Ca^{2+} вследствие деполяризации мембран сосудистых ГМК. Реполяризация клеток и восстановление потенциала покоя ГМК обусловлены выходом K^+ и работой Na^+,K^+ -АТФазы. Факторы, влияющие на трансмембранный перенос ионов в ГМК изменяют их сократительную функцию, а следовательно и тонус кровеносных сосудов. Работа Na^+,K^+ -АТФазы зависит от концентрации АТФ, синтез которого требует наличия кислорода (O_2).

Дефицит O_2 (гипоксия) активирует механизмы адаптации [1; 2], которые могут оказывать разнонаправленное влияние на сосудистый тонус, вызывая вазодилатацию или вазоконстрикцию в зависимости от типа сосудистого русла [3-5]. Снижение внутриклеточной концентрации АТФ вследствие гипоксии сопровождается изменением ионной проницаемости мембран ГМК [3; 6; 7], а также работы кальций-fosфолипидного [8; 9], аденилатциклазного и гуанилатциклазного сигнальных каскадов [10-12]. В ряде работ были продемонстрированы транскриптомные изменения, которые, как предполагают, лежат в основе адаптации ГМК к условиям гипоксии [13; 14]. Последующая реоксигенация, согласно данным многочисленных исследований, инициирует сходные молекулярные каскады, усугубляемые дисбалансом в работе эффекторных систем гладких мышц [15-17]. Подобные изменения могут наблюдаться при ряде заболеваний, сопровождающихся гипоксией, сдавлениях тканей или травм, хирургических вмешательствах, и, как следствие приводить к нарушению кровотока. Понимание

механизмов, лежащих в основе дисрегуляции сосудистого тонуса при гипоксии и реоксигенации позволит разработать пути их коррекции и предотвратить развитие нежелательных реакций.

Цель работы: исследовать вклад Na^+,K^+ -АТФазы в сократительную активность сегментов сонной артерии крысы в условиях гипоксии и реоксигенации.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В исследовании использовались кольцевые сегменты сонной артерии крыс крыс-самцов линии Wistar весом 180-250 г. Содержание животных производилось в специализированном виварии с соблюдением всех установленных норм. Животных умерщвляли методом цервикальной дислокации. Протокол исследования одобрен этическим комитетом Сибирского государственного медицинского университета (заключение № 8556 от 21.01.2021).

Сонную артерию, выделенную из животного, помещали в раствор Кребса, содержащий (мМ): 120,4 NaCl , 5,9 KCl , 2,5 CaCl_2 , 1,2 MgCl_2 , 5,5 глюкозы, 15 $\text{NH}_2\text{C}(\text{CH}_2\text{OH})_3$ [tris(hydroxymethyl)-aminomethane] (рН 7,35-7,4), и нарезали на кольцевые сегменты толщиной 2-3 мм. Перед началом эксперимента производили деэндотелизацию сосудистых сегментов методом вращения деревянного шпателя в просвете сегмента в течение 1 мин. Успешность удаления эндотелия подтверждали отсутствием реакции расслабления на ацетилхолин (5 мкМ).

Далее сосудистые гладкомышечные сегменты (СГМС) помещали в рабочую камеру четырехкамерной тензометрической установки Myobath II (WPI, Германия), заполненную раствором Креб-

са, растягивали нагрузкой 500 мг и термостатировали при 37°C в течение 40-50 мин. Сократительные ответы индуцировали заменой нормального раствора Кребса на гиперкалиевый, который получали эквимолярным замещением 30 mM NaCl на KCl. Для исследования сократительных ответов в ответ на активацию α_1 -адренорецепторов использовали селективный α_1 -адреномиметик фенилэфрин (ФЭ, 1 мкМ), который добавляли в рабочую камеру, заполненную нормальным раствором Кребса. Изменение механического напряжения (МН) СГМС регистрировали с помощью аппаратно-программного обеспечения LAB-TRAX-4/16.

Для исследования сократительной активности СГМС в условиях гипоксии исследуемый раствор аэрировали азотом (N₂, чистота 99,95%) непосредственно перед использованием. Содержание кислорода (O₂) в гипоксическом растворе контролировали портативным оксиметром HI 9146-04 (HANNA, Германия): оно не превышало 10,0 ± 0,2 об.%. Чтобы оценить влияние гипоксии на сократительную активность ГМК сонной артерии, сегменты предварительно инкубировали в гипоксическом растворе в течение 60 мин.

Получение условий реоксигенации достигали заменой гипоксического раствора на нормокислический раствор Кребса и инкубированием СГМС в нормокислическом растворе в течение 15 мин.

Для исследования вклада Na⁺, K⁺-АТФазы в сократительную активность СГМС использовали её ингибитор уабаин (100 мкМ). Все используемые в работе реактивы произведены Sigma Aldrich (США). Амплитуду сократительных ответов на действие изучаемых растворов и соединений рассчитывали в процентах от контрольного сокращения на гиперкалиевый раствор Кребса (30 mM KCl) или фенилэфрин (1 мкМ), которые принимали за 100 %.

Статический анализ данных проводили с помощью программного пакета программы Statistica 7.0 for Windows фирмы Statsoft. Характер распределения полученных данных определяли критерием нормальности Колмогорова-Смирнова (выборки не подчинялись нормальному закону распределения). Сравнение контрольных и опытных групп производили с помощью U-критерия Манна-Уитни для независимых выборок и T-критерия Уилкоксона для зависимых выборок. Фактические данные представлены как медиана и межквартирный размах (M (Q1; Q3)). Достоверными считали различия при значении p<0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ

При исследовании действия гипоксии и реоксигенации на сократительную активность сонной

артерии, вызванную деполяризацией в гиперкалиевом растворе, показано снижение амплитуды сокращения СГМС до 94,88 (88,86; 100,7) % на фоне гипоксии, и до 38,14 (29,28; 32,61) % на фоне реоксигенации (n=6, p<0,05). При этом величина сокращения в условиях реоксигенации была достоверно ниже, чем при гипоксии.

Ингибитор Na⁺, K⁺-АТФазы уабаин (100 мкМ) в условия нормоксии снижал величину гиперкалиевого сокращения до 80,12 (79,65; 81,12) % (n = 6, p<0,05).

При исследовании влияния уабаина на фоне гипоксии и реоксигенации на сократительную активность сонной артерии, было показано, что уабаин (100 мкМ) на фоне гипоксии и реоксигенации достоверно снижает амплитуду гиперкалиевого сокращения до 71,24 (69,38; 86,36) % и до 88,48 (76,96; 92,33) %, соответственно, от контрольного гиперкалиевого сокращения (n=6, p <0,05) (рис. 1).

α_1 -адреномиметик ФЭ (1 мкМ) в нормооксигенированном растворе вызывал сокращение СГМС амплитудой 96,0 (93,33; 107,2) % от контрольного гиперкалиевого сокращения, что статистически значимо не отличается от величины гиперкалиевого сокращения (n=6, p>0,05). Инкубация СГМС в гипооксигенированном, а затем в реоксигенированном растворе приводила к статистически значимому снижению амплитуды ФЭ-индуцированного сокращения до 70,15 (65,24; 77,41) % и 63,93 (57,06; 67,82) %, соответственно, от контрольного ФЭ-индуцированного сокращения (p<0,05, n=8). При этом величина МН в условиях реоксигенации была достоверно ниже, чем при гипоксии (рис.2).

Предобработка СГМС уабаином (100 мкМ) снижала величину ФЭ-индуцированного сокращения до 55,26 (53,26; 59,49)% (n=6, p<0,05), а в условиях гипоксии и реоксигенации - до 64,63 (60,73; 65,09) % и 24,31 (23,64; 26,48) %, соответственно, от контрольного ФЭ-индуцированного сокращения (n=8, p<0,05).

Сравнение данных, полученных при изучении влияния гипоксии и реоксигенации на сокращения, вызванные 30 mM KCl и ФЭ (1 мкМ), показало, что ФЭ-индуцированное сокращение более чувствительно к действию гипоксии, чем гиперкалиевое, однако реоксигенация вызывает меньшее снижение величины МН по сравнению с гиперкалиевым сокращением. Гипоксия не оказывала статистически значимого влияния на действие уабаина в случае гиперкалиевого сокращения, но снижала его ингибирующее действие при ФЭ-индуцированном сокращении. При этом амплитуды гиперкалиевого и ФЭ-индуцированного сокращения при действии уабаина в условиях гипоксии не отличались ста-

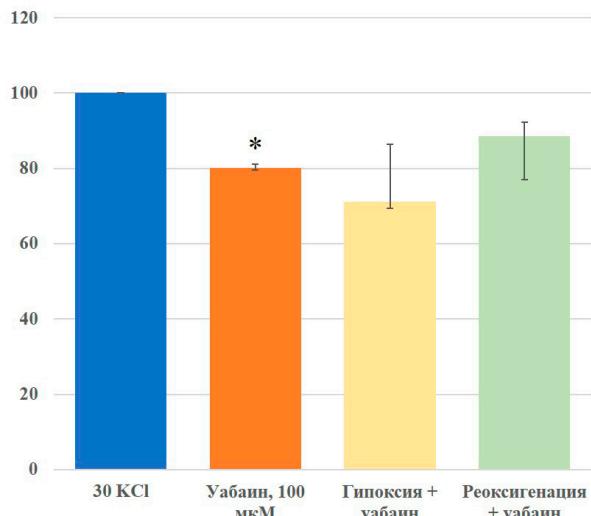


Рис.1. Влияние гипоксии и реоксигенации на действие уабайна (100 мкМ) при гиперкалиевом сокращении. * - достоверные отличия в сравнении с контрольным гиперкалиевым сокращением, # - достоверные отличия в сравнении с гиперкалиевым сокращением в присутствии уабайна.

Fig.1. Study of hypoxia and reoxygenation on the effect of ouabain (100 μ M) during hyperkalemia. * - Significant differences in indicators with the control hyperkalemia, # - Significant differences in indicators with the hyperkalemia within ouabain.

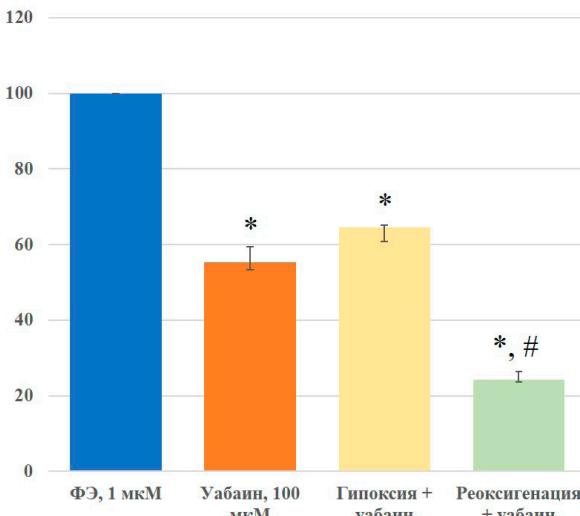


Рис.2. Влияние гипоксии и реоксигенации на действие уабайна (100 мкМ) при гиперкалиевом сокращении. * - достоверные отличия в сравнении с контрольным гиперкалиевым сокращением, # - достоверные отличия в сравнении с гиперкалиевым сокращением в присутствии уабайна.

Fig. 2. The effect of hypoxia and reoxygenation on the action of ouabain (100 μ M) during hyperpotassium contraction. * - significant differences compared to the control hyperpotassium contraction, # - significant differences compared to the hyperpotassium contraction in the presence of ouabain.

Таблица 1. Сравнение действия уабайна (100 мкМ) на гиперкалиевое (30 мМ KCl) и фенилэфрин-индуцированное (ФЭ, 1 мкМ) сокращение в условиях гипоксии и реоксигенации.

Table 1. Comparison of the effect of ouabain (100 μ M) on hyperpotassium (30 mM KCl) and phenylephrine-induced (PE, 1 μ M) contraction under hypoxic and reoxygenated conditions.

Тестируемый раствор				
Уабайн	Гипоксия	Реоксигенация	Гипоксия + уабайн	Реоксигенация + уабайн
30 мМ KCl				
80,12 (79,65; 81,12)	94,88 (88,86; 100,7)	38,14 (29,28; 32,61)	71,24 (69,38; 86,36)	88,48 (76,96; 92,33)
ФЭ, 1 мкМ				
55,26* (53,26; 59,49)	70,15* (65,24; 77,41)	63,93* (57,06; 67,82)	64,63 (60,73; 65,09)	24,31 (23,64; 26,48)*

Примечание: * - статистически значимые различия ($p < 0,05$).

тистически значимо друг от друга. Реоксигенация также не оказывала статистически значимого влияния на действие уабайна при гиперкалиевом сокращении, но достоверно усиливала его при ФЭ-индуцированном сокращении, при этом амплитуда ФЭ-индуцированного сокращения в условиях реоксигенации и при действии уабайна была достоверно ниже по сравнению с амплитудой гиперкалиевого сокращения в этих же условиях (таблица 1).

ОБСУЖДЕНИЕ

Изменение сократительной функции сосудистых ГМК рассматривается как ключевой механизм их адаптации к изменению напряжения кислорода в крови. Сонная артерия транспортирует кровь к головному мозгу и, чтобы обеспечить оптимальное снабжение нервных тканей кислородом, скорость кровотока в сонной артерии (внутренней сонной артерии в частности) регулируется в зависимости от парциального

давления O_2 (pO_2) в крови. Тонус гладких мышц сонной артерии в зависимости от pO_2 регулируется гломусными клетками каротидного синуса, но также, как показали результаты проведенных экспериментов, существуют локальные механизмы регуляции сосудистого тонуса при гипоксии. Так, гипоксия индуцирует выраженную релаксацию ГМК сонной артерии, предсокращенных α_1 -адреномиметиком фенилэфрином, но практически не влияет на гиперкалиевую контрактуру, инициируемую непосредственной деполяризацией мембран ГМК и входом Ca^{2+} через потенциал-зависимые Ca^{2+} -каналы. Это различие, вероятно, обусловлено природой индуцируемых сокращений: активация α_1 -адренорецепторов вовлекает не только receptor-управляемы вход в клетки Ca^{2+} , но и внутриклеточные сигнальные пути, включая метаболизм фосфоинозитидов и активацию протеинкиназы C [1].

Реоксигенация в ещё большей степени подавляла ФЭ-индуцированные сокращения. Вероятный механизм может заключаться в подавлении O_2 -чувствительных сигнальных каскадов, участвующих в обмене Ca^{2+} , необходимого для сокращения ГМК [8; 18]. Согласно другим данным, снижение МН в условиях гипоксии и реоксигенации может быть следствием пассивного транспорта ионов калия [19; 20]. Так, снижение внутриклеточной концентрации АТФ, которое наблюдается в том числе и при гипоксии, способствует активации АТФ-чувствительных калиевых каналов, что приводит к снижению возбудимости ГМК вследствие гиперполяризации [21].

Отдельно выявлено участие Na^+ , K^+ -АТФазы в механизме действия ФЭ на сократимость сонной артерии. Инкубация с блокатором этого фермента, убацином, приводила к достоверному снижению амплитуды сократительного ответа. Вероятно, убацин, ингибируя Na^+ , K^+ -АТФазу и тем самым нарушая восстановление мембранныго потенциала, способствует инактивации потенциал-управляемого входа Na^+ вследствие снижения градиента для Na^+ и инактивации потенциал-управляемых Na^+ -каналов. Следствием этого является снижение потенциал-зависимого входа Ca^{2+} и снижение величины сокращения, генерируемого ГМК [8; 18].

Таким образом, исследование молекулярных механизмов, регулирующих тонус ГМК сонной артерии под влиянием различных веществ в условиях гипоксии, представляет значительный интерес. Полученные результаты вносят вклад в понимание патофизиологии церебрального кровообращения и могут послужить основой для разработки новых стратегий фармакологической коррекции соответствующих патологических состояний.

ВЫВОДЫ

1. Гипоксия и реоксигенация подавляют сократительную активность ГМК сонной артерии, индуцированную гиперкалиевым раствором и фенилэфрином. При этом реоксигенация оказывает более выраженное влияние на сокращения, индуцированные гиперкалиевой деполяризацией мембранны.

2. Ингибиование Na^+ , K^+ - АТФазы потенцирует ингибирующее влияние гипоксии и реоксигенации на сократительную активность ГМК сонной артерии, вызванную активацией α_1 -адренорецепторов.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflicts of interest. The authors have no conflicts of interest to declare

ЛИТЕРАТУРА

1. Лукьянова Л. Д., Кирова Ю. И., Сукоян Г. В. Сигнальные механизмы адаптации к гипоксии и их роль в системной регуляции. Биологические мембранны. 2012;29(4):238-252.
2. Semenza Gr. L. Regulation of Oxygen Homeostasis by Hypoxia-Inducible Factor 1. Physiology. 2009;24(2):97-106. doi:10.1152/physiol.00045.2008.
3. Yamamura A., Yamamura H., Zeifman A., Yuan J. X. Activity of Ca^{2+} -activated Cl^- -channels contributes to regulating receptor- and store-operated Ca entry in human pulmonary artery smooth muscle cells. Pulm. Circ. 2011;1(2):269-279. doi:10.4103/2045-8932.83447.
4. Dulak J., Deshane J., Jozkowicz A., Agarwal A. Heme Oxygenase-1 and Carbon Monoxide in Vascular Pathobiology. Focus on Angiogenesis. Circulation. 2008;117(2):231-241.
5. Luke T., Maylor J., Undem Cl., Sylvester J. T., Shimoda L. A. Kinase-dependent activation of voltage-gated Ca^{2+} channels by ET-1 in pulmonary arterial myocytes during chronic hypoxia. Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol. 2012;302:L1128-L1139. doi:10.1152/ajplung.00396.2011.
6. Flagg T. P., Enkvetchakul D., Koster J. C., Nichols C. G. Muscle KATP channels: recent insights to energy sensing and myoprotection. Physiol. Rev. 2010;90(3):799-829. doi:10.1152/physrev.00027.2009.
7. Prabhakar N. R. Sensing hypoxia: physiology, genetics and epigenetics. J. Physiol. 2013;591(9):2245-2257. doi:10.1113/jphysiol.2012.247759.
8. Calderón-Sánchez E., Fernández-Tenorio M., Ordóñez A., López-Barneo J., Ureña J. Hypoxia inhibits vasoconstriction induced by metabotropic

- Ca₂₊ channel-induced Ca₂₊ release in mammalian coronary arteries. *Cardiovasc. Res.* 2009;82(1):115-124. doi:10.1093/cvr/cvp006.
9. Lai N., Lu W., Wang J. Ca₂₊ and ion channels in hypoxia-mediated pulmonary hypertension. *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* 2015;8(2):1081-1092.
10. Ng L. C., Wilson S. M., McAllister C. E., Hume J. R. Role of InsP₃ and ryanodine receptors in the activation of capacitative Ca₂₊ entry by store depletion or hypoxia in canine pulmonary arterial smooth muscle cells. *Br. J. Pharmacol.* 2007;152(1):101-111.
11. Knock G. A., Ward J. P. Redox regulation of protein kinases as a modulator of vascular function. *Antioxid. Redox Signal.* 2011;15(6):153-1547. doi:10.1089/ars.2010.3614.
12. Ward J. P., Knock G. A., Snetkov V. A., Aaronson P. I. Protein kinases in vascular smooth muscle tone – role in the pulmonary vasculature and hypoxic pulmonary vasoconstriction. *Pharmacol. Ther.* 2004;104(3):207-231.
13. Koltsova S. V., Tremblay J., Hamet P., Orlov S. N. Transcriptomic changes in Ca₂₊-depleted cells: Role of elevated intracellular [Na⁺]/[K⁺] ratio. *Cell Calcium.* 2015;58(3):317-224. doi:10.1016/j.ceca.2015.06.009.
14. Koltsova S. V., Trushina Y., Haloui M., Akimova O. A., Tremblay J., Hamet P., Orlov S. N. Ubiquitous [Na⁺]_i/[K⁺]_i-sensitive transcriptome in mammalian cells: evidence for Ca₂₊-independent excitation-transcription coupling (Electronic resource). *PLoS One.* 2012;7(5). doi:10.1371/journal.pone.0038032.
15. Close L. A., Bowman P. S., Paul R. J. Reoxygenation-induced relaxation of coronary arteries. A novel endothelium-dependent mechanism. *Circ. Res.* 1994;74(5):870-881. doi:10.1161/01.RES.74.5.870.
16. Girn H. R., Ahilathirunayagam S., Mavor Al., Homer-Vanniasinkam S. Reperfusion syndrome: cellular mechanisms of microvascular dysfunction and potential therapeutic strategies. *Vasc. Endovascular. Surg.* 2007;41(4):277-293.
17. Sims N. R., Muyderman H. Mitochondria, oxidative metabolism and cell death in stroke. *Biochim. Biophys. Acta.* 2010;1802:80-91. doi:10.1016/j.bbadi.2009.09.003.
18. Shimizu Sh., Bowman P. S., Thorne III G., Paul R. J. Effects of hypoxia on isometric force, intracellular Ca₂₊, pH, and energetics in porcine coronary artery. *Circ. Res.* 2000;86:862-870. doi:10.1161/01.RES.86.8.862.
19. Shimoda L.A., Polak J. Hypoxia and ion channel function. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 2011;300(5):C951-C967. doi:10.1152/ajpcell.00512.2010.
20. Tano J. Y., Gollasch M. Hypoxia and ischemia-reperfusion: a BiK contribution? *Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.* 2014;307(6):H811-H817. doi:10.1152/ajpheart.00319.2014.
21. Li Y., Aziz Q., Tinker A. The Pharmacology of ATP-Sensitive K⁺ Channels (KATP). *Handb Exp Pharmacol.* 2021;267:357-378. doi:10.1007/164_2021_466.

REFERENCES

1. Lukyanova L. D., Kirova Yu. I., Sukoyan G. V. Signaling Mechanisms of Adaptation to Hypoxia and Its Role in Systemic Regulation. *Biological membranes.* 2012; 29(4):238-252.
2. Semenza Gr. L. Regulation of Oxygen Homeostasis by Hypoxia-Inducible Factor 1. *Physiology.* 2009;24(2):97-106. doi:10.1152/physiol.00045.2008.
3. Yamamura A., Yamamura H., Zeifman A., Yuan J. X. Activity of Ca₂₊-activated Cl⁻ channels contributes to regulating receptor- and store-operated Ca entry in human pulmonary artery smooth muscle cells. *Pulm. Circ.* 2011;1(2):269-279. doi:10.4103/2045-8932.83447.
4. Dulak J., Deshane J., Jozkowicz A., Agarwal A. Heme Oxygenase-1 and Carbon Monoxide in Vascular Pathobiology. Focus on Angiogenesis. *Circulation.* 2008;117(2):231-241.
5. Luke T., Maylor J., Undem Cl., Sylvester J. T., Shimoda L. A. Kinase-dependent activation of voltage-gated Ca₂₊ channels by ET-1 in pulmonary arterial myocytes during chronic hypoxia. *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* 2012;302:L1128-L1139. doi:10.1152/ajplung.00396.2011.
6. Flagg T. P., Enkvetchakul D., Koster J. C., Nichols C. G. Muscle KATP channels: recent insights to energy sensing and myoprotection. *Physiol. Rev.* 2010;90(3):799-829. doi:10.1152/physrev.00027.2009.
7. Prabhakar N. R. Sensing hypoxia: physiology, genetics and epigenetics. *J. Physiol.* 2013;591(9):2245-2257. doi:10.1113/jphysiol.2012.247759.
8. Calderón-Sánchez E., Fernández-Tenorio M., Ordóñez A., López-Barneo J., Ureña J. Hypoxia inhibits vasoconstriction induced by metabotropic Ca₂₊ channel-induced Ca₂₊ release in mammalian coronary arteries. *Cardiovasc. Res.* 2009;82(1):115-124. doi:10.1093/cvr/cvp006.
9. Lai N., Lu W., Wang J. Ca₂₊ and ion channels in hypoxia-mediated pulmonary hypertension. *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* 2015;8(2):1081-1092.
10. Ng L. C., Wilson S. M., McAllister C. E., Hume J. R. Role of InsP₃ and ryanodine receptors in the activation of capacitative Ca₂₊ entry by store depletion or hypoxia in canine pulmonary

- arterial smooth muscle cells. *Br. J. Pharmacol.* 2007;152(1):101-111.
11. Knock G. A., Ward J. P. Redox regulation of protein kinases as a modulator of vascular function. *Antioxid. Redox Signal.* 2011;15(6):153-1547. doi:10.1089/ars.2010.3614.
12. Ward J. P., Knock G. A., Snetkov V. A., Aaronson P. I. Protein kinases in vascular smooth muscle tone – role in the pulmonary vasculature and hypoxic pulmonary vasoconstriction. *Pharmacol. Ther.* 2004;104(3):207-231.
13. Koltsova S. V., Tremblay J., Hamet P., Orlov S. N. Transcriptomic changes in Ca²⁺-depleted cells: Role of elevated intracellular [Na⁺]/[K⁺] ratio. *Cell Calcium.* 2015;58(3):317-224. doi:10.1016/j.ceca.2015.06.009.
14. Koltsova S. V., Trushina Y., Haloui M., Akimova O. A., Tremblay J., Hamet P., Orlov S. N. Ubiquitous [Na⁺]_i/[K⁺]_i-sensitive transcriptome in mammalian cells: evidence for Ca²⁺-independent excitation-transcription coupling (Electronic resource). *PLoS One.* 2012;7(5). doi:10.1371/journal.pone.0038032.
15. Close L. A., Bowman P. S., Paul R. J. Reoxygenation-induced relaxation of coronary arteries. A novel endothelium-dependent mechanism. *Circ. Res.* 1994;74(5):870-881. doi:10.1161/01.RES.74.5.870.
16. Girn H. R., Ahilathirunayagam S., Mavor Al., Homer-Vanniasinkam S. Reperfusion syndrome: cellular mechanisms of microvascular dysfunction and potential therapeutic strategies. *Vasc. Endovascular Surg.* 2007;41(4):277-293.
17. Sims N. R., Muyderman H. Mitochondria, oxidative metabolism and cell death in stroke. *Biochim. Biophys. Acta.* 2010;1802:80-91. doi:10.1016/j.bbadi.2009.09.003.
18. Shimizu Sh., Bowman P. S., Thorne III G., Paul R. J. Effects of hypoxia on isometric force, intracellular Ca²⁺, pH, and energetics in porcine coronary artery. *Circ. Res.* 2000;86:862-870. doi:10.1161/01.RES.86.8.862.
19. Shimoda L.A., Polak J. Hypoxia and ion channel function. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 2011;300(5):C951-C967. doi:10.1152/ajpcell.00512.2010.
20. Tano J. Y., Gollasch M. Hypoxia and ischemia-reperfusion: a BiK contribution? *Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.* 2014;307(6):H811-H817. doi:10.1152/ajpheart.00319.2014.
21. Li Y., Aziz Q., Tinker A. The Pharmacology of ATP-Sensitive K⁺ Channels (KATP). *Handb Exp Pharmacol.* 2021;267:357-378. doi:10.1007/164_2021_466.

МЕТАБОЛИЧЕСКАЯ ПРОФИЛАКТИКА ПОСТРЕЗЕКЦИОННОЙ ПЕЧЕНОЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ РЕМАКСОЛА И АДЕМЕТИОНИНА

Тутаришева С. М., Шевченко А. С., Цымбалик И. Ю., Любченко Д. А., Устинова Е. С.,

Быков И. М.

ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Минздрава России (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 «Кубанский государственный медицинский университет», e-mail: ilya.bh@mail.ru

For correspondence: Ilia 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:

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

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

Tsymbalyuk I. Yu., <https://orcid.org/0000-0002-5711-6659>

Lubchenko D. A., <https://orcid.org/0000-0002-9207-4546>

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

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

РЕЗЮМЕ

Пострезекционная печеночная недостаточность остается основным фактором смертности после выполнения обширных гепатэктомий, что актуализирует проблему метаболической профилактики данного состояния. Целью исследования была оценка эффективности комбинированной энерготропной терапии печеночной недостаточности в условиях обширной частичной резекции печени в эксперименте. Материал и методы. Экспериментальные работы проведены на 5 группах белых нелинейных самцах крыс, включая ложноперированных животных и крыс, которым выполняли резекцию средней и левой боковой долей печени. В условиях резекции для терапии применяли ремаксол (4 мл/сут) и адеметионин (120 мг/сут). Животных наблюдали в течение 2 недель после операции. Результаты. Использование метаболической терапии на 2 сутки после обширных резекций печени сопровождалось снижением на 23-28% выраженностью цитолитического синдрома относительно группы сравнения, животным которой вводили физиологический раствор. В условиях метаболической терапии общая антиоксидантная активность плазмы крови на 14 сутки была на 20-23% выше, чем в группе сравнения. Сравнивая эффективность двух препаратов и трех схем введения следует отметить, что комбинированная терапия не обеспечивала усиления цитопротективного действия адеметионина или антиоксидантных эффектов ремаксола относительно их самостоятельного использования. Однако преимущественно разная направленность действия двух препаратов, обеспечивала синергетическое действие и лучшие результаты послеоперационной выживаемости животных. Смертность в группах крыс, которые получали ремаксол или адеметионин составила также, как и в группе сравнения 26%. В условиях введения ремаксола совместно с адеметионином – 7%. Заключение. В результате проведенных исследований подтверждена возможность метаболической профилактики пострезекционной печеночной недостаточности в экспериментальных условиях с помощью препаратов адеметионин и ремаксол. Показаны перспективы комбинированной терапии с использованием обоих вышеперечисленных препаратов, которая позволяет добиться наиболее низких результатов послеоперационной смертности животных.

Ключевые слова: резекция печени, печеночная недостаточность, антиоксиданты, окислительный стресс, янтарная кислота, адеметионин.

METABOLIC PROPHYLAXIS OF POSTRESECTION LIVER FAILURE IN AN EXPERIMENT USING REMAXOL AND ADEMETHIONINE

Tutarisheva S.M., Shevchenko A. S., Tsymbalyuk I. Yu., Lubchenko D. A., Ustinova E. S.,
Bykov I. M.

Kuban state medical university, Krasnodar, Russia

SUMMARY

Postresection liver failure remains the main factor of mortality after extensive hepatectomies, which highlights the relevance of metabolic prophylaxis of this condition. The aim of the study was to evaluate the effectiveness of combined energotropic therapy of liver failure under conditions of extensive partial liver resection in an experimental setting. Material and methods. Experimental work was carried out on 5 groups of white outbred male rats, including sham-operated animals and rats subjected to resection of the median and left lateral lobes of the liver. In the resection groups, therapy with Remaxol (4 mL/day) and ademethionine (120 mg/day) was administered. The animals were

observed for 2 weeks after surgery. Results. The use of metabolic therapy on day 2 after extensive liver resections was accompanied by a 23-28% reduction in the severity of cytolytic syndrome compared to the control group, which received normal saline. Under metabolic therapy, the total antioxidant activity of blood plasma on day 14 was 20-23% higher than in the control group. Comparing the effectiveness of the two drugs and three administration regimens, it should be noted that combined therapy did not enhance the cytoprotective effect of ademethionine or the antioxidant effects of Remaxol compared to their independent use. However, the predominantly different mechanisms of action of the two agents provided a synergistic effect and better postoperative survival of the animals. Mortality in the groups of rats that received Remaxol or ademethionine was the same as in the control group, 26%. Under combined administration of Remaxol with ademethionine, mortality was 7%. Conclusion. The results of the study confirm the possibility of metabolic prophylaxis of postresection liver failure under experimental conditions using ademethionine and Remaxol. The prospects of combined therapy with both of the above agents are demonstrated, which allows achieving the lowest postoperative mortality rates in animals.

Key words: hepatectomy, liver failure, antioxidants, oxidative stress, succinic acid, ademethionine.

Пострезекционная печеночная недостаточность остается основным фактором смертности после выполнения обширных гепатэктомий. Окислительный стресс связан с послеоперационными осложнениями, но его влияние на функцию печени до конца неясно. После сложных, обширных операций, особенно у пожилых пациентов активные формы кислорода могут усиливать клеточный стресс и повреждение органов. Известно, что от используемого хирургического доступа (открытый или минимально инвазивный) и типа применяемой анестезии зависит выраженность окислительного стресса [1]. У пациентов с хроническим повреждением органов или злокачественными новообразованиями высокий исходный уровень окислительного стресса, связанного с воспалением, потерей крови и ишемией может привести к осложнениям и замедлить процесс выздоровления пациента, что оказывает в итоге влияние на общий исход заболевания и терапии [2]. В области резекции печени, в отличие от трансплантации этого органа, имеются лишь ограниченные данные о периоперационной динамике сывороточных маркеров окислительного стресса и их связи с послеоперационными результатами [3].

Резекции печени по-прежнему ограничены функцией и объемом ткани печени, остающейся *in situ*. В случае недостаточного остаточного объема паренхимы печени может возникнуть потенциально опасная для жизни послеоперационная дисфункция печени (пострезекционная печеночная недостаточность), часто связанная с вторичными сопутствующими факторами, такими как инфекции или кровотечение [4]. Международная исследовательская группа по хирургии печени определяет следующие диагностические критерии пострезекционной печеночной недостаточности: билирубин и протромбиновое время за пределами нормального диапазона на 5-й послеоперационный день или позже [5]. Распространенность данного осложнения варьируется

от 8 до 12%, но увеличивается до 30% и более в зависимости от показаний, степени резекции и уже существующей патологии паренхимы печени, такой как стеатоз или цирроз [6-8].

Цель исследования – оценить эффективность комбинированной энерготропной терапии печеночной недостаточности в условии обширной частичной резекции печени в эксперименте.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Экспериментальные работы проведены на 5 группах лабораторных животных – белые нелейные самцы крыс массой 210-240 грамм. Контрольную группу составили 15 ложнооперированных животных, которым выполняли срединную лапаротомию с последующим ушиванием раны и наблюдением в течение 14 дней. Группу сравнения сформировали также 15 крыс, которым моделировали резекцию 70% паренхимы печени путем удаления средней и левой боковой долей органа. После оперативного вмешательства и ушивания раны также наблюдали животных в течение 14 дней. Животным опытных групп также выполняли частичную резекцию печени в объеме 70% паренхимы, но при условии введения лекарственных препаратов. В качестве медикаментозных средств использовали ремаксол (НТТФ Полосан, Россия) и адеметионин (Гепцифол, Фармасинтез АО, Россия), которые вводили внутрибрюшинно. Ремаксол вводили в объеме 2 мл 2 раза в сутки, суточная дозировка адеметиона составляла 120 мг/кг в сутки. Профилактику пострезекционной печеночной недостаточности начинали выполнять за 5 дней до резекции и продолжали на протяжение всех 14 дней наблюдений. Крысам 3 группы (n=15) вводили ремаксол, 4 группы (n=15) – адеметионин, животные 5 группы (n=15) получали комбинированную терапию – оба используемых лекарственных препарата.

Забор крови осуществляли до моделирования патологического процесса, на 2, 7 и 14 сутки после частичной резекции печени. В сыворотке

крови определяли биохимические показатели: активность АСТ, АЛТ, ЛДГ, концентрации молочной кислоты, общего и прямого билирубина, сывороточного альбумина, общего белка, мочевины и креатинина. Лабораторные исследования выполнены с помощью автоматического биохимического анализатора (Super Z, Китай) и коммерческих наборов реагентов Randox (Великобритания). Для характеристики прооксидантно-антиоксидантного баланса в крови определяли общую антиоксидантную активность железо-восстанавливающим методом и накопление продуктов окислительных повреждений биомолекул (ТБК-реактивные продукты). Определение вышеуказанных маркеров состояния окислительного гомеостаза выполняли ручными методами с использованием колориметрических способов анализа. Измерения проводили с помощью спектрофотометра PERSEE T9DCS (PG Instrument, Китай).

Анализ данных выполнен с использованием программы StatPlus (AnalystSoft Inc., Версия 7. См. www.analystsoft.com/ru/). Оценку значимости различий между несколькими выборками проводили по критерию Краскела-Уоллиса, для попарного сравнения 2-х выборок использовали непараметрический критерий Манна-Уитни. Для сравнения данных внутри одной группы, полученных в разные сроки наблюдения, использовали непараметрический критерий для зависимых групп Уилкоксона. Различия между выборками считали статистически значимыми при соблюдении условия $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведенных исследований было установлено развитие цитолитического синдрома после обширных резекций печени у крыс (таблица 1). На 2 сутки послеоперационного периода в крови животных группы сравнения регистрировался подъем значений активности аминотрансфераз в 26-28 раз относительно своего исходного значения. На 7 сутки наблюдалось значительное снижение анализируемых маркеров, однако активность АЛТ и АСТ оставалась увеличенной в 2 раза. К 14 суткам после операции данные показатели полностью нормализовались в группе сравнения.

Использование метаболической терапии в условии моделирования обширных резекций печени сопровождалось выраженным влиянием на состояние цитолиза гепатоцитов. Наиболее отчетливо заметно было влияние адеметионина при его введении самостоятельно или совместно с ремаксолом. В этом случае уже на 2 сутки выраженность цитолитического синдрома была снижена на 23-28% относительно группы сравнения.

Более низкие значения активности АЛТ и АСТ в плазме крови были также получены во всех опытных группах относительно группы сравнения на 7 сутки. На 14 сутки также, как и во 2 группе в условии метаболической терапии наблюдалось снижение активности аминотрансфераз до уровня контрольных значений, характерных для ложнооперированных животных.

Выявленные изменения активности аминотрансфераз в крови животных после обширных резекций соответствуют выраженности травмы в ходе оперативного вмешательства и повреждения остаточной малой паренхимы органа в результате развития ишемически-реперфузионного синдрома и отека органа [9, 10]. Кажущееся незначительным влияние метаболических препаратов, опровергается данными смертности крыс в постоперационном периоде. Смертность в группах крыс, которые получали ремаксол или адеметионин составила также, как и в группе сравнения 26%. В условии введения ремаксола совместно с адеметионином – 7%. При этом большая часть летальных исходов наблюдалась в первые 3 суток после операции, что усиливает значимость снижения уровня цитолитического синдрома в самые ранние сроки постоперационного периода.

Оценка состояния прооксидантно-антиоксидантного баланса в крови животных после обширных резекций печени также продемонстрировала значимое влияние применяемых способов метаболической поддержки (таблица 2). Общим лабораторным симптомом нарушений окислительного гомеостаза в пострезекционном состоянии было увеличение антиоксидантной активности и концентрации продуктов перекисного окисления липидов, особенно выражено проявляющееся в первые сутки после операции. Так железо-восстанавливающая способность плазмы крови крыс группы сравнения на 2 сутки после операции была увеличена на 80%, на 7 сутки – в 2,2 раза относительно предоперационного уровня данного показателя. Однако к концу недели наблюдалось резкое снижение анализируемого маркера, значение которого составляло только 70% от исходного. Пиковые значения концентрации ТБК-реактивных продуктов наблюдались уже на 2 сутки после выполнения обширных резекций печени и в группе сравнения достигали уровня, увеличенного в 5,2 раза относительно предоперационного. К 14 суткам послеоперационного периода сохранялся увеличенный уровень содержания в крови продуктов окислительных модификаций биомолекул – концентрация ТБК-реактивных продуктов была увеличена в 2,6 раза.

Высокий уровень образования и накопления в крови продуктов перекисных модификаций биомолекул укладывается в представления об интен-

Таблица 1. Изменения активности ферментов цитолитического синдрома в плазме крови в условиях моделирования частичной гепатэктомии и проведения метаболической коррекции.
Table 1. Changes in the activity of cytolytic syndrome enzymes in blood plasma under the conditions of modeling partial hepatectomy and metabolic correction.

Группы лабораторных животных	Срок наблюдения, сут	Активность ферментов	
		АЛТ, ед/л	АСТ, ед/л
Резекция 70%	0	23,0 (19,4/28,3)	27,3 (23,2/32,3)
	2	640,0 (554,2/689,3)	711,1 (657,4/734,8)
	7	45,3 (39,5/48,7)	58,0 (53,3/64,0)
	14	28,5 (24,5/32,5)	36,6 (32,7/40,1)
Резекция 70% + ремаксол	0	22,5 (18,5/25,7)	25,4 (22,4/29,7)
	2	627,4 (561,2/658,2)	704,3 (662,7/730,0)
	7	24,7 (20,4/28,9)*	32,4 (27,5/35,5)*
	14	25,8 (21,3/29,3)	28,7 (24,4/32,8)
Резекция 70% + адеметионин	0	24,0 (21,1/27,8)	26,5 (22,7/31,4)
	2	495,4 (458,2/536,7)*	511,2 (460,5/538,4)*
	7	30,4 (26,4/33,9)*	35,6 (31,3/42,4)*
	14	28,2 (24,5/32,1)	30,0 (26,3/33,8)
Резекция 70% + ремаксол + адеметионин	0	23,3 (19,5/26,8)	27,2 (23,4/32,5)
	2	472,5 (442,1/523,7)*	535,2 (495,3/557,2)*
	7	26,1 (22,3/30,4)*	42,2 (38,3/46,0)*
	14	25,3 (22,3/30,0)	29,4 (25,4/33,6)

Примечание: * – статистически значимые различия при сравнении с показателем группы сравнения на соответствующем этапе наблюдения.

ификации свободнорадикальных процессов при воспалении и ишемии-реперфузии [11; 12]. Рост антиоксидантной активности плазмы крови при этом вероятнее всего имеет другое объяснение. Основная гипотеза такого на первый взгляд противоположного эффекта связана с развитием цитолитического синдрома. В результате наблюдается резкий выброс внутриклеточных молекул, в том числе антиоксидантов, которые могут обуславливать кажущееся увеличение антиокислительной способности биологической жидкости. Это существенно затрудняет использование данного биомаркера в лабораторной диагностике обширных резекций паренхиматозных органов, однако анализ возможностей динамического мониторинга представляет интерес. Полученные в настоящем исследовании данные позволяют обоснованно предположить, что к 14 дню после выполнения операции уровень общей антиоксидантной активности уже более объективно отражает статус окислительного метаболизма и не подвержен влиянию цитолиза гепатоцитов или других клеток.

Оценка влияния метаболической терапии с использованием адеметионина и ремаксола про-

демонстрировала их позитивное влияние, хотя нормализация прооксидантно-антиоксидантного баланса отслеживалась в более поздние сроки в сравнении со снижением уровня цитолитического синдрома. Увеличение общей антиоксидантной активности в первые 7 суток прослеживалось на более низком уровне в условиях применения изучаемых гепатопротекторов, что в целом соответствует данным о снижении выраженности цитолиза гепатоцитов. Особенностью был более высокий уровень данного показателя к концу наблюдения – на 14 сутки. В условии терапии с использованием ремаксола и адеметионина антиоксидантная активность плазмы крови на 14 сутки была на 20-23% выше, чем в группе сравнения. Таким образом, метаболическая терапия сдерживала развитие цитолитического синдрома в первые сутки после обширной резекции печени и обеспечивала поддержку антиоксидантной активности в условии формирования пострезекционной печеночной недостаточности. Данные положение подтверждается влиянием метаболических цитопротекторов на концентрацию ТБК-реактивных продуктов, которая была в основных группах статистически значимо ниже, чем в групп-

Таблица 2. Изменения прооксидантно-антиоксидантного баланса крови в условии моделирования частичной гепатэктомии и проведения метаболической коррекции.
Table 2. Changes in the prooxidant-antioxidant balance of the blood under the conditions of modeling partial hepatectomy and metabolic correction.

Группы лабораторных животных	Срок наблюдения, сут	Активность ферментов	
		ОАОА, мМ вит С	ТБК-РП, усл. ед.
Резекция 70%	0	0,50 (0,47/0,54)	0,47 (0,41/0,49)
	2	0,89 (0,82/0,97)	2,44 (2,21/2,57)
	7	1,11 (1,04/1,16)	1,88 (1,76/2,00)
	14	0,35 (0,32/0,38)	1,20 (1,03/1,34)
Резекция 70% + ремак-сол	0	0,51 (0,48/0,53)	0,45 (0,42/0,48)
	2	0,95 (0,84/1,05)	1,78 (1,57/1,88)*
	7	0,57 (0,48/0,66)*	1,24 (1,10/1,38)*
	14	0,43 (0,39/0,46)*	0,95 (0,87/1,09)*
Резекция 70% + адеметионин	0	0,51 (0,46/0,53)	0,45 (0,42/0,48)
	2	0,83 (0,76/0,90)	2,01 (1,84/2,13)*
	7	0,78 (0,73/0,85)*	1,54 (1,53/1,67)*
	14	0,40 (0,37/0,43)	1,03 (0,93/1,15)
Резекция 70% + ремак-сол + адеметионин	0	0,53 (0,50/0,56)	0,46 (0,42/0,49)
	2	0,90 (0,83/0,97)	1,84 (1,73/2,00)*
	7	0,78 (0,73/0,90)*	1,55 (1,37/1,70)*
	14	0,42 (0,37/0,46)*	0,96 (0,87/1,05)

Примечание: * – статистически значимые различия при сравнении с показателем группы сравнения на соответствующем этапе наблюдения.

пе сравнения на соответствующих этапах наблюдения, начиная уже со вторых суток.

Сравнивая эффективность двух препаратов и трех схем введения следует отметить, что комбинированная терапия не обеспечивала усиления цитопротективного действия адеметионина или антиоксидантных эффектов ремаксола относительно их самостоятельного использования. Однако преимущественно разная направленность действия двух препаратов – дезинтоксикационная и энерготропная, обеспечивала синергетическое действие и лучшие результаты послеоперационной выживаемости животных. Может возникнуть вопрос о целесообразности сочетания ремаксола, который содержит метионин с адеметионином. Вопрос дискуссионный, ремаксол уже содержит метионин, что обосновывает позиционирование его в качестве гепатопротектора. Есть мнение, что использование неактивного метионина в острой фазе поражения печени может быть неэффективным, что связано с необходимостью затраты энергии в условиях гипоэнергетического состояния [13-15]. Дополнительно следует отметить, что при самостоятельном введении ремаксола суточная дозиров-

ка метионина достигала 12 мг/сут, только 1/10 от получаемого вещества в виде адеметионина. Таким образом, перспективным направлением повышения эффективности метаболической терапии пострезекционной печеночной недостаточности может быть усиление действия активной формы метионина введением средств энерготропной направленности, в том числе прямых антиоксидантов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенных исследований была продемонстрирована возможность метаболической профилактики пострезекционной печеночной недостаточности в экспериментальных условиях с помощью препаратов адеметионин и ремаксол. Показаны перспективы комбинированной терапии с использованием обоих вышеуказанных препаратов, которая позволяет добиться наиболее низких результатов послеоперационной смертности животных.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

ЛИТЕРАТУРА

1. Machado I. F., Palmeira C. M., Rolo A. P. Preservation of mitochondrial health in liver ischemia/reperfusion injury. *Biomedicines*. 2023;11(3):948. doi:10.3390/biomedicines11030948.
2. Nakao Y., Adam R., Nasser A. H., et al. Two-stage Hepatectomy Versus Liver Transplantation for Patients with Marginally Resectable Extensive Bilobar Colorectal Liver Metastases. *Ann Surg*. 2025. doi:10.1097/SLA.0000000000006904.
3. Agostini C., Buccianti S., Risaliti M., et al. Complications in Post-Liver Transplant Patients. *J Clin Med*. 2023;12(19):6173. doi:10.3390/jcm12196173.
4. Søreide J. A., Deshpande R. Post hepatectomy liver failure (PHLF) - Recent advances in prevention and clinical management. *Eur J Surg Oncol*. 2021;47(2):216-224. doi:10.1016/j.ejso.2020.09.001.
5. Masuda Y., Yoshizawa K., Ohno Y., et al. Small-for-size syndrome in liver transplantation: Definition, pathophysiology and management. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*. 2020;19(4):334-341. doi:10.1016/j.hbpd.2020.06.015.
6. Primavesi F., Maglione M., Cipriani F., et al. E-AHPBA-ESSO-ESSR Innsbruck consensus guidelines for preoperative liver function assessment before hepatectomy. *Br. J. Surg*. 2023;110:1331-1347. doi:10.1093/bjs/znad233.
7. Rahbari N. N., Garden O. J., Padbury R., et al. Posthepatectomy liver failure: A definition and grading by the international study group of liver surgery (ISGLS). *Surgery*. 2011;149:713-724. doi:10.1016/j.surg.2010.10.001.
8. Sparrelid E., Olthof P. B., Dasari B. V. M., et al. Current evidence on posthepatectomy liver failure: Comprehensive review. *BJS Open*. 2022;6:zrac142. doi:10.1093/bjsopen/zrac142.
9. Orue-Echebarria M. I., Lozano P., Olmedilla L., García Sabrido J. L., Asencio J. M. «Small-for-Flow» Syndrome: Concept Evolution. *J Gastrointest Surg*. 2020;24(6):1386-1391. doi:10.1007/s11605-020-04576-9.
10. Wu Y., Li N., Shu X., et al. Biomechanics in liver regeneration after partial hepatectomy. *Front Bioeng Biotechnol*. 2023;11:1165651. doi:10.3389/fbioe.2023.1165651.
11. Popov K. A., Bykov I. M., Tsymbalyuk I. Yu., Bykov M. I. Correction of ischemic reperfusion liver damage in the experiment with the use of antioxidant drugs. *Medical News of North Caucasus*. 2023;18(2):164-168. doi:10.14300/mnnc.2023.18036.
12. Быков И. М., Шевченко А. С., Цымбалюк И. Ю. и др. Патобиохимические особенности развития пострезекционной печеночной недо-
- статочности и перспективы ее метаболической коррекции. *Инновационная медицина Кубани*. 2024;9(1):144-151. doi:10.35401/2541-9897-2024-9-1-144-151.
13. Быков И. М., Ермакова Г. А., Попов К. А., Попова М. А., Завгородняя А. Г., Устинова Е. С. Влияние комбинированной гепатопротекторной терапии серосодержащими препаратами на состояние окислительного гомеостаза в крови больных алкогольным гепатитом: рандомизированное проспективное исследование. *Кубанский научный медицинский вестник*. 2024;31(6):15-27. doi:10.25207/1608-6228-2024-31-6-15-27.
14. Russmann S., Junker E., Lauterburg B. H. Remethylation and transsulfuration of methionine in cirrhosis: studies with L-[H3-methyl-1-C] methionine. *Hepatology*. 2002;36(5):1190-6. doi:10.1053/jhep.2002.36499.
15. Werge M. P., McCann A., Galsgaard E. D., et al. The Role of the Transsulfuration Pathway in Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. *J Clin Med*. 2021;10(5):1081. doi: 10.3390/jcm10051081.

REFERENCES

1. Machado I. F., Palmeira C. M., Rolo A. P. Preservation of mitochondrial health in liver ischemia/reperfusion injury. *Biomedicines*. 2023;11(3):948. doi:10.3390/biomedicines11030948.
2. Nakao Y., Adam R., Nasser A. H., et al. Two-stage Hepatectomy Versus Liver Transplantation for Patients with Marginally Resectable Extensive Bilobar Colorectal Liver Metastases. *Ann Surg*. 2025. doi:10.1097/SLA.0000000000006904.
3. Agostini C., Buccianti S., Risaliti M., et al. Complications in Post-Liver Transplant Patients. *J Clin Med*. 2023;12(19):6173. doi:10.3390/jcm12196173.
4. Søreide J. A., Deshpande R. Post hepatectomy liver failure (PHLF) - Recent advances in prevention and clinical management. *Eur J Surg Oncol*. 2021;47(2):216-224. doi:10.1016/j.ejso.2020.09.001.
5. Masuda Y., Yoshizawa K., Ohno Y., et al. Small-for-size syndrome in liver transplantation: Definition, pathophysiology and management. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*. 2020;19(4):334-341. doi:10.1016/j.hbpd.2020.06.015.
6. Primavesi F., Maglione M., Cipriani F., et al. E-AHPBA-ESSO-ESSR Innsbruck consensus guidelines for preoperative liver function assessment before hepatectomy. *Br. J. Surg*. 2023;110:1331-1347. doi:10.1093/bjs/znad233.
7. Rahbari N. N., Garden O. J., Padbury R., et al. Posthepatectomy liver failure: A definition and grading by the international study group of liver surgery (ISGLS). *Surgery*. 2011;149:713-724. doi:10.1016/j.surg.2010.10.001.

8. Sparreliid E., Olthof P. B., Dasari B. V. M., et al. Current evidence on posthepatectomy liver failure: Comprehensive review. *BJS Open.* 2022;6:zrac142. doi:10.1093/bjsopen/zrac142.
9. Orue-Echebarria M. I., Lozano P., Olmedilla L., García Sabrido J. L., Asencio J. M. «Small-for-Flow» Syndrome: Concept Evolution. *J Gastrointest Surg.* 2020;24(6):1386-1391. doi:10.1007/s11605-020-04576-9.
10. Wu Y., Li N., Shu X., et al. Biomechanics in liver regeneration after partial hepatectomy. *Front Bioeng Biotechnol.* 2023;11:1165651. doi:10.3389/fbioe.2023.1165651.
11. Popov K. A., Bykov I. M., Tsymbalyuk I. Yu., Bykov M. I. Correction of ischemic reperfusion liver damage in the experiment with the use of antioxidant drugs. *Medical News of North Caucasus.* 2023;18(2):164-168. doi:10.14300/mnnc.2023.18036.
12. Bykov I. M., Shevchenko A. S., Tsymbalyuk I. Yu., et al. Pathobiochemical features of posthepatectomy liver failure and prospects for its metabolic correction. *Innovative Medicine of Kuban.* 2024;9(1):144-151. (In Russ.). doi:10.35401/2541-9897-2024-9-1-144-151.
13. Bykov I. M., Ermakova G. A., Popov K. A., Popova M. A., Zavgorodnyaya A. G., Ustinova E. S. Effect of combination hepatoprotective therapy with sulfur-containing drugs on oxidative homeostasis in the blood of patients with alcoholic hepatitis: A randomized prospective study. *Kuban Scientific Medical Bulletin.* 2024;31(6):15-27. (In Russ.). doi:10.25207/1608-6228-2024-31-6-15-27.
14. Russmann S., Junker E., Lauterburg B. H. Remethylation and transsulfuration of methionine in cirrhosis: studies with L-[H3-methyl-1-C] methionine. *Hepatology.* 2002;36(5):1190-6. doi:10.1053/jhep.2002.36499.
15. Werge M. P., McCann A., Galsgaard E. D., et al. The Role of the Transsulfuration Pathway in Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. *J Clin Med.* 2021;10(5):1081. doi:10.3390/jcm10051081.

ДИНАМИКА ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ ВОСПАЛЕНИЯ И КАНЦЕРОГЕНЕЗА В ТКАНИ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ В НОРМЕ И ПРИ ПАТОЛОГИИ У ЛИЦ, ПЕРЕНЕСШИХ COVID-19

Хабаров О. Р., Зима Д. В., Асанова Э. Р., Макалиш Т. П., Зяблицкая Е. Ю.

Ордена Трудового Красного Знамени Медицинский институт имени С. И. Георгиевского федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского» (Медицинский институт им. С. И. Георгиевского ФГАОУ ВО «КФУ им. В. И. Вернадского»), 295051, бул. Ленина, 5/7, Симферополь, Россия

Для корреспонденции: Зяблицкая Евгения Юрьевна, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник Центральной научно-исследовательской лаборатории, Медицинский институт им. С. И. Георгиевского ФГАОУ ВО «КФУ им. В. И. Вернадского», e-mail: evgu79@mail.ru

For correspondence: Evgenia Yu. Ziablitskaya, MD, Leading Researcher at the Central Research Laboratory, Order of the Red Banner of Labor Medical Institute named after S. I. Georgievsky V. I. Vernadsky Crimean Federal University (Medical Institute named after S. I. Georgievsky of Vernadsky CFU), e-mail: evgu79@mail.ru

Information about authors:

Khabarov O. R., <https://orcid.org/0000-0001-7795-5882>

Zima D. V., <https://orcid.org/0000-0003-4732-0311>

Asanova E. R., <https://orcid.org/0009-0001-0409-3297>

Makalish T. P., <https://orcid.org/0000-0002-1862-6816>

Zyablitskaya E. Yu., [http://orcid.org/0000-0001-8216-4196](https://orcid.org/0000-0001-8216-4196)

РЕЗЮМЕ

Целью данной работы стало изучение динамики иммуногистохимических маркеров воспаления и канцерогенеза в ткани щитовидной железы в норме и при патологии у лиц, перенесших COVID-19. Материал и методы. Включено в исследование 80 пациенток (все женщины), проходивших хирургическое лечение в Многопрофильной клинической больнице Святителя Луки, г. Симферополя с верифицированными диагнозами: 1 – папиллярный рак щитовидной железы (N=40), 2 – аутоиммунный тиреоидит (анамнез более 5 лет) (N=40). Среди каждой группы пациентов выделены по две подгруппы (по N=20): 1 – перенесшие средней тяжести и тяжелую форму COVID-19 с пневмонией и лечением в условиях стационара, 2 – не болевшие COVID-19, возможно перенесшие заболевание субклинически или вакцинированные (составили группы сравнения). С целью изучения особенностей и механизмов патогенного действия вируса SARS-CoV-2 у пациенток с указанными диагнозами была проведена оценка экспрессии маркеров CD4, CD8, CD20, CD68, CD138, маркера ангиогенеза VEGF, маркеров регуляции клеточного цикла Cyclin D1, p53, TG, TPO, рецептора CD95 в ткани щитовидной железы методом иммуногистохимии. Результаты. Отмечались статистически значимые отличия в экспрессии изучаемых маркеров. В частности, в группе с АИТ наблюдалось высокое содержание Т-регуляторных клеток и В-лимфоцитов, инфильтрирующих ткань железы, в то время как в группе с раком численность лимфоцитов была крайне мала, зато отмечалось нарушение клеточного цикла с накоплением белков CyclinD1 и p53. У пациентов, перенесших COVID-19, наблюдалось существенное увеличение численности инфильтрирующих ткань железы лимфоцитов, смещение иммунного ответа в сторону клеточного звена иммунитета, более сильное нарушение клеточного цикла и ферментативной системы тироцитов. Схожие процессы наблюдали и в ткани опухоли щитовидной железы, носящие признаки потери клетками дифференцировки и способности синтезировать характерные для тироцитов белки, что носит неблагоприятный прогноз для пациента. Заключение. Таким образом, инфицирование организма вирусом Sars-CoV-2 приводит к усилению иммунных процессов и нарушению дифференцировки и функционирования клеток, провоцируя развитие аутоиммунных и опухолевых заболеваний щитовидной железы.

Ключевые слова: папиллярный рак щитовидной железы, аутоиммунный тиреоидит, воспаление, онкогенез, COVID-19, иммуногистохимия.

**DYNAMICS OF IMMUNOHISTOCHEMICAL MARKERS OF INFLAMMATION
AND CARCINOGENESIS IN THYROID TISSUE IN NORMAL AND
PATHOLOGICAL CONDITIONS IN PATIENTS WITH COVID-19**

Khabarov O. R., Zima D. V., Asanova E. R., Makalish T. P., Zyablitskaya E. Yu.

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

SUMMARY

The aim of this work was to study the dynamics of immunohistochemical markers of inflammation and carcinogenesis in thyroid tissue under normal and pathological conditions in patients with COVID-19. Material and methods. The study included 80 patients (all women) undergoing surgical treatment at the Multidisciplinary Clinical Hospital of St. Luke, Simferopol, with verified diagnoses: 1) papillary thyroid cancer (N=40), 2) autoimmune thyroiditis (history of more than 5 years) (N=40). Two subgroups (N=20) were identified among each group of patients: 1) those who had

moderate to severe COVID-19 with pneumonia and hospital treatment, 2) those who had not had COVID-19, possibly those who had suffered the disease subclinically or had been vaccinated (comparison groups were formed). To study the features and mechanisms of the pathogenic effect of the SARS-CoV-2 virus in patients with these diagnoses, the expression of CD4, CD8, CD20, CD68, CD138 markers, VEGF angiogenesis markers, Cyclin D1, p53, TG, TPO cell cycle regulation markers, CD95 receptor in thyroid tissue was evaluated by immunohistochemistry. Results. Statistically significant differences in the expression of the studied markers were noted. In particular, in the group with AIT, there was a high content of T-regulatory cells and B-lymphocytes infiltrating the gland tissue, while in the group with cancer, the number of lymphocytes was extremely small, but there was a violation of the cell cycle with the accumulation of CyclinD1 and p53 proteins. In patients who suffered from COVID-19, there was a significant increase in the number of lymphocytes infiltrating the gland tissue, a shift in the immune response towards the cellular component of the immune system, and a more severe disruption of the cell cycle and the enzymatic system of thyrocytes. Similar processes were observed in thyroid tumor tissue, which showed signs of cell loss of differentiation and the ability to synthesize proteins characteristic of thyrocytes, which led to an unfavorable prognosis for the patient. Conclusion. Infection of the body with the Sars-CoV-2 virus leads to increased immune processes and disruption of cell differentiation and function, inducing the development of autoimmune and tumor diseases of the thyroid gland.

Key words: papillary thyroid cancer, autoimmune thyroiditis, inflammation, oncogenesis, COVID-19, immunohistochemistry.

В настоящее время папиллярный рак щитовидной железы (ПРЩЖ) является бесспорным лидером среди злокачественной опухолевой патологии, опережающим по показателю прироста заболеваемости все остальные формы и локализации рака [1]. По показателям заболеваемости он лидирует только среди опухолей эндокринной системы, а вот темпы прироста во всех поло-возрастных группах по данным GLOBOCAN и Российской статистикой, обобщаемым А. Д. Каприным, на протяжении более 10 лет вызывают настороженность, активируя программы скрининга и направления организации здравоохранения [2]. Интерес исследователей к патогенезу и онкогенным механизмам развития ПРЩЖ также возрос с 2020 года по настоящее время в связи с изменением заболеваемости хирургической патологией щитовидной железы в период пандемии [3]. Сейчас ключевыми этиологическими факторами считают наследственную предрасположенность и мутационную нагрузку (по мутациям TP53, BRAF и NRAS), генетические поломки вследствие лучевого поражения, хроническое воспаление, стресс, иммуносупрессию, патогенное влияние вируса [4].

Не менее важным является изучение аутоиммунного тиреоидита (AIT) - на протяжении нескольких десятков лет он вызывает интерес как предраковое заболевание, однако данные противоречивы [5]. Интересна динамика развития АИТ на фоне вирусного поражения железы, активации аутоантител в период развития иммунного ответа за счет кроссреактивности против ткани, терапии глюкокортикоидами и стресса, сопровождающих пневмонию, вызванную SARS-CoV-2. В связи с этим АИТ стал, наряду с ПРЩЖ, второй нозологией, изученной нами в работе.

Цель данной работы – изучить динамику иммуногистохимических маркеров воспаления

и канцерогенеза в ткани щитовидной железы в норме и при патологии (AIT и ПРЩЖ) у лиц, перенесших COVID-19.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Проведено наблюдательное ретроспективное исследование на базе Многопрофильной клинической больницы имени Святителя Луки в период с 2020 по 2024 гг.

Проведение работы одобрено этическим комитетом при ФГАОУ ВО «КФУ им. В. И. Вернадского». Исследование выполнено в соответствии с Протоколом Хельсинской декларации по правам человека (1964 г.). Все пациенты подписали добровольное информированное согласие на участие.

Выборка сформирована из 80 пациентов женского пола в возрастном диапазоне 33-67 лет. Выбор таких параметров обусловлен преобладанием ПРЩЖ в данной возрастной категории и более высокой заболеваемостью среди женской популяции. Всем пациенткам была выполнена гемитиреоидэктомия в связи с хирургической патологией ЩЖ и патогистологически установлены диагнозы: 1 – ПРЩЖ (N=40), 2 – АИТ (анамнез более 5 лет) (N=40) на фоне доброкачественной опухолевой патологии (фолликулярная аденома). В каждой группе пациенток выделено по две подгруппы (по N=20): 1 – перенесшие средней тяжести и тяжелую форму COVID-19 с пневмонией и лечением в условиях стационара, 2 – не болевшие COVID-19, возможно перенесшие заболевание субклинически (составили группы сравнения).

С целью изучения особенностей и механизмов патогенного действия вируса SARS-CoV-2 у пациенток с указанными диагнозами была проведена оценка экспрессии маркеров CD4, CD8, CD20, CD68, CD138, маркера ангиогенеза VEGF,

маркеров регуляции клеточного цикла Cyclin D1, p53, TG, TPO, а также рецептора CD95 в ткани ЩЖ методом иммуногистохимии (ИГХ).

Полученные при тотальной или гемитиреоидэктомии фрагменты ЩЖ подвергались стандартному патоморфологическому исследованию, включающему этапы фиксации, дегидратации, пропитки спиртами и парафином, изготовление гистопрепараторов, окрашенных гематоксилином и эозином. ИГХ реакцию проводили в иммуностейнере Bond-MAX с использованием системы Polymer Refine Detection System (Novokasrla, Великобритания) и протоколов, рекомендованных производителями антител. Использовали первичные мышиные и кроличьи моноклональные концентрированные антитела Leica (CD20, clone L26; CD4, clone 4B12; p53, clone DO7), Elabscience (CD8, clone YN00246m; TPO, clone YN01595r; Cyclin D1, clone YN00565r), Abcam (CD68, clone 125212; CD 95, clone 133619), CellMarque (CD138, clone B-A38; TG, clone MRQ-41) и Thermo Scientific (VEGF, clone RB-9031-P1). Полученные препараты оцифровывали на сканере Aperio CS2. При помощи программного обеспечения Aperio Image Scope просматривали цифровые копии препаратов, оценивали экспрессию маркеров при увеличении 20x не менее чем в пяти полях зрения. Для маркеров CD4, CD8, CD68, CD20, CD138, Cyclin D1, p53 показатель рассчитан как число клеток в поле зрения; для маркеров VEGF, CD95, TG и TPO показатель указан в баллах, где 0 баллов – отсутствие окрашивания, 1 балл – слабое окрашивание всех клеток или умеренное окрашивание менее половины эпителиоцитов, 2 балла – умеренное окрашивание всех клеток или интенсивное окрашивание менее половины эпителиоцитов, 3 балла – интенсивное окрашивание всех клеток щитовидной железы.

Статистическая обработка результатов выполнена при помощи программного обеспечения Statistica 10.0. Для оценки распределения использовали критерий Шапиро-Уилка. Поскольку распределение признаков отличалось от нормального, для описательной статистики вычисляли медиану и квартильный размах ($Me(Q1; Q3)$), а для нахождения отличий между группами применяли U-критерий Манна–Уитни. Различия признаны значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Гистологически тиреоидная ткань при АИТ характеризуется преимущественно макро-нормофолликулярным строением с паренхиматозными участками, а также очаговой пролиферацией тиреоидного эпителия с образованием «подушечек Сандерсона». В строме отмечаются участки

разрастания соединительной ткани, рассеянная лимфоплазмоцитарная инфильтрация и формирование лимфоидных фолликулов с расширенными герминативными центрами. Определяются участки разрастания фиброзной ткани с очаговыми кровоизлияниями.

ПРЩЖ в нашей выборке представлен преимущественно классическим подтипов ($N=32$), а также фолликулярным вариантом ($N=8$). Гистологически ткань характеризуется формированием истинных папиллярных структур и микрофолликулов (фолликулярный вариант) с ядерными признаками ПРЩЖ: укрупненные ядра и просветление хроматина, наличие ядерных борозд и псевдовключений. Очагово отмечено наличие псаммомных телец и участков фиброза в большинстве образцов.

При ИГХ исследовании образцов получены следующие результаты.

В группе с АИТ в тиреоидной ткани, густо инфильтрованной лейкоцитами, наиболее многочисленной популяцией оказались CD8+ цитотоксические лимфоциты (Таблица 1). Вторыми по численности были плазматические CD138+ клетки. В областях с повышенным скоплением лимфоцитов соотношение различных типов лейкоцитов сохранялось. Лишь незначительное количество клеток экспрессируют Cyclin D1, в то время как экспрессияprotoонкогенного белка p53 в отдельных участках оказалась довольно высокой (155 клеток в поле зрения). Также для данной группы характерна низкая экспрессия рецепторов к тиреоглобулину (TG) и высокая – к тиреопероксидазе (TPO). Такая картина свидетельствует о высокой аутоиммунной активности, которая несет потенциальный риск малигнизации тиреоидного эпителия ввиду нарушения внутриклеточных процессов, о чем свидетельствует повышение экспрессии Cyclin D1 и p53.

В группе с ПРЩЖ отмечается низкая лимфоидная инфильтрация, а также уход опухолевых клеток от иммунологического контроля, что выражается в снижении экспрессии CD95 на поверхности клетки и снижении синтеза данного белка в целом. Также характерным для ПРЩЖ является повышение экспрессии Cyclin D1 и p53. Изменяется и синтетическая активность клеток: незначительно повышается экспрессия TG и снижается TPO. Отметим, что достоверных отличий в экспрессии исследованных маркеров в классическом и фолликулярном подтипа ПРЩЖ не обнаружено.

В группах пациентов, перенесших COVID-19, нами наблюдалось достоверное количественное увеличение всех исследуемых показателей в сравнении с аналогичными группами пациентов, не имевших COVID-19 в анамнезе. При этом не-

сколько изменилось соотношение различных групп лимфоцитов в группе с АИТ после перенесенного COVID-19. Наиболее многочисленной популяцией по-прежнему остаются CD8+ цитотоксические клетки, однако на второе место по численности выходят Т-хелперы. Также уравниваются в числе В-лимфоциты и плазмоциты. Т.е. наблюдается явный сдвиг в сторону клеточного иммунитета и замедление развития специфического гуморального ответа. Также существенно возрастает экспрессия Cyclin D1 и p53 в эпителиоцитах щитовидной железы, что многократно увеличивает риск развития злокачественной опухоли. Возрастает также активность синтеза тироглобулина.

В группе пациентов с раком щитовидной железы после перенесенного COVID-19 наблюдается умеренная инфильтрация лимфоцитами, существенно большая, чем у пациентов без ковида в анамнезе, а также высокая экспрессия CD95 в эпителиоцитах, что говорит об их большей продуктивности и видимости для иммунокомпетентных клеток. Однако экспрессия Cyclin D1 и p53 в данной группе максимальна, практически 100% опухолевых клеток экспрессируют данные маркеры с большой интенсивностью.

ОБСУЖДЕНИЕ

Пандемия COVID-19, поразившая весь мир в 2019-2020 гг, унесла жизни миллионов людей, а у тех, кто перенес это заболевание в более легкой форме по настоящему время обнаруживаются отдаленные последствия, связанные с обострением и рецидивированием хронических заболеваний. Патогенез COVID-19 связан с взаимодействием белка S капсулы вириона с рецепторным ангiotензинпревращающим ферментом 2 и проникновением сквозь клеточную мембрану с помощью трансмембранный протеазы серин 2 [6]. Иммунный ответ на вторжение вируса зачастую вызывал гиперэкспрессию провоспалительных цитокинов, так называемый «цитокиновый шторм», который провоцировал развитие острого респираторного дистресс-синдрома. Однако даже в отсутствие цитокинового шторма как такого продолжительный дисбаланс цитокинов может приводить к стойкому хроническому воспалению и аутоиммунизации [7]. При COVID-19 главным образом поражались легкие, однако ключевые для проникновения вируса в клетку белки присутствуют не только на респираторном эпителии, но также на эпителии кишки, в жировой ткани и некоторых эндокринных органах, в частности в эпителии щитовидной железы [4]. Помимо прямого воздействия вируса, щитовидная железа является чувствительным к аутоиммунизации органом, и потому чаще повреждается под дей-

ствием высоких концентраций провоспалительных цитокинов. Известно, что COVID-19 способен провоцировать развитие аутоиммунных заболеваний щитовидной железы или обострение хронических заболеваний в стадии ремиссии [8]. Ранее отмечалось, что у пациентов, перенесших COVID-19 чаще наблюдаются подострый тиреоидит, болезнь Грейвса и тиреоидит Хашimoto. Инфицирование ковидом приводит к усилинию иммунных реакций и переходу от их регуляторных функций к эффекторным, способствуя прогрессированию аутоиммунных заболеваний за счет гиперпродукции интерлейкинов, интерферона гамма и фактора некроза опухоли альфа [9]. Экспрессия молекул главного комплекса гистосовместимости II типа может быть индуцирована интерфероном- γ и косвенно вирусами, способствуя презентации аутоантигенов клетками щитовидной железы Т-клеткам, с последующей активацией Т-клеток и аутоиммунным ответом [10]. По полученным нами данным, в группе пациентов с АИТ, перенесшим COVID-19, процент инфильтрирующих железу лимфоцитов существенно выше, сам АИТ носит более выраженный и агрессивный характер.

Заметно увеличилось и число случаев ПРИЖ в последующие после пандемии годы. Этому могло способствовать как хроническое воспаление, так и прямое повреждение клеток железы. В нашей работе у больных раком, перенесших COVID-19, существенно повышается экспрессия белка p53 и Cyclin D1. Это характерно для рака щитовидной железы и связано с плохим прогнозом [11]. Накопление Cyclin D1 связано с нарушением клеточного цикла, а также со степенью дифференцировки папиллярной карциномы щитовидной железы, ее инвазивным биологическим поведением и наличием метастазов в лимфатических узлах [12]. Экспрессия белка p53 в небольших количествах присутствует в нормальной ткани, однако характерно ее существенное увеличение в опухолевых клетках. Увеличение синтеза данного белка связывают с активацией подавления опухолевого роста, воздействуя на различные функциональные пути: останавливает прогрессирование клеточного цикла, программирует гибель клеток, включая апоптоз и аутофагию; вызывают старение; изменение метаболизма, fertильности, а также развития и регуляции стволовых клеток [13]. Отмечается также иммунорегуляторная роль белка p53, что некоторым образом подтверждается в нашем исследовании усилением инфильтрации опухолевой ткани лимфоцитами. Нарушение клеточного цикла и дифференцировки клеток приводит к потере морффункциональной полярности тироцитов и дисфункции их ферментной системы.

Таблица 1. Результаты иммуногистохимической реакции в тканях щитовидной железы пациентов различных групп (Me(Q1;Q3)).

Table 1. Results of immunohistochemical reaction in thyroid tissues of patients of different groups (Me(Q1;Q3)).

Маркер	Пациенты, не болевшие Covid-19		Пациенты, перенесшие Covid-19		
	(1) АИТ, n=20	(2) ПРЦЖ, n=20	(3) АИТ, n=20	(4) ПРЦЖ, n=20	
CD4	7 (6;7)	5 (2;6)	53 (52;62)	8 (7;9)	p1-3=0.012 p3-4=0.012 p2-4=0.037
CD8	40 (36;43)	7 (6;7)	169 (145;173)	15 (14;16)	p1-2=0.012 p1-3=0.012 p3-4=0.012 p2-4=0.012
CD68	5 (5;6)	5 (5;6)	16 (13;19)	16 (15;16)	p1-3=0.012 p2-4=0.012
CD20	4 (3;4)	0 (0;1)	22 (22;29)	8 (7;9)	p1-2=0.012 p1-3=0.012 p3-4=0.012 p2-4=0.012
CD138	10 (9;13)	0 (0;1)	22 (21;29)	2 (1;2)	p1-2=0.012 p1-3=0.012 p3-4=0.012 p2-4=0.037
VEGF	2 (2;2)	1 (1;2)	3 (3;3)	3 (3;3)	p1-3=0.012 p2-4=0.012
CD95	3 (3;3)	1 (1;1)	2 (2;3)	3 (2;3)	p1-2=0.012 p2-4=0.021
Cyclin D1	1 (0;2)	26 (16;31)	50 (48;51)	195 (192;198)	p1-2=0.012 p1-3=0.012 p3-4=0.012 p2-4=0.012
p53	23 (21;28)	45 (37;47)	46 (41;51)	129 (128;134)	p1-3=0.012 p3-4=0.012 p2-4=0.012
TГ	0 (0;1)	1 (1;1)	2 (2;2)	0 (0;0)	p1-3=0.012 p3-4=0.012 p2-4=0.047
TPO	3 (3;3)	2 (2;2)	3 (3;3)	1 (1;1)	p1-2=0.012 p3-4=0.012 p2-4=0.047

Примечание: для маркеров CD4, CD8, CD68, CD20, CD138, Cyclin D1, p53 показатель рассчитан как число клеток в поле зрения, для маркеров VEGF, CD95, ТГ и ТРО показатель указан в баллах, где 0 баллов – отсутствие окрашивания, 1 балл – слабое окрашивание клеток или умеренное окрашивание менее половины эпителиоцитов, 2 балла – умеренное окрашивание всех клеток или интенсивное окрашивание менее половины эпителиоцитов, 3 балла – интенсивное окрашивание всех клеток щитовидной железы. Достоверность отличий между группами определялась по U-критерию Манна-Уитни.

Note: for markers CD4, CD8, CD68, CD20, CD138, Cyclin D1, p53 the indicator is calculated as the number of cells in the field of view, for markers VEGF, CD95, TG and TPO the indicator is given in points, where 0 points is no staining, 1 point is weak staining of cells or moderate staining of less than half of the epithelial cells, 2 points is moderate staining of all cells or intense staining of less than half of the epithelial cells, 3 points is intense staining of all thyroid cells. The reliability of differences between groups was determined by the Mann-Whitney U-test.

Снижение ТГ и ТПО в группе пациентов с раком щитовидной железы, развившимся на фоне перенесенного COVID-19, может свидетельствовать о потере клетками дифференцировки и снижении способности продуцировать коллоид. Данные изменения менее выражены у пациентов с раком ЩЖ, не имевших COVID-19 в анамнезе.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, установлены существенные отличия в иммунологическом профиле щитовидной железы при АИТ и папиллярной карциноме. Малигнизация тироцитов связана с развитием спорадических мутаций в ряде генов и сопровождается серьезными нарушениями клеточного цикла. Инфицирование COVID-19 существенно повышает риски развития АИТ, утяжеляя его течение, а также способствует повышению риска повреждения клеток и развития рака щитовидной железы. При этом чаще развиваются менее дифференцированные формы медуллярного рака, имеющие худший прогноз.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

Финансирование. Работа финансирована государственным заданием по науке Министерства высшего образования и науки Российской Федерации FZEG-2023-0009 «Изучение гетерогенности микроокружения опухоли как фактора ее агрессивности и резистентности к терапии».

Funding. The work was carried out with the financial support of the Ministry of Education and Science of the Russian Federation, state assignment FZEG-2023-0009 «Study of the heterogeneity of the tumor microenvironment as a factor in its aggressiveness and resistance to therapy».

ЛИТЕРАТУРА

- Sung H., Ferlay J., Siegel R. L., Laversanne M., Soerjomataram I., Jemal A., Bray F. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. CA Cancer J Clin. 2021;71(3):209-249. doi:10.3322/caac.21660.
- Иванов В. К., Горский А. И., Полькин В. В., Андреев В. Г., Кащеев В. В., Туманов К. А., Иванов С. А., Каприн А. Д. Динамика заболеваемости раком щитовидной железы населения России: основные факторы риска. Радиация и риск (Бюллетень Национального радиационно-эпидемиологического регистра). 2022;31(4):6-20. doi:10.21870/0131-3878-2022-31-4-6-20.
- Bell R., Weinberger D. M., Venkatesh M., Fernandes-Taylor S., Francis D. O., Davies L. Thyroid Cancer Incidence During 2020 to 2021 COVID-19 Variant Waves. JAMA Otolaryngol Head Neck Surg. 2024;150(11):969-77. doi:10.1001/jamaoto.2024.3146.
- Qu N., Hui Z., Shen Z., Kan C., Hou N., Sun X., Han F. Thyroid Cancer and COVID-19: Prospects for Therapeutic Approaches and Drug Development. Front Endocrinol (Lausanne). 2022;13:873027. doi:10.3389/fendo.2022.873027.
- Keefe G., Culbreath K., Cherella C.E., Smith J.R., Zendejas B., Shamberger R.C., Richman D.M., Hollowell M.L., Modi B.P., Wassner A.J. Autoimmune Thyroiditis and Risk of Malignancy in Children with Thyroid Nodules. Thyroid. 2022;32(9):1109-1117. doi:10.1089/thy.2022.0241.
- Hoffmann M., Kleine-Weber H., Schroeder S., Krüger N., Herrler T., Erichsen S., et al. SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor. Cell. 2020;181:271-80.e8. doi:10.1016/j.cell.2020.02.052.
- Потапнев М. П. Цитокиновый шторм: причины и последствия. Иммунология. 2021;42(2):175-188. doi:10.33029/0206-4952-2021-42-2-175-188.
- Tutal E., Ozaras R., Leblebiciooglu H. Systematic review of COVID-19 and autoimmune thyroiditis. Travel Med Infect Dis. 2022;47:102314. doi:10.1016/j.tmaid.2022.102314.
- Mohammadi B., Dua K., Saghafi M., Singh S.K., Heydarifard Z., Zandi M. COVID-19-induced autoimmune thyroiditis: Exploring molecular mechanisms. J Med Virol. 2023;95(8):e29001. doi:10.1002/jmv.29001.
- Brancatella A., Viola N., Santini F., Latrofa F. COVID-induced thyroid autoimmunity. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab. 2023;37(2):101742. doi:10.1016/j.beem.2023.101742.
- Li X. J., Wen R., Wen D.Y., Lin P., Pan D.H., Zhang L.J., He Y., Shi L., Qin Y. Y., Lai Y. H., Lai J. N., Yang J.L., Lai Q. Q., Wang J., Ma J., Yang H., Pang Y. Y. Downregulation of miR 193a 3p via targeting cyclin D1 in thyroid cancer. Mol Med Rep. 2020;22(3):2199-2218. doi:10.3892/mmr.2020.11310.
- Wang C.C., Lu D.D., Shen M.H., Chen R.L., Zhang Z.H., Lv J.H. Clinical value of Cyclin D1 and P21 in the differential diagnosis of papillary thyroid carcinoma. Diagn Pathol. 2023;18(1):123. doi:10.1186/s13000-023-01410-z.
- Arena A., Stigliano A., Belcastro E., Giorda E., Rosado M.M., Grossi A., Assenza M.R., Moretti F., Fierabracci A. p53 Activation Effect in the Balance of T Regulatory and Effector Cell Subsets in Patients With Thyroid Cancer and Autoimmunity. Front Immunol. 2021;12:728381. doi:10.3389/fimmu.2021.728381.

REFERENCES

1. Sung H., Ferlay J., Siegel R. L., Laversanne M., Soerjomataram I., Jemal A., Bray F. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin.* 2021;71(3):209-249. doi:10.3322/caac.21660.
2. Иванов В. К., Горский А. И., Полькин В. В., Андреев В. Г., Кащеев В. В., Туманов К. А., Иванов С. А., Каприн А. Д. Динамика заболеваемости раком щитовидной железы населения России: основные факторы риска. Радиация и риск (Бюллетень Национального радиационно-эпидемиологического регистра). 2022;31(4):6-20. doi:10.21870/0131-3878-2022-31-4-6-20.
3. Bell R., Weinberger D. M., Venkatesh M., Fernandes-Taylor S., Francis D. O., Davies L. Thyroid Cancer Incidence During 2020 to 2021 COVID-19 Variant Waves. *JAMA Otolaryngol Head Neck Surg.* 2024;150(11):969-77. doi:10.1001/jamaoto.2024.3146.
4. Qu N., Hui Z., Shen Z., Kan C., Hou N., Sun X., Han F. Thyroid Cancer and COVID-19: Prospects for Therapeutic Approaches and Drug Development. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2022;13:873027. doi:10.3389/fendo.2022.873027.
5. Keefe G., Culbreath K., Cherella C.E., Smith J.R., Zendejas B., Shamberger R.C., Richman D.M., Hollowell M.L., Modi B.P., Wassner A.J. Autoimmune Thyroiditis and Risk of Malignancy in Children with Thyroid Nodules. *Thyroid.* 2022;32(9):1109-1117. doi:10.1089/thy.2022.0241.
6. Hoffmann M., Kleine-Weber H., Schroeder S., Krüger N., Herrler T., Erichsen S., et al. SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor. *Cell.* 2020;181:271-80.e8. doi:10.1016/j.cell.2020.02.052.
7. Potapnev M.P. Cytokine storm. Causes and consequences. *Immunologiya.* 2021;42(2):175-188. (In Russ.). doi:10.33029/0206-4952-2021-42-2-175-188.
8. Tutal E., Ozaras R., Leblebicioglu H. Systematic review of COVID-19 and autoimmune thyroiditis. *Travel Med Infect Dis.* 2022;47:102314. doi:10.1016/j.tmaid.2022.102314.
9. Mohammadi B., Dua K., Saghafi M., Singh S.K., Heydarifard Z., Zandi M. COVID-19-induced autoimmune thyroiditis: Exploring molecular mechanisms. *J Med Virol.* 2023;95(8):e29001. doi:10.1002/jmv.29001.
10. Brancatella A., Viola N., Santini F., Latrofa F. COVID-induced thyroid autoimmunity. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2023;37(2):101742. doi:10.1016/j.beem.2023.101742.
11. Li X. J., Wen R., Wen D.Y., Lin P., Pan D.H., Zhang L.J., He Y., Shi L., Qin Y. Y., Lai Y. H., Lai J. N., Yang J.L., Lai Q. Q., Wang J., Ma J., Yang H., Pang Y. Y. Downregulation of miR 193a 3p via targeting cyclin D1 in thyroid cancer. *Mol Med Rep.* 2020;22(3):2199-2218. doi:10.3892/mmrr.2020.11310.
12. Wang C.C., Lu D.D., Shen M.H., Chen R.L., Zhang Z.H., Lv J.H. Clinical value of Cyclin D1 and P21 in the differential diagnosis of papillary thyroid carcinoma. *Diagn Pathol.* 2023;18(1):123. doi:10.1186/s13000-023-01410-z.
13. Arena A., Stigliano A., Belcastro E., Giorda E., Rosado M.M., Grossi A., Assenza M.R., Moretti F., Fierabracci A. p53 Activation Effect in the Balance of T Regulatory and Effector Cell Subsets in Patients With Thyroid Cancer and Autoimmunity. *Front Immunol.* 2021;12:728381. doi:10.3389/fimmu.2021.728381.

ДООПЕРАЦИОННЫЕ ПРЕДИКТОРЫ НЕДЕРЖАНИЯ МОЧИ ПОСЛЕ РАДИКАЛЬНОЙ ПРОСТАТАКТОМИИ КАК ОСНОВА ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННОЙ РЕАБИЛИТАЦИИ: РЕТРОСПЕКТИВНОЕ КОГОРТНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ.

Черноротов В. А., Костенич В. С.

Ордена Трудового Красного Знамени Медицинский институт имени С. И. Георгиевского федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского» (Медицинский институт им. С. И. Георгиевского ФГАОУ ВО «КФУ им. В. И. Вернадского»), 295051, бул. Ленина, 5/7, Симферополь, Россия

Для корреспонденции: Костенич В. С., кафедра лучевой диагностики и лучевой терапии, Медицинский институт им. С. И. Георгиевского ФГАОУ ВО «КФУ им. В. И. Вернадского», e-mail: v-kostenich@mail.ru

For correspondence: Viktor S. Kostenich, Senior Lecturer, Department of Radiology and Radiotherapy, Order of the Red Banner of Labor Medical Institute named after S. I. Georgievsky V. I. Vernadsky Crimean Federal University (Medical Institute named after S. I. Georgievsky of Vernadsky CFU), e-mail: v-kostenich@mail.ru

Information about authors:

Kostenich V. S., <https://orcid.org/0000-0001-5733-6953>
 Chernorotov V. A., <http://orcid.org/0000-0002-3111-9747>

РЕЗЮМЕ

Недержание мочи (НМ) остаётся одним из наиболее клинически значимых функциональных осложнений после радикальной простатэктомии (РПЭ) и напрямую влияет на качество жизни. В парадигме восстановительной медицины важны ранняя стратификация риска и своевременное подключение реабилитационных мероприятий (реабилитация, тренировки мышц тазового дна, био обратная связь/электростимуляция). Цель исследования – оценить прогностическую значимость дооперационных характеристик пациента в отношении развития НМ после РПЭ для последующей персонализации реабилитации в раннем послеоперационном периоде. Материал и методы. Ретроспективно проанализированы 117 последовательно оперированных пациентов; после критериев исключения – 90. Первичная конечная точка – континенция через 3 месяца (критерий НМ: ≥ 1 прокладка/сутки, включая «страховочную»). Сравнения групп выполняли t-критерием Стьюдента/критерием Манна-Уитни и точным критерием Фишера; прогностическое влияние оценивали логистической регрессией с ROC-анализом (AUC, 95% ДИ). Результаты. Значимыми предикторами НМ оказались: длина мембранный части уретры (AUC 0,686; 95% ДИ 0,568–0,804), её ширина (AUC 0,812; 95% ДИ 0,720–0,903), индекс коморбидности Чарльсона (AUC 0,906; 95% ДИ 0,838–0,974) и возраст (AUC 0,637; 95% ДИ 0,517–0,756); TUR в анамнезе ассоциировалась с повышенным риском НМ ($p=0,0012$). Пороговые значения по ROC: 1,52 см; 1,40 см; $\geq 3,5$ балла; $\geq 70,5$ года соответственно. Выводы. Дооперационные предикторы позволяют формировать группы риска и настраивать интенсивность реабилитации: от стандартных тренировок у пациентов низкого риска до преабилитации и раннего подключения БОС/электростимуляции у пациентов высокого риска, что потенциально сокращает время до достижения континенции.

Ключевые слова: восстановительная медицина; преабилитация; недержание мочи; радикальная простатэктомия; мышцы тазового дна; биологическая обратная связь; электростимуляция; стратификация риска.

PREDICTORS OF POST-PROSTATECTOMY URINARY INCONTINENCE IN THE EARLY POSTOPERATIVE PERIOD: A RETROSPECTIVE CLINICAL COHORT STUDY

Chernorotov V. A., Kostenich V. S.

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

SUMMARY

Urinary incontinence (UI) remains a major functional complication after radical prostatectomy (RP) with a substantial quality-of-life impact. Within the rehabilitation paradigm, early risk stratification and timely initiation of targeted interventions (rehabilitation, pelvic floor muscle training, biofeedback/electrical stimulation) are essential. Objective. To evaluate the prognostic value of preoperative patient characteristics for post-RP UI and to enable risk-based personalization of rehabilitation in the early postoperative period. Material and Methods. We retrospectively analyzed 117 consecutive RP patients; 90 remained after applying exclusion criteria. The primary endpoint was pad-free continence at 3 months (UI defined as ≥ 1 pad/day, including a “safety” pad). Group comparisons used Student's t/Mann-Whitney tests and Fisher's exact test; predictive impact was assessed by logistic regression with ROC analysis (AUC, 95% CI). Results. Significant predictors of UI included membranous urethral length (AUC 0.686; 95% CI 0.568–0.804), urethral width (AUC 0.812; 95% CI 0.720–0.903), Charlson Comorbidity Index (AUC 0.906; 95% CI 0.838–0.974), and age (AUC 0.637; 95% CI 0.517–0.756). Prior TURP was associated with increased UI risk ($p=0.0012$). ROC-derived thresholds were 1.52 cm; 1.40 cm; ≥ 3.5 ; and ≥ 70.5 years, respectively. Conclusions. Preoperative predictors enable risk-group formation and tailoring of rehabilitation intensity—from standard pelvic floor training in low-risk patients

to prehabilitation and early biofeedback/electrostimulation in high-risk patients—potentially shortening time to continence. (This structured abstract adheres to the journal's format requirements.)

Key words: rehabilitation; prehabilitation; urinary incontinence; radical prostatectomy; pelvic floor muscle training; biofeedback; electrical stimulation; risk stratification.

Заболеваемость раком предстательной железы ежегодно растёт [1], что сопровождается увеличением числа радикальных простатэктомий (РПЭ). Недержание мочи (НМ) – одно из наиболее клинически значимых функциональных осложнений РПЭ, существенно снижающее качество жизни. В контексте восстановительной медицины ключевым становится не только хирургический результат, но и выстраивание эффективной траектории реабилитации, ориентированной на ускорение восстановления континенции, улучшение социально-психологической адаптации и сокращение сроков утраты трудоспособности. Современные подходы предполагают многоэтапные, персонифицированные программы с учётом индивидуальных предоперационных факторов риска и возможность начала вмешательств ещё до операции (реабилитация) [2-4]. Согласно рекомендациям AUA/SUFU (2024) и ряду исследований, раннее подключение тренировок мышц тазового дна на дооперационном этапе формирует нейромышечную адаптацию и ускоряет восстановление контроля мочеиспускания после вмешательства [2].

Патогенез НМ мультифакториален; ключевым механизмом рассматривают утрату проксимального сфинктерного аппарата уретры [2]. Частота восстановления континенции существенно варьирует в зависимости от сроков наблюдения, хирургической техники и критериев оценки: по данным систематического обзора Azal W. Neto (2022), доля пациентов без необходимости использования прокладок составляет 33,9 % через 1 месяц после РПЭ, 76,9% – к 6 месяцам, 84,4% – к 12 месяцам и 88,4% – при наблюдении более 18 месяцев [5]; в отдельных исследованиях сообщается о 88% (Rocco и соавт., 2009) и 98,2% (Son и соавт., 2013) восстановивших контроль к 12 месяцам [5: 6]. Такая вариабельность во многом обусловлена разнородностью определений НМ и методов оценки. В клинической практике применяют количественные критерии (суточная потеря) и «прокладочные» тесты; подход «нулевых прокладок», включая отказ от «страховочной», лучше коррелирует с качеством жизни и служит функционально значимым ориентиром для реабилитационных программ [8]. Рекомендации профильных обществ подчёркивают важность стандартизации исходов, что критично для планирования и оценки эффективности восстановительных мероприятий [3; 9].

Накоплены данные о предикторах НМ в послеоперационном периоде — возраст, индекс массы

тела, выраженность симптомов нижних мочевых путей до операции, коморбидность, объём простаты, длина и ширина мембранный части уретры и др. [8-10]. Однако результаты остаются неоднородными, что затрудняет стратификацию риска и адресное назначение реабилитации (интенсивность тренировок мышц тазового дна, применение БОС-терапии/электростимуляции, коррекция образа жизни) [4; 9]. В этих условиях клинически востребовано уточнение прогностически значимых дооперационных характеристик, позволяющее выделять группы риска для раннего и более интенсивного подключения восстановительного лечения.

Цель исследования. Оценить прогностическую значимость предоперационных характеристик пациента в развитии НМ после РПЭ с прицелом на их использование для стратификации риска и персонализации реабилитационных программ в раннем послеоперационном периоде.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Дизайн исследования.

Клиническое наблюдательное когортное ретроспективное исследование. Набор пациентов проводился на базе МКБ Святителя Луки в период с сентября 2019 по декабрь 2024 гг. В базу включены 117 последовательно оперированных больных раком предстательной железы, которым выполнена радикальная простатэктомия (РПЭ); после применения критериев исключения финальная выборка составила 90 пациентов. Критерии включения: локализованный рак предстательной железы, выполнение РПЭ, регулярное послеоперационное наблюдение. Критерии исключения: локально-распространённый процесс, отдалённые метастазы, локальный рецидив, отсутствие контрольных визитов в послеоперационном периоде, инфекционные послеоперационные осложнения.

Клинические данные.

Дооперационные характеристики: возраст, индекс массы тела (ИМТ), уровень простатоспецифического антигена (ПСА), стадия по TNM, наличие трансуретральной резекции простаты (ТУР) в анамнезе, сумма по шкале Глиссона, объём простаты, наличие симптомов нижних мочевых путей до операции, индекс коморбидности Чарльсона (ИКЧ). По данным МРТ малого таза оценивали объём простаты, толщину m. levator ani, длину и ширину мембранный части уретры.

Оперативное лечение и послеоперационное ведение.

Катетер Фолея удаляли на 7-10-е сутки после РПЭ. Все пациенты проходили рутинное онкоурологическое наблюдение с определением ПСА через 2 месяца после операции и далее каждые 6 месяцев. Операции выполнялись урологами-онкологами со стажем >10 лет; гистологическое исследование — патологоанатомами с опытом ≥ 8 лет; МР-исследования интерпретировались рентгенологом с опытом МР-диагностики патологии простаты ≥ 6 лет. Оценка изображений и гистопрепараторов проводилась независимыми специалистами; клинические исходы континенции не использовались при их первичной интерпретации.

Определение и конечные точки.

Первичная конечная точка — континенция через 3 месяца после РПЭ как реабилитационно значимый исход. НМ определяли как необходимость использования ≥ 1 впитывающей прокладки в сутки, включая «страховочную»; континенция у пациентов определялась как отсутствие подтекания и полное отсутствие прокладок. Такой критерий отражает практические цели восстановительного лечения, где «нулевой прокладочный статус» служит ориентиром эффективности реабилитации. Дополнительно описывали долю континентных пациентов через 1 месяц после РПЭ.

Статистический анализ.

Сравнение дооперационных характеристик между группами (группа пациентов достигших континенции и группа пациентов с НМ на 3-м месяце) проводили после проверки нормальности распределения (тест Шапиро—Уилка). Для количественных переменных использовали t-критерий Стьюдента либо U-критерий Манна—Уитни; для категориальных — точный критерий Фишера. Для оценки прогностического влияния дооперационных факторов применяли бинарную логистическую регрессию. Дискриминационную способность моделей оценивали по ROC-кривым (AUC, 95% ДИ); точность, чувствительность и специфичность рассчитывали по классификационной таблице. Оптимальные пороговые значения предикторов определяли методом минимальной длины описания (minimum-description-length) и верифицировали по графику «чувствительность/1—специфичность». Уровень статистической значимости — двусторонний $p<0,05$. Статистическую обработку выполняли в SPSS v26.0 (IBM Corp., Somers, NY, USA) и Microsoft Excel 2019 (Microsoft Corp., USA).

Этические аспекты.

Исследование выполнено в соответствии с принципами Хельсинкской декларации и локальными нормативными требованиями; использовались обезличенные клинические данные. Исследование одобрено локальным этическим комитетом (протокол № 3 от 03.04.2024).

РЕЗУЛЬТАТЫ

В анализ включены 117 последовательно оперированных пациентов; после применения критериев исключения финальная выборка составила 90 человек. Исключены 27 пациентов: локально-распространённый процесс ($n=11$; 9,4%), отдалённые метастазы ($n=9$; 7,7%), локальный рецидив ($n=4$; 3,4%), отсутствие контрольного визита ($n=2$; 1,7%), инфекционные послеоперационные осложнения ($n=1$; 0,85%). Средний возраст составил 71,3 года (54–88), ожирение отмечалось у 27% ($n=24$), симптомы нижних мочевых путей — у 81% ($n=73$), трансуретральная резекция простаты в анамнезе — у 13% ($n=12$). Средний дооперационный ПСА — 13,2 нг/мл (0,02–134); средний объём простаты — 45,1 см³ (10–133); медиана индекса коморбидности Чарльсона — 3,1 (1–5). Сводная клинико-демографическая характеристика и межгрупповые различия представлены в табл. 1.

МР-параметры (объём простаты, толщина m. levator ani, длина и ширина мембранный части уретры) представлены в табл. 2. У пациентов с НМ через 3 месяца отмечались большие значения ширины МЧУ и меньшая длина МЧУ; различия были статистически значимы.

Статус континенции оценивали через 1 и 3 месяца после РПЭ; доля пациентов с НМ последовательно снижалась (см. рис. 1). По данным сводного анализа, распространённость НМ составила 68,1 % через 1 месяц и 40,7 % через 3 месяца после РПЭ, что отражает динамику раннего реабилитационного периода.

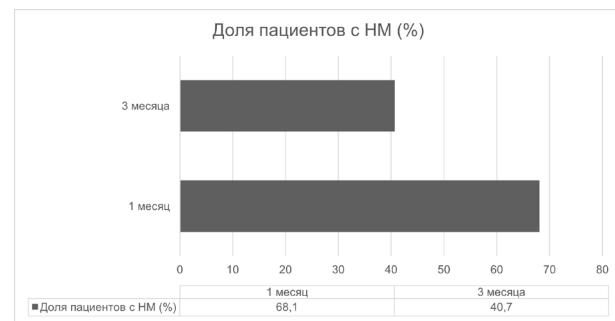


Рис. 1. Доля пациентов с недержанием мочи через 1 и 3 месяца после РПЭ (rehab-endpoint: pad-free статус).

Примечание: НМ — необходимость ≥ 1 прокладки/сутки, включая «страховочную».

Fig.1. Proportion of patients with urinary incontinence at 1 and 3 months after radical prostatectomy (RP) (rehabilitation endpoint: pad-free status).

Note: UI — defined as the use of ≥ 1 pad/day, including a “safety” pad.

Таблица 1. Общая характеристика пациентов и сравнение групп по статусу континенции через 3 месяца.

Table 1. Baseline patient characteristics and between-group comparison by continence status at 3 months.

Характеристика	Пациенты с НМ через 3 мес. (n=35).	Без НМ через 3 мес. (n=54).	p-значение
Возраст, лет. M±SD.	73,2 [$\pm 6,6$]	70,5 [$\pm 6,3$]	0,02
ИМТ, кг/м ² . Me [Q1; Q3].	27,8 [24, 31]	27,2 [24, 30]	0,02
ПСА, нг/мл. Me [Q1; Q3].	8,5 [5, 18]	8 [4, 23]	0,02
ТУР ПЖ в анамнезе, n (%) .	10 (11%)	2 (2,2%)	<0,01
Объём предстательной железы, см ³ . Me [Q1; Q3].	47,3 [30, 66]	35 [25, 41]	0,02
Наличие симптомов нижних мочевыводящих путей до операции, n (%).	31 (86%)	42 (77,7%)	0,41
Индекс коморбидности Чарльсона, балл. Me [Q1; Q3].	4 [4, 5]	2 [1, 3]	0,01
T-стадия, n (%). 1a – 1c 2a – 2c		23 (25,5) 67 (74,4)	
Сумма по шкале Глиссона, n (%). 6 7 8 9		32 (35,5) 32 (35,5) 13 (14,4) 12 (13,3)	

Примечание: ИМТ – индекс массы тела; ПСА - простатспецифический антиген; ТУР ПЖ - трансуретральная резекция предстательной железы; Результат статистически значим при p < 0,05.

Note: BMI — body mass index; PSA — prostate-specific antigen; TURP — transurethral resection of the prostate. A result was considered statistically significant at p < 0.05.

Таблица 2. МР-характеристики у пациентов с НМ и без НМ через 3 месяца.

Table 2. MRI characteristics in patients with and without urinary incontinence at 3 months.

	Пациенты с НМ через 3 мес,	Без НМ через 3 мес,	p-значение
Объём предстательной железы, см ³ . Me [Q1, Q3].	47,3 [30, 66]	35 [25, 41]	0,02
Толщина m levator ani, см. Me [Q1, Q3].	0,56 [0,47,0,61]	0,54 [0,46,0,6]	< 0,01
Длина МЧУ, см. Me [Q1, Q3].	1,51 [1,41,1,56]	1,55 [1,51,1,6]	< 0,01
Ширина МЧУ, см. Me [Q1, Q3].	1,44 [1,38,1,47]	1,37 [1,31, 1,38]	<0,01

Примечание: ИМТ – индекс массы тела; МЧУ – мембранный участок уретры. Результат статистически значим при p < 0,05.

Note: BMI — body mass index; MChU — membranous part of the urethra. Results were considered statistically significant at p < 0.05.

Для оценки дискриминационной способности предикторов и расчёта пороговых значений выполнен ROC-анализ. Информативными признаками стали: длина уретры (AUC 0,686; 95% ДИ 0,568–0,804), ширина уретры (AUC 0,812; 95% ДИ 0,720–0,903), ИКЧ (AUC 0,906; 95%

ДИ 0,838–0,974) и возраст (AUC 0,637; 95% ДИ 0,517–0,756). Пороговые значения, определённые по критерию минимальной длины описания, составили соответственно 1,52 см, 1,40 см, 3,5 балла и 70,5 года; чувствительность/специфичность приведены в табл. 3. Наличие ТУР в анам-

незначимо ассоциировалось с развитием НМ ($p=0,0012$). Эти пороги далее использованы как

ориентиры стратификации интенсивности реабилитации в раннем послеоперационном периоде.

Таблица 3. ROC-анализ предикторов НМ: площадь под ROC-кривой (AUC), 95% ДИ, пороговые значения, чувствительность и специфичность.

Table 3. ROC analysis of predictors of urinary incontinence (UI): area under the ROC curve (AUC), 95% CI, cutoff values, sensitivity, and specificity.

Характеристика пациента	Пл. под ROC кривой	ДИ	Пороговое значение	Чувствительность	Специфичность	p
Длина уретры	0,738±0,055	0,631-0,845	1,52 см	68,5 %	65,7 %	<0,001
Ширина уретры	0,812±0,047	0,720-0,903	1,4 см	71,4 %	77,8 %	<0,001
ИКЧ	0,906±0,035	0,838-0,974	3,5	85,7 %	90,7 %	<0,001
Возраст	0,637±0,061	0,517-0,756	70,5 лет	65,7 %	66,7 %	0,03

Примечание: ДИ – доверительный интервал, ИКЧ – индекс коморбидности Чарльсона. Полученная модель была статистически значимой при $p < 0,05$.

Note: CI — confidence interval; CCI — Charlson Comorbidity Index. The model was statistically significant at $p < 0.05$.

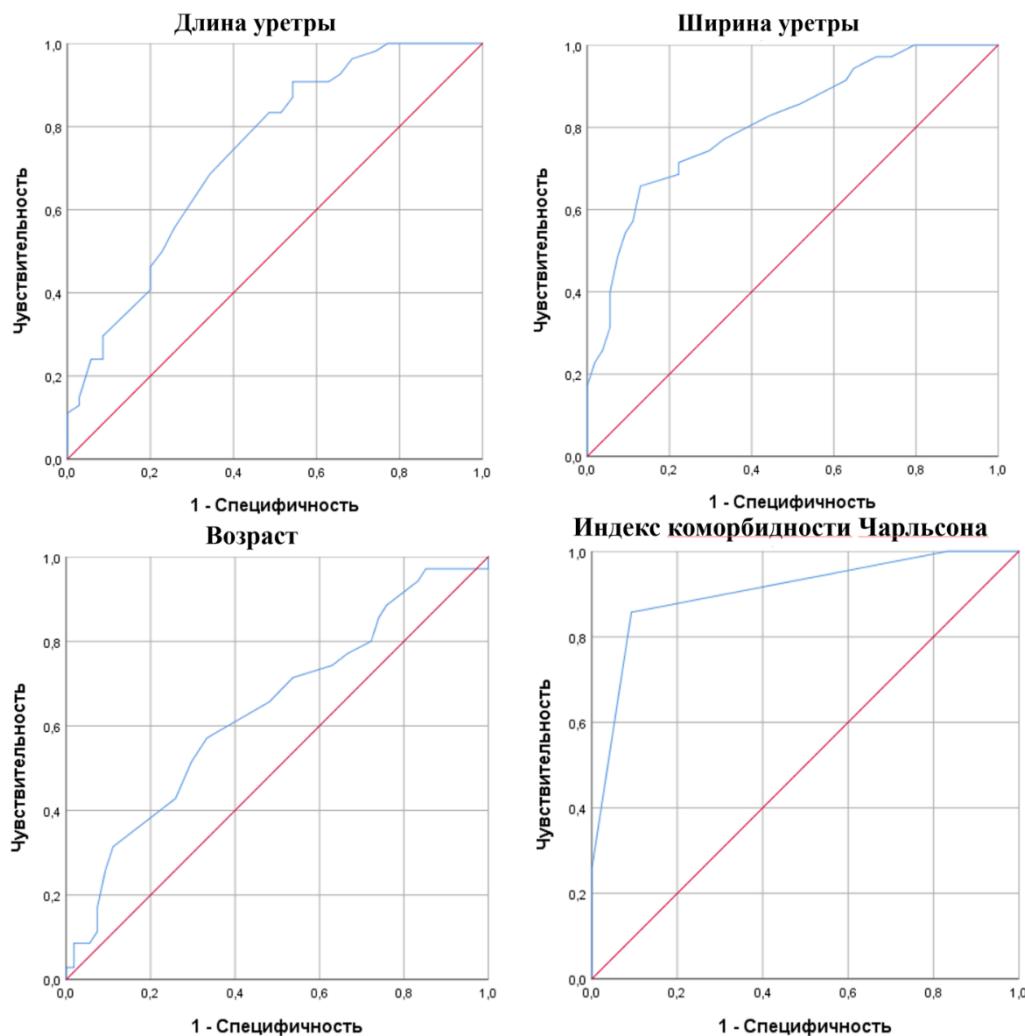


Рис. 2. ROC-кривые для длины уретры (AUC=0,738), ширины уретры (AUC=0,812), ИКЧ (AUC=0,906) и возраста (AUC=0,637).

Fig. 2. ROC curves for urethral length (AUC = 0.738), urethral width (AUC = 0.812), Charlson Comorbidity Index (AUC = 0.906), and age (AUC = 0.637).

Прогностически не значимыми характеристиками оказались: показатель дооперационного общего ПСА ($AUC=0,476$), толщина m. levator ani ($AUC=0,549$), ИМТ ($AUC=0,458$), стадия по TNM, показатель по шкале Глиссона ($AUC=0,497$), объём предстательной железы до оперативного лечения ($AUC=0,413$), наличие симптомов нижних мочевыводящих путей до операции ($p=0,41$).

ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящем исследовании выявлены клинически и статистически значимые дооперационные предикторы НМ в раннем послеоперационном периоде: длина и ширина МЧУ, ИКЧ, возраст, а также факт перенесённой ТУР. Эти данные согласуются с результатами предыдущих работ, где указывалось на вклад возраста, коморбидности и ТУР в риск НМ после РПЭ [9], а также на прогностическую ценность МР-показателей уретры (длина/ширина) [10]. При этом ИМТ, нередко ассоциируемый с инконтиренцией, в нашем исследовании не продемонстрировал значимой прогностической силы, что соответствует ряду публикаций с сопоставимыми дизайнами [10]. Суммарно, полученные результаты усиливают аргументацию в пользу предоперационного риско-ориентированного подхода к планированию восстановительного лечения.

Ключевая практическая ценность выявленных предикторов – возможность персонализации реабилитационной траектории. Предложенные пороговые значения (длина МЧУ $\approx 1,52$ см, ширина МЧУ $\approx 1,40$ см, ИКЧ $\geq 3,5$, возраст $\geq 70,5$ года) позволяют формировать три уровня риска и соответствующие им программы. Низкий риск: стандартные тренировки мышц тазового дна (TMTД) после снятия катетера, обучение и дневник мочеиспусканий с контролем через 4-6 недель. Средний риск: добавление преабилитации (за 2-4 недели до операции), расширение объема ТМТД и более плотное наблюдение. Высокий риск: преабилитация + раннее подключение методов биологической обратной связи (БОС) и функциональной электростимуляции наружного уретрального сфинктера в первые недели после снятия катетера; возможна магнитотерапия при ограничениях к активным тренировкам; визиты с целью контроля чаще. Предлагаемая трёхуровневая стратификация основана на накопленных данных о связи морфологии уретры, возраста, ИКЧ и ТУР в анамнезе с риском НМ после РПЭ, а также на рекомендациях AUA/EAU по раннему PFMT и поведенческой терапии (с возможным подключением БОС/электростимуляции у пациентов высокого риска) [2; 11-13].

ВЫВОДЫ

1. Распространённость недержания мочи составила 68,1 % через 1 месяц и 40,7 % через 3 месяца после РПЭ (целевой реабилитационный исход – без использования прокладок, в т.ч. «страховочных»).

2. Значимыми дооперационными предикторами НМ являются: длина МЧУ ($AUC 0,686$; 95% ДИ 0,568-0,804), ширина МЧУ ($AUC 0,812$; 95% ДИ 0,720-0,903), индекс коморбидности Чарльсона ($AUC 0,906$; 95% ДИ 0,838-0,974), возраст ($AUC 0,637$; 95% ДИ 0,517-0,756); ТУР в анамнезе ассоциирована с повышенным риском НМ ($p=0,0012$). Оптимальные пороги по ROC-анализу: длина МЧУ $\leq 1,52$ см, ширина МЧУ $\geq 1,40$ см, ИКЧ $\geq 3,5$, возраст $\geq 70,5$ года.

3. Практическое применение: стратификация по указанным порогам позволяет персонализировать реабилитацию – от стандартных тренировок мышц тазового дна у пациентов низкого риска до преабилитации и раннего подключения БОС/функциональной электростимуляции у пациентов высокого риска, что потенциально сокращает сроки достижения континенции.

4. Полученные результаты целесообразно использовать для маршрутизации восстановительного лечения в раннем послеоперационном периоде; для широкого внедрения требуется проспективная валидация порогов в многоцентровых исследованиях.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

ЛИТЕРАТУРА

1. Каприн А. Д., Старинский В. В., Шахзадова А. О. Состояние онкологической помощи населению России в 2023 году. Москва: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России; 2024.
2. Breyer B. N., Kim S. K., Kirkby E., Marianes A., Vanni A. J., Westney O. L. Updates to Incontinence After Prostate Treatment: AUA/GURS/SUFU Guideline (2024). J Urol. 2024;212(4):531-538. doi:10.1097/JU.0000000000004088.
3. Liss M. A., Osann K., Canvasser N., et al. Continence definition after radical prostatectomy using urinary quality of life: evaluation of patient-reported validated questionnaires. J Urol. 2010;183(4):1464-1468. doi:10.1016/j.juro.2009.12.009.
4. Wiltz A. L., Shikanov S., Eggner S. E., et al. Robotic radical prostatectomy in overweight and obese patients: oncological and validated-

- functional outcomes. *Urology*. 2009;73(2):316-322. doi:10.1016/j.urology.2008.08.493.
5. Azal W., Neto D. M. C., Dal Col LSB, Andrade D. L., Moretti T. B. C., Reis L. O. Incontinence after laparoscopic radical prostatectomy: a reverse systematic review. *Int Braz J Urol*. 2022;48(3):389-396. doi:10.1590/S1677-5538.IBJU.2021.0632.
 6. Anguas-Gracia A., Antón-Solanas I., Echániz-Serrano E., et al. Quality of life after radical prostatectomy: a longitudinal study. *Nursing Reports*. 2023;13(3):1051-1063. doi:10.3390/nursrep13030092.
 7. Rocco B., Matei D. V., Melegari S., et al. Robotic vs open prostatectomy in a laparoscopically naive centre: a matched-pair analysis. *BJU Int*. 2009;104(7):991-995. doi:10.1111/j.1464-410X.2009.08532.x.
 8. Son S. J., Lee S. C., Jeong C. W., Jeong S. J., Byun S. S., Lee S. E. Comparison of continence recovery between robot-assisted laparoscopic prostatectomy and open radical retropubic prostatectomy: a single-surgeon experience. *Korean J Urol*. 2013;54(9):598-602. doi:10.4111/kju.2013.54.9.598.
 9. D'Ancona C., Haylen B., Oelke M., et al. The International Continence Society (ICS) report on the terminology for adult male lower urinary tract and pelvic floor symptoms and dysfunction. *Neurourol Urodyn*. 2019;38(2):433-477. doi:10.1002/nau.23897.
 10. Gacci M., Sakalis V. I., Karavitakis M., et al. European Association of Urology guidelines on male urinary incontinence. *Eur Urol*. 2022;82(4):387-398. doi:10.1016/j.eururo.2022.05.012.
 11. Schifano N., Capogrosso P., Tutolo M., Dehò F., Montorsi F., Salonia A. How to prevent and manage post-prostatectomy incontinence: a review. *World J Mens Health*. 2021;39(4):581-597. doi:10.5534/wjmh.200114.
 12. Mac Curtain B. M., Sugrue D. D., Qian W., O'Callaghan M., Davis N. F. Membranous urethral length and urinary incontinence following robot-assisted radical prostatectomy: a systematic review and meta-analysis. *BJU Int*. 2024;133(6):646-655. doi:10.1111/bju.16170.
 13. Mungovan S. F., Sandhu J. S., Akin O., Smart N. A., Graham P. L., Patel M. I. Preoperative membranous urethral length measurement and continence recovery following radical prostatectomy: a systematic review and meta-analysis. *Eur Urol*. 2017;71(3):368-378. doi:10.1016/j.eururo.2016.06.023.
 14. Novara G., Ficarra V., D'Elia C., et al. Evaluating urinary continence and preoperative predictors of urinary continence after robot-assisted laparoscopic radical prostatectomy. *J Urol*. 2010;184(3):1028-1033. doi:10.1016/j.juro.2010.04.069.

REFERENCES

1. Kaprin A. D., Starinskiy V. V., Shakhzadova A. O. Cancer care in Russia in 2023. Moscow: P.A. Herzen Moscow Oncology Research Institute – branch of the National Medical Research Radiological Centre, Ministry of Health of Russia; 2024. (In Russ.).
2. Breyer B. N., Kim S. K., Kirkby E., Marianes A., Vanni A. J., Westney O. L. Updates to Incontinence After Prostate Treatment: AUA/GURS/SUFU Guideline (2024). *J Urol*. 2024;212(4):531-538. doi:10.1097/JU.0000000000004088.
3. Liss M. A., Osann K., Canvasser N., et al. Continence definition after radical prostatectomy using urinary quality of life: evaluation of patient-reported validated questionnaires. *J Urol*. 2010;183(4):1464-1468. doi:10.1016/j.juro.2009.12.009.
4. Wiltz A. L., Shikanov S., Eggner S. E., et al. Robotic radical prostatectomy in overweight and obese patients: oncological and validated-functional outcomes. *Urology*. 2009;73(2):316-322. doi:10.1016/j.urology.2008.08.493.
5. Azal W., Neto D. M. C., Dal Col LSB, Andrade D. L., Moretti T. B. C., Reis L. O. Incontinence after laparoscopic radical prostatectomy: a reverse systematic review. *Int Braz J Urol*. 2022;48(3):389-396. doi:10.1590/S1677-5538.IBJU.2021.0632.
6. Anguas-Gracia A., Antón-Solanas I., Echániz-Serrano E., et al. Quality of life after radical prostatectomy: a longitudinal study. *Nursing Reports*. 2023;13(3):1051-1063. doi:10.3390/nursrep13030092.
7. Rocco B., Matei D. V., Melegari S., et al. Robotic vs open prostatectomy in a laparoscopically naive centre: a matched-pair analysis. *BJU Int*. 2009;104(7):991-995. doi:10.1111/j.1464-410X.2009.08532.x.
8. Son S. J., Lee S. C., Jeong C. W., Jeong S. J., Byun S. S., Lee S. E. Comparison of continence recovery between robot-assisted laparoscopic prostatectomy and open radical retropubic prostatectomy: a single-surgeon experience. *Korean J Urol*. 2013;54(9):598-602. doi:10.4111/kju.2013.54.9.598.
9. D'Ancona C., Haylen B., Oelke M., et al. The International Continence Society (ICS) report on the terminology for adult male lower urinary tract and pelvic floor symptoms and dysfunction. *Neurourol Urodyn*. 2019;38(2):433-477. doi:10.1002/nau.23897.
10. Gacci M., Sakalis V. I., Karavitakis M., et al. European Association of Urology guidelines on male

urinary incontinence. Eur Urol. 2022;82(4):387-398.
doi:10.1016/j.eururo.2022.05.012.

11. Schifano N., Capogrosso P., Tutolo M., Dehò F., Montorsi F., Salonia A. How to prevent and manage post-prostatectomy incontinence: a review. World J Mens Health. 2021;39(4):581-597.
doi:10.5534/wjmh.200114.

12. Mac Curtain B. M., Sugrue D. D., Qian W., O'Callaghan M., Davis N. F. Membranous urethral length and urinary incontinence following robot-assisted radical prostatectomy: a systematic review and meta-analysis. BJU Int. 2024;133(6):646-655.
doi:10.1111/bju.16170.

13. Mungovan S. F., Sandhu J. S., Akin O., Smart N. A., Graham P. L., Patel M. I. Preoperative membranous urethral length measurement and continence recovery following radical prostatectomy: a systematic review and meta-analysis. Eur Urol. 2017;71(3):368-378. doi:10.1016/j.eururo.2016.06.023.

14. Novara G., Ficarra V., D'Elia C., et al. Evaluating urinary continence and preoperative predictors of urinary continence after robot-assisted laparoscopic radical prostatectomy. J Urol. 2010;184(3):1028-1033. doi:10.1016/j.juro.2010.04.069.

АНАЛИЗ БИОХИМИЧЕСКОГО ПРОФИЛЯ ДЛЯ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ КЛИНИЧЕСКИХ РЕЗУЛЬТАТОВ У БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Шатохина А. С., Филиппов Е. Ф., Любченко Д. А.

ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Минздрава России, 350063, ул. Митрофана Седина, 4, Краснодар, Россия

Для корреспонденции: Шатохина Алина Станиславовна, ассистент кафедры фундаментальной и клинической биохимии ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет», e-mail: alina.shatokhina@yandex.ru

For correspondence: Alina S. Shatokhina, Assistant Professor of the department of fundamental and clinical biochemistry, Kuban State Medical University, e-mail: alina.shatokhina@yandex.ru

Information about authors:

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

Filippov E. F., <https://orcid.org/0000-0001-5817-0924>

Lubchenko D. A., <http://orcid.org/0000-0002-9207-4546>

РЕЗЮМЕ

На прогноз пациентов с раком молочной железы влияют многие факторы, в первую очередь такие как иммуногистохимический подтип опухоли и стадии по классификации TNM. Считается, что биохимический профиль крови и других биожидкостей также может вносить свой вклад в построение надежных прогностических моделей. Целью исследования была оценка прогностической ценности биохимических показателей крови и маркеров окислительного стресса у пациенток с раком молочной железы. Материал и методы. В исследование были включены женщины (n=50) с впервые установленный диагнозом рак молочной железы, у которых забирали кровь на начальном этапе и наблюдали в течение не менее 2 лет. В крови был определен широкий спектр биохимических показателей, онкомаркеров, маркеров окислительного стресса и наличие мутаций в гене BRCA. Результаты. Однофакторный регрессионный анализ на основе модели пропорциональных рисков Кокса показал, что среди биохимических показателей крови, определенных на этапе постановки диагноза «рак молочной железы», имеется взаимосвязь 2-х летней выживаемости с концентрацией мочевины ($p=0,0245$), тиоловых групп ($p=0,0176$) и антиоксидантной активностью ($p=0,0295$). Многофакторный анализ позволил предложить коэффициент выживаемости больных раком молочной железы, основанный на оценке наличия мутаций в гене BRCA и исходного уровня общей антиоксидантной активности (ОАОА): $X=-2,17 * \text{МутацииBRCA1} + 7,14 * \text{ОАОА}$ ($p=0,0013$). Заключение. Использование коэффициента позволяет надежно стратифицировать больных по уровню риска смертности ($p=0,0001$), что является одним из элементов формирования персонализированной стратегии их лечения.

Ключевые слова: рак молочной железы, окислительный стресс, биомаркеры, лабораторная диагностика, прогнозирование.

BIOCHEMICAL PROFILE ANALYSIS FOR PREDICTING CLINICAL OUTCOMES IN BREAST CANCER PATIENTS

Shatokhina A. S., Filippov E. F., Lubchenko D. A.

Kuban State Medical University, Krasnodar, Russia

SUMMARY

The prognosis of patients with breast cancer is influenced by many factors, primarily the immunohistochemical tumor subtype and TNM stages. It is believed that the biochemical profile of blood and other biological fluids can also contribute to the construction of reliable prognostic models. The aim of the study was to evaluate the prognostic value of blood biochemical parameters and oxidative stress markers in patients with breast cancer. Material and methods. The study included women (n=50) with a newly diagnosed breast cancer, from whom blood was taken at the initial stage and observed for at least two years. A wide range of biochemical parameters, tumor markers, oxidative stress markers and the presence of mutations in the BRCA gene were determined in the blood. Results. Univariate regression analysis based on the Cox proportional hazards model showed that among the biochemical blood parameters determined at the stage of breast cancer diagnosis, there is a relationship between 2-year survival and the concentration of urea ($p = 0.0245$), thiol groups ($p = 0.0176$) and antioxidant activity ($p = 0.0295$). Multivariate analysis made it possible to propose a survival rate of patients with breast cancer based on the assessment of the presence of mutations in the BRCA gene and the initial level of total antioxidant activity (TAOA): $X = -2.17 * \text{BRCA1 Mutations} + 7.14 * \text{TAOA}$ ($p = 0.0013$). Conclusion. The use of the coefficient allows reliable stratification of patients by the level of mortality risk ($p = 0.0001$), which is one of the elements in the formation of a personalized strategy for their treatment.

Key words: breast cancer, oxidative stress, biomarkers, laboratory diagnostics, prognosis.

Рак молочной железы является наиболее распространенным типом злокачественных опухолей среди женщин [1]. Данные Международного агентства по изучению рака показывают, что уровень заболеваемости раком молочной железы занимает второе место, а уровень смертности – четвертое место в мире среди всех заболеваний онкологического профиля. По сравнению с некоторыми другими злокачественными опухолями, например, раком легких или поджелудочной железы, прогноз и результаты выживаемости при раке молочной железы относительно благоприятный. Однако распространенный рак молочной железы и формы с отделенными метастазами имеют неблагоприятный прогноз [2]. На прогноз пациентов с раком молочной железы влияют многие показатели, в первую очередь такие как иммуногистохимический подтип опухоли и стадии по классификации TNM [3]. Считается, что биохимический профиль крови и других биожидкостей также может вносить свой вклад в построение надежных прогностических моделей. В качестве перспективных предикторов исходов рака молочной железы некоторыми авторами предлагаются маркеры окислительного стресса. В работе [4] проанализирована возможность использования интегральной оценки окислительного стресса, основанной на таких маркерах как мочевина, прямой билирубин и сывороточный альбумин [5]. Использование данных лабораторных маркеров, в качестве индикаторов окислительного стресса, основано на представлениях о мочевине и билирубине, как основных антиоксидантов сыворотки крови, которые несмотря на свою низкую восстановительную способность за счет относительно высоких концентраций вносят преимущественный вклад в общую антиокислительную способность [6; 7]. Альбумин можно считать полноценным компонентом системы антиоксидантной защиты плазмы крови ввиду наличия свободной тиоловой группы [8; 9]. Тем не менее очевидно, что анализ данных классических биохимических показателей крови только косвенным образом описывает состояние окислительного гомеостаза. Поэтому в настоящей работе мы проанализировали вероятность летального исхода в течение 2-х лет после начала лечения больных раком молочной железы в зависимости от исходного уровня общеклинических биохимических показателей крови и прямых маркеров окислительного стресса. К таким маркерам традиционно относят лабораторные показатели состояния системы антиоксидантной защиты (общая антиоксидантная активность (ОАОА), содержание отдельных компонентов и активность ферментов антиоксидантной системы), а также биомаркеры

свободнорадикальных повреждений биомолекул [10-12].

Цель исследования – оценка прогностической ценности биохимических показателей крови и маркеров окислительного стресса у пациенток с раком молочной железы.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В исследование были включены женщины (n=50) с впервые установленный диагнозом рак молочной железы: III стадии (n=19) и IV стадии (n=31). Женщины наблюдались на базе ГБУЗ «Клинический онкологический диспансер №1» министерства здравоохранения Краснодарского края в 2020-2024 годах. Диагноз (аденокарцинома) был подтвержден гистологическими методами, распределение больных, включенных в исследование, по уровню злокачественности (G, шкала Scarff–Bloom–Richardson): 4% категория G не может быть определена, 18% G1, 32% G2 и 46% G3. Распределение больных по молекулярно-биологическому подтипу: люминальный А 30%, люминальный В (HER2-) 22%, люминальный В (HER2+) 24%, HER2+, не люминальный 10%, базальноподобный 14%. Возраст пациенток на момент включения в исследование составлял 42,4±4,5 лет. Все пациентки получали паллиативную химиотерапию по поводу распространенного рака молочной железы.

Проведение исследований было одобрено на заседании независимого этического комитета ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России (протокол № 80 от 27.09.2019 г.) и было основано на должностных этических принципах.

Забор крови осуществляли на момент включения больных в наблюдательное исследование. В сыворотке крови колориметрическими методами определяли концентрацию общего билирубина, общего белка, мочевины, креатинина, глюкозы, общего холестерина, железа, калия, натрия, хлорид-ионов, С-реактивного белка, активность ЛДГ, АЛТ, АСТ, щелочной фосфатазы, альфа-амилазы. Методом хемилюминисцентного иммунного анализа в сыворотке крови определяли концентрации раково-эмбрионального антигена, антигена CA 15-3. Методом конкурентного ИФА-анализа определяли сывороточную концентрацию паратгормон-родственного протеина (ПТГрП).

С использованием набора реагентов «ОнкоГенетика» (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия) в периферической крови определяли наличие наследственных мутаций 185delAG, 2080delA, 4153delA, 5382insC, c.3700_3704delGTAAA, c.3756_3759delGTCT, T300G в гене человека BRCA1 и 6174delT в гене человека BRCA2 методом ПЦР. Биохимические и молекулярно-генетические исследования были выполнены на базе ла-

бораторий ГБУЗ «Клинический онкологический диспансер №1» МЗ КК.

Для характеристики окислительного гомеостаза были определены: общая антиоксидантная активность (ОАОА) плазмы крови, активность ферментов антирадикальной защиты (каталазы, глутатионпероксидазы (ГПО)) в эритроцитах, содержание восстановленного глутатиона в эритроцитарной взвеси, тиоловых (SH) групп плазмы крови, концентрация продуктов окислительных повреждений биомолекул, реагирующих с 2-тиобарбитуровой кислотой (ТБК-реактивные продукты). Анализ маркеров окислительного стресса выполнен на базе лаборатории кафедры фундаментальной и клинической биохимии ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России.

Для всех статистических анализов использовали программное обеспечение StatPlus (AnalystSoft Inc., Версия 7. См. www.analystsoft.com/ru/). Для оценки взаимосвязи лабораторных показателей с выживаемостью в течение 2-х лет использовали модель пропорциональных интенсивностей Кокса. Влияние факторов считали статистически значимыми при соблюдении условия $p<0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На первом этапе для анализа взаимосвязи между изученными лабораторными характеристиками и 2-х летней выживаемостью пациенток с раком молочной железы был выполнен однофакторный регрессионный анализ на основе модели пропорциональных рисков Кокса. Многофакторный регрессионный анализ был выполнен позже, основываясь на наиболее важных прогностических факторах, выявленных на основе однофакторного анализа. В результате проведенного анализа было установлено, что среди биохимических показателей только концентрация мочевины, определенная на этапе диагностики злокачественного новообразования молочной железы, статистически значимо связана с данными двухлетней выживаемости больных. Аналогичный вывод можно сделать о влиянии наличия мутаций гена BRCA1, определенных в ходе молекулярно-генетического исследования крови женщин на начальном этапе исследования (таблица 1). На наш взгляд достаточно ожидаемые результаты, учитывая низкую специфичность изученных биохимических показателей и онкомаркеров по отношению к злокачественным новообразованиям молочных желез. Тем не менее анализ был проведен, основываясь на данных других авторов, которые приводились выше [4; 5]. При этом используемый авторами интегральный индекс окислительного стресса был первоначально разработан на данных больных колоректальным

раком. Выявление статистически значимого влияния исходной концентрации мочевины в нашем исследовании, как и в работах, указанных выше, может быть обусловлено общим уровнем эндогенной интоксикации, связь же с окислительным стрессом неочевидна. Для более детального и объективного анализа влияния окислительных нарушений были проанализированы прямые маркеры состояния системы антиоксидантной защиты и свободнорадикальных повреждений биомолекул (таблица 2). Дополнительно следует отметить, что было установлено влияние мутаций гена BRCA1 на прогноз, связанный с 2-х летней выживаемостью пациенток, что соответствует современным представлениям о роли данного молекулярно-генетического фактора [13; 14].

Оценка влияния исходного уровня прямых маркеров окислительного стресса на выживаемость пациенток с раком молочной железы представлена в таблице 2. Из 6 изученных лабораторных показателей в этом случае для 2-х была выявлена статистически значимая взаимосвязь с выживаемостью больных в течение 2-х лет – это общая антиоксидантная активность, определенная железо-восстанавливающим методом, и уровень тиоловых групп в плазме крови. Ба показателя тесно взаимосвязаны друг с другом. Вероятно, что именно содержание белковых и небелковых SH-групп в плазме крови вносит основной вклад в формирование ее антиоксидантного потенциала, определяемого химическими методами. При этом такие слабые антиоксиданты, как мочевина и билирубин, даже несмотря на свою относительно высокую концентрацию в крови, железо-восстанавливающим методом не регистрируются.

Для многофакторного анализа были использованы следующие маркеры: мочевина, общая антиоксидантная активность, тиоловые группы плазмы крови и наличие мутаций гена BRCA1, которые продемонстрировали статистически значимое влияние на 2-х летнюю выживаемость пациенток с раком молочной железы при однофакторном анализе, описанном выше. Лучшие результаты методом подбора были получены при включении двух факторов: мутации BRCA1 и общая антиоксидантная активность (таблица 3). Таким образом, для прогноза выживаемости больных раком молочной железы в течение 2 лет можно использовать уравнение: $X=-2,17*\text{МутацииBRCA1}+7,14*\text{ОАОА}$, где наличие мутаций в гене BRCA1 кодируется «1», отсутствие «0»; уровень антиоксидантной активности выражается в mM аскорбиновой кислоты, принятой за стандарт.

В качестве уровня высокого риска было принято 50% от приведенного выше коэффициента для изученной выборки – 4,35. Более низкие значения

Таблица 1. Регрессионные модели Кокса (однофакторный анализ) для биохимических показателей крови.**Table 1. Cox regression models (univariate analysis) for blood biochemical parameters.**

Маркер	Ме(Q1/Q3)	β	Отношение рисков (HR)	p
Билирубин общий, мкмоль/л	7,8 (6,3/9,1)	0,05	1,05	0,38
Общий белок, г/л	72,7 (68,1/79,2)	0,01	1,01	0,86
Мочевина, ммоль/л	5,4 (3,7/5,9)	0,46	1,58	0,0245
Креатинин, ммоль/л	73,9 (67,0/81,0)	0,01	1,01	0,67
Глюкоза, ммоль/л	5,61 (4,98/6,22)	-0,05	0,95	0,87
Холестерин, ммоль/л	5,35 (4,86/6,12)	-0,53	0,59	0,16
ЛДГ, ед/л	222,7 (197,2/236,6)	0,004	1,00	0,52
АЛТ, ед/л	19,5 (16,8/30,3)	0,02	1,02	0,50
АСТ, ед/л	23,0 (17,8/35,5)	0,01	1,01	0,68
СРБ, мг/л	3,92 (2,10/4,94)	-0,15	0,86	0,32
РЭА, нг/мл	4,4 (2,7/5,8)	-0,12	0,89	0,50
СА 125, ед/мл	23,4 (14,4/27,8)	-0,02	0,98	0,37
СА 15-3, ед/мл	17,1 (11,4/24,9)	-0,04	0,96	0,28
ПТГрП, нг/мл	289 (268/325)	-0,01	0,99	0,31
Наличие мутаций BRCA1	28%	1,61	4,99	0,0131

Таблица 2. Регрессионные модели Кокса (однофакторный анализ) для маркеров окислительного стресса.**Table 2. Cox regression models (univariate analysis) for oxidative stress markers.**

Маркер	Ме(Q1/Q3)	β	Отношение рисков (HR)	p
ОАОА, мМ	0,69 (0,57/0,79)	-5,99	0,002	0,0295
Каталаза, моль/(л*мин)	36,2 (31,7/42,5)	0,01	1,01	0,74
ГПО, ммоль/(л*мин)	131 (110/207)	0,002	1,00	0,55
Глутатион, ммоль/мл	2,0 (1,8/2,3)	-0,03	0,97	0,97
Тиоловые группы, усл. ед.	0,37 (0,31/0,42)	7,96	2860,62	0,0176
ТБК-реактивные продукты, усл. ед.	0,8 (0,6/1,0)	-0,38	0,68	0,70

коэффициента соответственно ассоциированы с высоким риском, более высокие – с низким риском смертности в течение 2-х лет. Выборка была стратифицирована на подгруппы в соответствии с предложенным пороговым уровнем риска и для

этих подгрупп был выполнен анализ выживаемости по Каплан-Майер.

Кривые выживаемости по Каплан-Майер представлены на рисунке 1 с интервалами событий по месяцам. Анализ двух кривых продемон-

Таблица 3. Регрессионные модели Кокса (многофакторный анализ) для маркеров окислительного стресса.

Table 3. Cox regression models (multivariate analysis) for oxidative stress markers.

Маркер	β	Отношение рисков (HR)	p
Наличие мутаций BRCA1	2,17	8,74	0,0069
OAOA	-7,14	0,001	0,0339

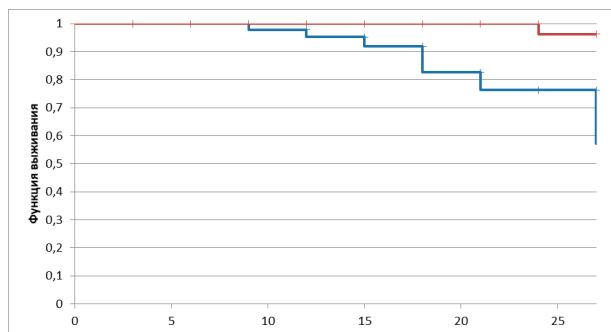


Рис. 1. Анализ выживаемости больных раком молочной железы, стратифицированных по уровню риска ($p=0,0001$).

Fig. 1. Survival analysis of breast cancer patients stratified by risk level ($p=0.0001$).

стрировал наличие между ними статистически значимых различий ($p=0,0001$ по логранговому критерию), что демонстрирует высокую информативность предложенного коэффициента риска. Ограничением использования предложенной модели является небольшой размер выборки проведенного исследования, поэтому в перспективе представляет интерес апробация ее в более масштабных клинических исследованиях.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Установлено, что среди биохимических показателей крови, в том числе маркеров окислительного стресса, определенных на этапе постановки диагноза «рак молочной железы», имеется взаимосвязь 2-х летней выживаемости с концентрацией мочевины, тиоловых групп и антиоксидантной активностью. Разработан коэффициент выживаемости больных раком молочной железы, основанный на оценке наличия мутаций в гене BRCA и исходного уровня общей антиоксидантной активности. Использование коэффициента позволяет надежно стратифицировать больных по уровню риска смертности, что является одним из элементов формирования персонифицированной стратегии их лечения.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

ЛИТЕРАТУРА

- Sung H., Ferlay J., Siegel R. L., et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. CA Cancer J Clin. 2021;71:209-249. doi:10.3322/caac.21660.
- Zhang J., Guan H., Song C., et al. Locoregional treatments of metastatic internal mammary node following neoadjuvant chemotherapy. Chin Med J (Engl). 2025;138:358–360. doi:10.1097/CM9.0000000000003397.
- Wu H. J., Chu P. Y. Recent Discoveries of Macromolecule and Cell-Based Biomarkers and Therapeutic Implications in Breast Cancer. Int J Mol Sci. 2021;22:636. doi:10.3390/ijms22020636.
- Chen L., Dai C., Peng S., et al. Preoperative integrated oxidative stress score as a prognostic factor for predicting clinical outcomes in breast cancer patients received neoadjuvant chemotherapy: a real-world retrospective study. Int J Med Sci. 2025;22(6):1437-1449. doi:10.7150/ijms.109915.
- Cao Y., Deng S., Yan L., et al. An Oxidative Stress Index-Based Score for Prognostic Prediction in Colorectal Cancer Patients Undergoing Surgery. Oxid Med Cell Longev. 2021;2021:6693707. doi:10.1155/2021/6693707.
- Soto Conti C. P. Bilirubin: The toxic mechanisms of an antioxidant molecule. Arch Argent Pediatr. 2021;119(1):e18-e25. doi:10.5546/aap.2021.eng.e18.
- Yang S., Liu H., Fang X. M., Yan F., Zhang Y. Signaling pathways in uric acid homeostasis and gout: From pathogenesis to therapeutic interventions. Int Immunopharmacol. 2024;132:111932. doi:10.1016/j.intimp.2024.111932.
- De Simone G., di Masi A., Ascenzi P. Serum Albumin: A Multifaced Enzyme. Int J Mol Sci. 2021;22(18):10086. doi:10.3390/ijms221810086.
- Watanabe H. Oxidized Albumin: Evaluation of Oxidative Stress as a Marker for the Progression of Kidney Disease. Biol Pharm Bull. 2022;45(12):1728–1732. doi: 10.1248/bpb.b22-00586.
- Быков И. М., Ермакова Г. А., Попов К. А., Попова М. А., Завгородняя А. Г., Устинова Е. С. Влияние комбинированной гепатопротекторной терапии серосодержащими препаратами

на состояние окислительного гомеостаза в крови больных алкогольным гепатитом: рандомизированное проспективное исследование. Кубанский научный медицинский вестник. 2024;31(6):15-27. doi:10.25207/1608-6228-2024-31-6-15-27.

11. Быков И. М., Любченко Д. А., Попов К. А. и др. Маркеры окислительного стресса у пациентов с синдромом зависимости от опиоидов и психостимуляторов. Инновационная медицина Кубани. 2020;(4):20-26. doi:10.35401/2500-0268-2020-20-4-20-26.

12. Попов К. А., Быков И. М., Цымбалюк И. Ю., и др. Изменения состояния тиолового звена антиоксидантной системы в ишемический и ранний реперфузионный периоды при васкулярной эксклюзии печени крыс. Медицинский вестник Северного Кавказа. 2018;13(3):525-529. doi:10.14300/mnnc.2018.13096.

13. Azim H. A, Elghazawy H., Shohdy K. S., et al. Impact of BRCA Mutation on Treatment Outcomes of Endocrine Therapy ± CDK4/6 Inhibitors in Hormone Receptor-Positive/Human Epidermal Growth Factor Receptor-2-Negative Breast Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis. JCO Precis Oncol. 2025;9:e2400841. doi: 10.1200/PO-24-00841

14. Pogoda K., Niwińska A., Sarnowska E., et al. Effects of BRCA Germline Mutations on Triple-Negative Breast Cancer Prognosis. J Oncol. 2020;2020:8545643. doi:10.1155/2020/8545643.

REFERENCES

1. Sung H., Ferlay J., Siegel R. L., et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. CA Cancer J Clin. 2021;71:209-249. doi:10.3322/caac.21660.
2. Zhang J., Guan H., Song C., et al. Locoregional treatments of metastatic internal mammary node following neoadjuvant chemotherapy. Chin Med J (Engl). 2025;138:358–360. doi:10.1097/CM9.0000000000003397.
3. Wu H. J., Chu P. Y. Recent Discoveries of Macromolecule and Cell-Based Biomarkers and Therapeutic Implications in Breast Cancer. Int J Mol Sci. 2021;22:636. doi:10.3390/ijms22020636.
4. Chen L., Dai C., Peng S., et al. Preoperative integrated oxidative stress score as a prognostic factor for predicting clinical outcomes in breast cancer patients received neoadjuvant chemotherapy: a real-world retrospective study. Int J Med Sci. 2025;22(6):1437-1449. doi:10.7150/ijms.109915.
5. Cao Y., Deng S., Yan L., et al. An Oxidative Stress Index-Based Score for Prognostic Prediction in Colorectal Cancer Patients Undergoing Surgery. Oxid Med Cell Longev. 2021;2021:6693707. doi:10.1155/2021/6693707.
6. Soto Conti C. P. Bilirubin: The toxic mechanisms of an antioxidant molecule. Arch Argent Pediatr. 2021;119(1):e18-e25. doi:10.5546/aap.2021. eng.e18.
7. Yang S., Liu H., Fang X. M., Yan F., Zhang Y. Signaling pathways in uric acid homeostasis and gout: From pathogenesis to therapeutic interventions. Int Immunopharmacol. 2024;132:111932. doi:10.1016/j.intimp.2024.111932.
8. De Simone G., di Masi A., Ascenzi P. Serum Albumin: A Multifaced Enzyme. Int J Mol Sci. 2021;22(18):10086. doi:10.3390/ijms221810086.
9. Watanabe H. Oxidized Albumin: Evaluation of Oxidative Stress as a Marker for the Progression of Kidney Disease. Biol Pharm Bull. 2022;45(12):1728–1732. doi: 10.1248/bpb.b22-00586.
10. Bykov I. M., Ermakova G. A., Popov K. A., Popova M. A., Zavgorodnyaya A. G., Ustinova E. S. Effect of combination hepatoprotective therapy with sulfur-containing drugs on oxidative homeostasis in the blood of patients with alcoholic hepatitis: A randomized prospective study. Kuban Scientific Medical Bulletin. 2024;31(6):15-27. (In Russ.). doi: 10.25207/1608-6228-2024-31-6-15-27.
11. Bykov I. M., Lubchenko D. A., Popov K. A., et al. Oxidative stress markers in patients suffering from opioid and psychostimulant dependence syndrome. Innovative Medicine of Kuban. 2020;(4):20-26. (In Russ.). doi: 10.35401/2500-0268-2020-20-4-20-26.
12. Popov K. A., Bykov I. M., Tsymbalyuk I. Yu., et al. Changes in state of the thiol linkages of an antioxidant system during ischemia and reperfusion, against a background of vascular exclusion in the rat liver. Medical News of North Caucasus. 2018;13(3):525-529. (In Russ.). doi: 10.14300/mnnc.2018.13096.
13. Azim H. A, Elghazawy H., Shohdy K. S., et al. Impact of BRCA Mutation on Treatment Outcomes of Endocrine Therapy ± CDK4/6 Inhibitors in Hormone Receptor-Positive/Human Epidermal Growth Factor Receptor-2-Negative Breast Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis. JCO Precis Oncol. 2025;9:e2400841. doi: 10.1200/PO-24-00841.
14. Pogoda K., Niwińska A., Sarnowska E., et al. Effects of BRCA Germline Mutations on Triple-Negative Breast Cancer Prognosis. J Oncol. 2020;2020:8545643. doi:10.1155/2020/8545643.

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ МЕТОДОВ ИНСУЛИНОТЕРАПИИ НА УРОВЕНЬ ЭНДОТОКСИН-СВЯЗЫВАЮЩИХ СИСТЕМ, МАРКЕРОВ ВОСПАЛЕНИЯ И ГЛИКЕМИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ У ПАЦИЕНТОВ С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 1 ТИПА

Яцков И. А.¹, Дворяньчиков Я. В.², Белоглазов В. А.¹, Деунежева С. М.², Агеева Е. С.¹,

Репинская И. Н.^{1,3}, Загидуллина Э. Р.¹, Кумельский Е. Д.¹

¹Ордена Трудового Красного Знамени Медицинский институт имени С. И. Георгиевского федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского» (Медицинский институт им. С. И. Георгиевского ФГАОУ ВО «КФУ им. В. И. Вернадского»), 295051, бул. Ленина, 5/7, Симферополь, Россия

²Государственный научный центр Российской Федерации Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии имени академика И. И. Дедова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 117292, ул. Дмитрия Ульянова, д. 11, Москва, Россия

³Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Республики Крым «Республиканская клиническая больница им Н.А. Семашко», 295017, ул. Киевская 69, Симферополь, Россия

Для корреспонденции: Яцков Игорь Анатольевич, к.м.н., доцент кафедры внутренней медицины №2, Медицинский институт им. С. И. Георгиевского ФГАОУ ВО «КФУ им. В. И. Вернадского», e-mail: egermd@yandex.ru

For correspondence: Igor A. Yatskov, PhD, Associate Professor of Department of Internal Medicine №2, Order of the Red Banner of Labor Medical Institute named after S. I. Georgievsky V. I. Vernadsky Crimean Federal University (Medical Institute named after S. I. Georgievsky of Vernadsky CFU), e-mail: egermd@yandex.ru

Information about authors:

Yatskov I. A., <https://orcid.org/0000-0002-5486-7262>
Dvoryanchikov Ya.V., <https://orcid.org/0000-0002-2541-3747>
Beloglazov V. A., <https://orcid.org/0000-0001-9640-754X>
Deunezhewa S. M., <https://orcid.org/0000-0002-3104-3412>
Ageeava E. S., <https://orcid.org/0000-0003-4590-3580>
Repinskaya I. N., <https://orcid.org/0000-0001-6200-1699>
Zagidullina E. R., <https://orcid.org/0009-0005-9693-5461>
Kumelsky E. D., <https://orcid.org/0000-0001-5090-4516>

РЕЗЮМЕ

Открытие инсулина канадскими врачами Фредериком Бантингом и Чарльзом Бестом навсегда изменило отношение врачей и пациентов к ранее неизлечимому заболеванию. До этого великого события пациенты с сахарным диабетом первого типа (СД1) неминуемо погибали от диабетического кетоацидоза. Цель. Оценить различия в уровнях провоспалительных цитокинов, маркеров ангиогенеза, гликированного гемоглобина, микроальбуминурии и липидного профиля у пациентов на помповой и базис-болюсной инсулинотерапии. Материал и методы. Проведено одноцентровое одномоментное исследование, по результатам которого обследовано 90 человек (70 на базис-болюсной и 20 на помповой инсулинотерапии) в возрасте от 22 до 45 лет с СД1. В обеих группах преобладали женщины: 57% и 60% соответственно. Исследовались уровни биохимических маркеров (ИЛ-6, ФНО- α , ИЛ-10, СРБ, ЛСБ, VEGF, ТФРb1, оксид азота, sCD14), гликированного гемоглобина, липидного профиля (общий холестерин, триглицериды, холестерин ЛПНП и холестерин ЛПВП) и микроальбуминурии. Результаты. Полученные данные свидетельствуют о преимуществе использования помповой инсулинотерапии в рамках достижения лучшего показателя гликемического контроля ($HbA1c p=0,03$) и уменьшения микроальбуминурии ($p=0,04$). Улучшение гликемического контроля отражается в более низких уровнях провоспалительных (ИЛ-6 $p=0,04$, СРБ $p=0,03$, ЛСБ $p=0,02$) и профибротических факторов (ТФРb1 $p=0,01$), а также маркера ангиогенеза (VEGF $p=0,04$). Возраст и стаж заболевания не отличаются между группами, что нивелирует влияние данных факторов на полученные результаты. Заключение. Применение помповой инсулинотерапии имеет ряд преимуществ, реализация которых способствует улучшению показателей гликемического профиля, что ассоциировано со снижением провоспалительных и профибротических маркеров и основного фактора ангиогенеза. Улучшение данных показателей достоверно снижает риск развития и прогрессирования поздних осложнений сахарного диабета.

Ключевые слова: сахарный диабет 1 типа, помповая инсулинотерапия, провоспалительные маркеры, профибротические маркеры, основной фактор ангиогенеза.

EFFECT OF DIFFERENT METHODS OF INSULIN THERAPY ON LEVELS OF ENDOTOXIN-BINDING SYSTEMS, INFLAMMATORY MARKERS AND GLYCEMIC CONTROL IN PATIENTS WITH TYPE 1 DIABETES MELLITUS

**Yatskov I. A.¹, Dvoryanchikov Ya. V.², Beloglazov V. A.¹, Deunezhewa S. M.², Ageeva E. S.¹,
Repinskaya I. N.^{1,3}, Zagidullina E. R.¹, Kumelsky E. D.¹**

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

²National Medical Research Center of Endocrinology named after Academician I. I. Dedov, Moscow, Russia

³N. A. Semashko Republican Clinical Hospital, Simferopol, Russia

SUMMARY

The discovery of insulin by Canadian doctors Frederick Bunting and Charles Best forever changed the attitude of doctors and patients towards a previously incurable disease. Before this great event, patients with DM1 inevitably died from diabetic ketoacidosis. Goal. To evaluate differences in the levels of proinflammatory cytokines, markers of angiogenesis, glycated hemoglobin, microalbuminuria, and lipid profile in patients on pump and basebolus insulin therapy. Material and methods. A single-center, single-stage study was conducted, according to the results of which 90 people (70 on basic bolus and 20 on pump insulin therapy) aged 22 to 45 years with DM1 were examined. Women dominated in both groups: 57% and 60%, respectively. The levels of biochemical markers (IL-6, TNF- α , IL-10, CRP, LSB, VEGF, TFRb1, nitric oxide, sCD14), glycated hemoglobin, lipid profile (total cholesterol, triglycerides, LDL cholesterol and HDL cholesterol) and microalbuminuria were studied. Results. The data obtained indicate the advantage of using pump insulin therapy in achieving better glycemic control (HbA1c p=0.03) and reducing microalbuminuria (p=0.04). Improved glycemic control is reflected in lower levels of pro-inflammatory (IL-6 p=0.04, CRP p=0.03, LSD p=0.02) and profibrotic factors (TFRb1 p=0.01), as well as angiogenesis markers (VEGF p=0.04). The age and length of the disease do not differ between the groups, which negates the influence of these factors on the results obtained. Conclusion. The use of pump-action insulin therapy has a number of advantages, the implementation of which contributes to an improvement in the glycemic profile, which is associated with a decrease in pro-inflammatory and profibrotic markers and the main factor of angiogenesis. Improving these indicators significantly reduces the risk of developing and progressing late complications of diabetes mellitus.

Key words: type 1 diabetes mellitus, continuous subcutaneous infusion of insulin therapy, pro-inflammatory markers, profibrotic markers, the main factor of angiogenesis.

Открытие инсулина канадскими врачами Фредериком Бантигом и Чарльзом Бестом навсегда изменило отношение врачей и пациентов к ранее неизлечимому заболеванию. До этого великого события пациенты с СД1 неминуемо погибали от диабетического кетоацидоза. Попытки соблюдения строгого протокола голодания приводили к тяжёлому недоеданию и смерти в течение от нескольких месяцев до 1-2 лет. В 1922-1923 годах от доступа к инсулину зависело, умрёт ли человек или же продолжить жить [6].

Проблема с отсутствием лечения была решена, однако появилась новая – достижение физиологического гликемического профиля с целью профилактики поздних осложнений сахарного диабета. За более чем 100 лет было совершено множество шагов и действий в этом направлении: модификация молекулы инсулина, помповая терапия, запрограммированные стволовые клетки, пересадка поджелудочной железы и многое другое [7], однако вопрос всё же остаётся открытым.

Пересадка поджелудочной железы происходит только при совместной трансплантации с почкой, а применение запрограммированных стволовых клеток или пересадка бета-клеток с последующей иммуносупрессией ещё далеки до обширного применения. Помповая же инсулинотерапия становится всё более доступной,

как в рамках государственных программ, так и возможностью приобретения непосредственно у производителей.

Применение помповой инсулинотерапии имеет ряд преимуществ, реализация которых проходит путём высокой точности дозирования, настройки индивидуальных профилей и возможности снижения/повышения скорости подачи в базальном режиме и многих других дополнительных функций. Однако не стоит забывать, что реализация всех положительных эффектов возможна только при полной вовлечённости пациента в лечение, так как преимущества могут обернуться опасным недостатком при отсутствии должного внимания и контроля [1]. Учитывая преимущества помповой инсулинотерапии, логично было предположить, что её применение связано с улучшением гликемического профиля, но так ли это?

Имеющиеся данные об эффективности помповой инсулинотерапии в сравнении с базис-бюллюсным вариантом противоречивы. Например, в работе Yu et al. (2024) и Hu et al. (2021) на взрослой и детской популяциях в Китае было выявлено преимущество при использовании помповой инсулинотерапии: улучшение качества жизни, снижение уровня гликированного гемоглобина [8; 9]. Однако результаты рандомизированных клинических исследований не выявили превос-

ходства помповой инсулиновтерапии при сравнении с базис-бюллюсным введением [10; 11]. При проведении метаанализа значительных различий между эффективностью различных видов инсулиновтерапии не было выявлено, но в рамках обсуждения было сказано, что у некоторых пациентов применение помповой инсулиновтерапии может способствовать улучшению гликемического профиля [12]. Достижение физиологического гликемического профиля не только за счёт уменьшения гипергликемических эпизодов, но и за счёт снижения вариабельности гликемии способствует профилактике осложнений СД.

Непосредственно улучшение гликемического профиля связано с профилактикой осложнений СД, так как *in vitro* было выявлено повышение уровня мРНК и экспрессии белков ICAM-1, VCAM-1 и молекул адгезии Е-селектина, участвующих в развитии микрососудистых осложнений СД, в группе клеток с высокими колебаниями уровня глюкозы в растворе, по сравнению со стабильно высокой концентрацией [13]. Так же Li-bo et al. (2010) по результатам проточной цитометрии выявили повышенную активацию моноцитов с увеличением уровня ИЛ-6 и TNF- α в группе клеток с нестабильной концентрацией глюкозы [14].

Противоречие данные об эффективности помповой инсулиновтерапии на показатели углеводного обмена, ограниченная информация о статусе низкоинтенсивного воспаления у пациентов на различных видах инсулиновтерапии послужили основанием для проведения нашего исследования.

Целью данного исследования стала оценка влияния применения различных методов инсулиновтерапии (непрерывной подкожной инфузии инсулина и базис-бюллюсного режима) на уровень эндотоксин-связывающих систем, маркеров воспаления и гликемический контроль у пациентов с сахарным диабетом 1 типа.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследование проводилось на базе отделения эндокринологии ГБУЗ РК «Республиканская клиническая больница им Н.А. Семашко» в г. Симферополе, с 20 октября 2024 года по 12 февраля 2025 года.

В исследование включались пациенты с СД1 старше 18-50 лет на помповой и базис-бюллюсной инсулиновтерапии. Критериями исключения в исследование были в верифицированный диагноз Сахарный диабет 1-го типа, возраст старше 50 лет, беременность, наличие онкологических заболеваний, воспалительные заболевания кишечника в анамнезе, клинические признаки острого воспаления и лихорадка.

В исследование включено 38 мужчин и 52 женщины с СД1 в возрасте от 18 до 55 лет (медиана – 34,5 лет). Терапию в режиме базис-бюллюсного режима получали 70 человек, в режиме помповой инсулиновтерапии – 20.

В исследование включались пациенты с СД1, получавшие плановую высокотехнологичную или специализированную медицинскую помощь.

Данные о наличии сопутствующих заболеваний были получены из предшествующей госпитализации медицинской документации (амбулаторные карты пациентов).

Пациентам обеих групп при поступлении в отделение эндокринологии был проведен забор биологического материала (цельной крови и плазмы крови), который транспортировался для анализа на базе Центра коллективного пользования научным оборудованием Ордена Трудового Красного Знамени Медицинский институт им. С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского», Симферополь, Россия.

Содержание биохимических маркеров (ИЛ-6, ФНО- α , ИЛ-10, СРБ, ЛСБ, VEGF, ТФР β 1, оксид азота, sCD14) в плазме крови определялось количественным высокочувствительным иммуноферментным методом с использованием теста ELISA производства Cloud Clone corp. (Ухань, Хубей, Китай) на иммуноферментном анализаторе

Поскольку достаточный объем предварительных данных по исследуемой проблеме отсутствовал, минимальный объем выборки рассчитывался в соответствии с методом К.А. Отдельновой. В качестве критического уровня статистической значимости было выбрано значение $p<0,05$. Для данного значения p для пилотных исследований минимальный объем выборки $n=44$.

Статистический анализ данных проводился с помощью статистического пакета SPSS Statistics 27.0 (IBM, США).

Для сравнения количественных показателей в разных группах больных применялся критерий Манна-Уитни. Для сравнения частот качественных признаков использовался тест χ^2 Пирсона, либо точный критерий Фишера при минимальном значении ожидаемого явления менее 10. Различия считали статистически значимыми при $p<0,05$.

Исследования проводились с соблюдением правил Хельсинской декларации 1975 года, пересмотренной в 2013 году. Перед началом исследования все респонденты подтвердили свое участие письменным информированным добровольным согласием. Протокол исследования (№ 10) одобрен Локальным этическим комитетом ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», (г. Симферополь) 10 октября 2024 г.

РЕЗУЛЬТАТЫ

По результатам исследования выявлены более низкие значения ИЛ-6, СРБ и ЛСБ в группе па-

циентов на помповой инсулинотерапии ($p=0,04$, $p=0,03$ и $p=0,02$ соответственно). Данные представлены в таблице 1.

Таблица 1. Характеристика исследуемых в соответствии с изучаемыми маркерами.
Table 1. Characteristics of the subjects in accordance with the studied markers.

Показатель	Базал-бюллюс (n=70)	Помповая терапия (n=20)	p
ФНО, пкг/мл	4,4 [3,3; 5,6]	3,8 [2,9; 4,4]	0,11
ИЛ-10, пкг/мл	9,85 [7,1; 11,5]	8,2 [6,5; 9,9]	0,07
ИЛ-6, пкг/мл	10,2 [6,1; 13,2]	8,7 [5,3; 11,4]	0,04*
СРБ, мг/л	1,15 [0,6; 2,25]	0,9 [0,5; 1,4]	0,03*
ЛСБ, мг/л	3,46 [1,38; 5,5]	2,1 [1,2; 3,8]	0,02*
sCD14, пг/мл	58 [46,8; 139]	62 [51,4; 107,6]	0,22
Оксид азота, нг/мл	178 [156; 229]	167 [135; 205]	0,15
VEGF, пкг/мл	22,35 [1,26; 80]	15,4 [9,3; 30,4]	0,04*
ТФРb1, нг/мл	2,55 [1,8; 4,05]	1,95 [1,2; 2,7]	0,01*
Возраст, лет	34 [28; 45]	29 [22; 38]	0,09
Пол (ж/м), %	57% / 43%	60% / 40%	0,84
HbA1c, %	8,3 [7,1; 9,8]	7,6 [6,9; 8,5]	0,03*
Микроальбуминурия, мг/сут	12,3 [5,6; 30,1]	8,2 [3,7; 15,4]	0,04*
Холестерин, ммоль/л	5,1 [4,3; 5,8]	4,7 [4,1; 5,2]	0,12
ТГ, ммоль/л	1,4 [0,9; 2,1]	1,1 [0,8; 1,6]	0,07
ЛПВП, ммоль/л	1,2 [1,0; 1,5]	1,3 [1,1; 1,6]	0,31
ЛПНП, ммоль/л	2,8 [2,3; 3,4]	2,5 [2,1; 3,0]	0,09
Стаж СД1, лет	12 [7; 18]	9 [5; 14]	0,06
Ретинопатия, абс. (%)	49 (70%)	10 (50%)	0,18
Нефропатия, абс. (%)	35 (50%)	6 (30%)	0,04*
Полинейропатия, абс. (%)	44 (62,9%)	8 (40%)	0,08

ОБСУЖДЕНИЕ

Настоящее исследование демонстрирует значимые преимущества непрерывной подкожной инфузии инсулина (НПИИ) по сравнению с базис-бюллюсной терапией (ББТ) у пациентов с СД1 в отношении ключевых параметров гликемического контроля, маркеров воспаления, фиброза и микроангиопатии. Полученные данные требуют детального осмысливания в контексте современных представлений о патогенезе осложнений диабета и механизмах действия различных режимов инсулинотерапии.

Гликемический контроль как центральное звено. Наиболее значимым результатом является статистически достоверное снижение уровня HbA1c в группе НПИИ (7,6% против 8,3%, $p=0,03$). Это согласуется с фундаментальным принципом диабетологии: достижение и поддержание целевых показателей гликемии является основным фак-

тором профилактики микрососудистых осложнений, доказанным еще в исследованиях DCCT/EDIC [15]. Механизм преимущества НПИИ видится в ее способности более точно имитировать физиологическую секрецию инсулина за счет:

Снижения гликемической вариабельности (ГВ): НПИИ позволяет минимизировать резкие колебания глюкозы крови благодаря программируемым базальным профилям и более точному дозированию блюсов. Наши данные косвенно подтверждают это, демонстрируя лучший HbA1c при сопоставимом возрасте и стаже заболевания. Высокая ГВ признана независимым фактором риска развития осложнений СД [16]. Исследования *in vitro* и *in vivo* показывают, что осцилляции глюкозы индуцируют больший окислительный стресс и провоспалительный ответ в эндотелиальных клетках и моноцитах, чем стабильная гипергликемия [13; 14; 17]. Именно окислительный стресс и хроническое низкоинтенсивное воспале-

ние лежат в основе эндотелиальной дисфункции и развития микроангиопатий [2].

Хотя прямо в данном исследовании гипогликемии не оценивались, возможность НПИИ временно снижать базальную скорость (например, при физической нагрузке) является важным инструментом профилактики гипогликемических состояний, которые сами по себе могут активировать воспалительные каскады и симпатоадреналовую систему [18].

Маркеры системного воспаления и эндотоксинемии. Полученные данные о значимом снижении уровней ключевых провоспалительных цитокинов (ИЛ-6, СРБ) и липополисахарид-связывающего белка (ЛСБ) в группе НПИИ ($p=0,04$, $p=0,03$ и $p=0,02$ соответственно) представляют особый интерес в свете современных представлений о роли хронического субклинического воспаления и эндотоксинемии при СД1.

Улучшение гликемических показателей (HbA1c) при НПИИ напрямую коррелировало со снижением провоспалительных маркеров. Это подтверждает концепцию, что гипергликемия и, особенно, высокая ГВ, являются мощными индукторами окислительного стресса и активации провоспалительных сигнальных путей (таких как NF- κ B) [2; 19]. Снижение ИЛ-6 и СРБ при НПИИ указывает на уменьшение системного воспалительного тонуса, что потенциально замедляет прогрессирование атеросклероза и микроангиопатий.

Снижение ЛСБ – важный результат. ЛСБ является ключевым белком острой фазы, связывающим бактериальный липополисахарид (ЛПС, эндотоксин) и участвующим в инициации воспалительного ответа через рецепторы TLR4. Повышенный уровень ЛСБ у пациентов с СД1 рассматривается как маркер эндотоксинемии, возникающей, вероятно, из-за изменений кишечной проницаемости и микробиоты на фоне хронической гипергликемии и аутоиммунного воспаления [4; 5; 20]. Наши данные (ЛСБ 2,1 мг/л при НПИИ против 3,46 мг/л при ББТ) согласуются с исследованиями, демонстрирующими связь лучшего гликемического контроля со снижением уровня ЛСБ и активности эндотоксинемии [3; 5]. Это предполагает, что улучшение гликемии при НПИИ может положительно влиять на состояние кишечного барьера и/или микробиоту, снижая поступление ЛПС в системный кровоток и, как следствие, системное воспаление. Отсутствие значимых различий по sCD14 (растворимому рецептору ЛПС) может объясняться сложной регуляцией этого маркера или недостаточной мощностью выборки.

Статистически значимое снижение уровня трансформирующего фактора роста бета-1

(ТФРb1) и фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) в группе НПИИ ($p=0,01$ и $p=0,04$ соответственно) имеет важное значение для понимания влияния режима инсулинотерапии на риск развития специфических осложнений.

ТФРb1 является центральным медиатором фиброгенеза при диабетической нефропатии (ДН) и ретинопатии (ДР). Он стимулирует синтез экстрацеллюлярного матрикса мезангимальными клетками почек, способствует эпителиально-мезенхимальному переходу и развитию тубулонефрического фиброза. Гипергликемия и продукты гликирования напрямую стимулируют экспрессию ТФРb1. Снижение уровня ТФРb1 при НПИИ указывает на потенциальное уменьшение активности профибротических процессов, что коррелирует с выявленным значимым снижением частоты нефропатии в этой группе (30% против 50%, $p=0,04$). Это согласуется с данными о том, что интенсивная инсулинотерапия, направленная на улучшение гликемического контроля, замедляет прогрессирование микроальбуминурии и ДН [15; 16].

VEGF – основной стимулятор патологического ангиогенеза при пролиферативной ДР и фактор, повышающий сосудистую проницаемость, что способствует развитию макулярного отека и микроальбуминурии. Гипергликемия, гипоксия тканей (вследствие микроангиопатии) и провоспалительные цитокины (такие как ИЛ-6) являются мощными индукторами экспрессии VEGF. Снижение уровня VEGF при НПИИ можно объяснить комбинацией лучшего гликемического контроля (прямое снижение индукции VEGF глюкозой) и снижения уровня провоспалительных цитокинов (косвенное влияние). Этот результат, наряду со снижением микроальбуминурии (8,2 мг/сут против 12,3 мг/сут, $p=0,04$), указывает на потенциальное преимущество НПИИ в плане защиты микроциркуляторного русла. Хотя различия по частоте ретинопатии и нейропатии не достигли статистической значимости, возможно, из-за меньшей численности группы НПИИ и/или меньшей длительности наблюдения, биомаркерные данные (VEGF, микроальбуминурия) указывают на позитивную тенденцию [17; 18].

Значимое снижение микроальбуминурии (МАУ) при НПИИ является прямым свидетельством улучшения состояния почечного фильтра. MAU – не только ранний маркер ДН, но и независимый предиктор сердечно-сосудистого риска. Улучшение гликемического контроля (снижение HbA1c) и снижение провоспалительных цитокинов (ИЛ-6, СРБ) и VEGF (повышающего проницаемость сосудов) являются вероятными механизмами снижения MAU при НПИИ [19]. Отсутствие значимых различий в липидном профиле

между группами (хотя и отмечалась тенденция к улучшению показателей при НПИИ) может быть связано с относительно небольшим размером выборки в группе НПИИ, отсутствием выраженной дислипидемии у включенных пациентов или тем, что влияние режима инсулинотерапии на липидный обмен требует более длительного наблюдения или проявляется вторично через улучшение гликемического контроля и снижение воспаления в долгосрочной перспективе [20].

Результаты исследования подчеркивают, что НПИИ – это не просто альтернативный способ доставки инсулина, а метод, способный за счет лучшей имитации физиологической секреции обеспечить более стабильный гликемический профиль. Это приводит к каскаду положительных эффектов:

- снижение хронического системного воспаления и эндотоксинемии;
- уменьшение активности профибротических процессов и патологического ангиогенеза;
- улучшение функции почечного фильтра (снижение МАУ);
- потенциальное снижение риска развития и прогрессирования микрососудистых осложнений (особенно нефропатии).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное исследование вносит вклад в понимание потенциальных преимуществ помовой инсулинотерапии (НПИИ) выходящих за рамки простого улучшения HbA1c. Достижение лучшего гликемического контроля с помощью НПИИ ассоциировано со снижением уровня ключевых медиаторов системного воспаления (ИЛ-6, СРБ), эндотоксинемии (ЛСБ), профибротических процессов (ТФРb1) и патологического ангиогенеза (VEGF), а также со снижением микроальбуминурии – раннего маркера микроangiопатии. Эти эффекты, вероятно, опосредованы снижением гликемической вариабельности и более стабильной доставкой инсулина, имитирующей физиологическую секрецию. Полученные данные подчеркивают важность не только достижения целевых показателей HbA1c, но и оптимизации гликемического профиля в целом для снижения хронического воспаления и риска осложнений СД1.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare that there is no conflict of interest.

Финансирование. Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 24-25-20052.

Financing. The research was carried out at the expense of a grant from the Russian Science Foundation No. 24-25-20052.

ЛИТЕРАТУРА

1. Дедов И. И., Шестакова М. В., Майоров А. Ю. и др. Стандарты специализированной помощи при сахарном диабете. Сахарный диабет. 2023;26(2S):1-157. doi:10.14341/dm13042.
2. An Y., Xu Bt., Wan Sr., et al. The role of oxidative stress in diabetes mellitus-induced vascular endothelial dysfunction. Cardiovasc Diabetol. 2023;237(22). doi:10.1186/s12933-023-01965-7.
3. Мавлянова К. Р., Семенова Ю. Ф., Орлов Н. Б., Климонтов В.В. Маркеры хронического воспаления низкой степени выраженности и уровни цитокинов в сыворотке крови у пациентов с сахарным диабетом 1 типа: взаимосвязь с временными интервалами и вариабельностью уровня глюкозы. Сахарный диабет. 2024;27(3):214-223. doi:10.14341/dm13159
4. Aravindhan V., Mohan V., Arunkumar N., Sandhya S., Babu S. Chronic Endotoxemia in Subjects with Type-1 Diabetes Is Seen Much before the Onset of Microvascular Complications. Stitt A, ed. Plos One. 2015;10(9):e0137618. doi:10.1371/journal.pone.0137618
5. Watanabe H., Katsura T., Takahara M., et al. Plasma lipopolysaccharide binding protein level statistically mediates between body mass index and chronic microinflammation in Japanese patients with type 1 diabetes. Diabetology International. 2020;11(3):293-297. doi:10.1007/s13340-020-00428-8
6. Powers A. C. Type 1 diabetes mellitus: much progress, many opportunities. Journal of Clinical Investigation. 2021;131(8). doi:10.1172/jci142242.
7. Дедов И. И., Шестакова М. В. К столетию со дня открытия инсулина. Сахарный диабет. 2021;24(1):11-16. doi:10.14341/dm12733.
8. Yu J., Wang H., Zhu M., Xu J. MDI versus CSII in Chinese adults with type 1 diabetes in a real-world situation: based on propensity score matching method. Health and Quality of Life Outcomes. 2024;22(1). doi:10.1186/s12955-024-02263-w.
9. Hu S., Yang H., Chen Z., et al. Clinical Outcome and Cost-Effectiveness Analysis of CSII Versus MDI in Children and Adolescent With Type 1 Diabetes Mellitus in a Public Health Care System of China. Frontiers in Endocrinology. 2021;12:604028. doi:10.3389/fendo.2021.604028.
10. Blair J., McKay A., Ridyard C., et al. Continuous subcutaneous insulin infusion versus multiple daily injections in children and young people at diagnosis of type 1 diabetes: the SCIPi RCT. Health Technology Assessment. 2018;22(42):1-112. doi:10.3310/hta22420

11. Blair J. C., McKay A., Ridyard C., et al. Continuous subcutaneous insulin infusion versus multiple daily injection regimens in children and young people at diagnosis of type 1 diabetes: pragmatic randomised controlled trial and economic evaluation. *BMJ*. 2019;365:l1226. doi:10.1136/bmj.l1226.
12. Ernesto C. M., Castillo J. L., Stephin Z. S., et al. Insulin Pump Therapy vs Multiple Daily Insulin Injections for Glycemic Control in Children With Type 1 Diabetes: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Cureus*. 2024;16(1). doi:10.7759/cureus.52054.
13. Quagliaro L., Piconi L., Assaloni R., et al. Intermittent high glucose enhances ICAM-1, VCAM-1 and E-selectin expression in human umbilical vein endothelial cells in culture: the distinct role of protein kinase C and mitochondrial superoxide production. *Atherosclerosis*. 2005;183(2):259-267. doi:10.1016/j.atherosclerosis.2005.03.015.
14. Li-bo Y., Wen-bo Q., Xiao-hong L., You-lun F., Tie Z. Intermittent high glucose promotes expression of proinflammatory cytokines in monocytes. *Inflammation Research*. 2010;60(4):367-370. doi:10.1007/s00011-010-0279-0
15. Nathan D. M, DCCT/EDIC Research Group. The Diabetes Control and Complications Trial/Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications Study at 30 Years: Overview. *Diabetes Care*. 2014;37(1):9-16. doi:10.2337/dc13-2112.
16. Gorst C., Kwok C. S., Aslam S., et al. Long-term Glycemic Variability and Risk of Adverse Outcomes: A Systematic Review and Meta-analysis. *Diabetes Care*. 2015;38(12):2354-2369. doi:10.2337/dc15-1188.
17. Ceriello A., Novials A., Ortega E., et al. Glucagon-like peptide 1 reduces endothelial dysfunction, inflammation, and oxidative stress induced by both hyperglycemia and hypoglycemia in type 1 diabetes. *Diabetes Care*. 2013;36(8):2346-2350. doi:10.2337/dc12-2469.
18. Battelino T., Danne T., Bergenstal R. M., et al. Clinical Targets for Continuous Glucose Monitoring Data Interpretation: Recommendations From the International Consensus on Time in Range. *Diabetes Care*. 2019;42(8):1593-1603. doi:10.2337/dci19-0028.
19. Jialal I., Major A. M., Devaraj S. Global Toll-like Receptor 4 Knockout Results in Decreased Renal Inflammation, Fibrosis and Podocyte Injury in Streptozotocin-Induced Diabetic Nephropathy. *Exp Diabetes Res*. 2011;2011:437030. doi:10.1155/2011/437030.
20. Jayashree B., Bibin Y. S., Prabhu D., et al. Increased circulatory levels of lipopolysaccharide (LPS) and zonulin signify novel biomarkers of proinflammation in patients with type 2 diabetes. *Mol Cell Biochem*. 2014;388(1-2):203-210. doi:10.1007/s11010-013-1911-4.
21. Dedov I. I., Shestakova M. B., Mayorov A. Yu. Standards of Specialized Diabetes Care. *Diabetes mellitus*. 2023;26(2S):1-157. (In Russ.). doi:10.14341/dm13042.
22. An Y., Xu Bt., Wan Sr., et al. The role of oxidative stress in diabetes mellitus-induced vascular endothelial dysfunction. *Cardiovasc Diabetol*. 2023;237(22). doi:10.1186/s12933-023-01965-7.
23. Mavlianova K. R., Semenova Ju. F., Orlov N. B., Klimontov V. V. Markers of chronic low-grade inflammation and serum cytokine levels in patients with type 1 diabetes: associations with time in ranges and glucose variability. *Diabetes mellitus*. 2024;27(3):214-223. (In Russ.). doi:10.14341/dm13159.
24. Aravindhan V., Mohan V., Arunkumar N., Sandhya S., Babu S. Chronic Endotoxemia in Subjects with Type-1 Diabetes Is Seen Much before the Onset of Microvascular Complications. Stitt A, ed. *Plos One*. 2015;10(9):e0137618. doi:10.1371/journal.pone.0137618.
25. Watanabe H., Katsura T., Takahara M., et al. Plasma lipopolysaccharide binding protein level statistically mediates between body mass index and chronic microinflammation in Japanese patients with type 1 diabetes. *Diabetology International*. 2020;11(3):293-297. doi:10.1007/s13340-020-00428-8.
26. Powers A. C. Type 1 diabetes mellitus: much progress, many opportunities. *Journal of Clinical Investigation*. 2021;131(8). doi:10.1172/jci142242.
27. Дедов И. И., Шестакова М. В. К столетию со дня открытия инсулина. Сахарный диабет. 2021;24(1):11-16. doi:10.14341/dm12733.
28. Yu J., Wang H., Zhu M., Xu J. MDI versus CSII in Chinese adults with type 1 diabetes in a real-world situation: based on propensity score matching method. *Health and Quality of Life Outcomes*. 2024;22(1). doi:10.1186/s12955-024-02263-w.
29. Hu S., Yang H., Chen Z., et al. Clinical Outcome and Cost-Effectiveness Analysis of CSII Versus MDI in Children and Adolescent With Type 1 Diabetes Mellitus in a Public Health Care System of China. *Frontiers in Endocrinology*. 2021;12:604028. doi:10.3389/fendo.2021.604028.
30. Blair J., McKay A., Ridyard C., et al. Continuous subcutaneous insulin infusion versus multiple daily injections in children and young people at diagnosis of type 1 diabetes: the SCIDI RCT. *Health Technology Assessment*. 2018;22(42):1-112. doi:10.3310/hta22420.
31. Blair J. C., McKay A., Ridyard C., et al. Continuous subcutaneous insulin infusion versus

REFERENCES

- multiple daily injection regimens in children and young people at diagnosis of type 1 diabetes: pragmatic randomised controlled trial and economic evaluation. *BMJ.* 2019;365:l1226. doi:10.1136/bmj.l1226.
12. Ernesto C. M., Castillo J. L., Stephin Z. S., et al. Insulin Pump Therapy vs Multiple Daily Insulin Injections for Glycemic Control in Children With Type 1 Diabetes: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Cureus.* 2024;16(1). doi:10.7759/cureus.52054.
13. Quagliaro L., Piconi L., Assaloni R., et al. Intermittent high glucose enhances ICAM-1, VCAM-1 and E-selectin expression in human umbilical vein endothelial cells in culture: the distinct role of protein kinase C and mitochondrial superoxide production. *Atherosclerosis.* 2005;183(2):259-267. doi:10.1016/j.atherosclerosis.2005.03.015.
14. Li-bo Y., Wen-bo Q., Xiao-hong L., You-lun F., Tie Z. Intermittent high glucose promotes expression of proinflammatory cytokines in monocytes. *Inflammation Research.* 2010;60(4):367-370. doi:10.1007/s00011-010-0279-0
15. Nathan D. M, DCCT/EDIC Research Group. The Diabetes Control and Complications Trial/Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications Study at 30 Years: Overview. *Diabetes Care.* 2014;37(1):9-16. doi:10.2337/dc13-2112.
16. Gorst C., Kwok C. S., Aslam S., et al. Long-term Glycemic Variability and Risk of Adverse Outcomes: A Systematic Review and Meta-analysis. *Diabetes Care.* 2015;38(12):2354-2369. doi:10.2337/dc15-1188.
17. Ceriello A., Novials A., Ortega E., et al. Glucagon-like peptide 1 reduces endothelial dysfunction, inflammation, and oxidative stress induced by both hyperglycemia and hypoglycemia in type 1 diabetes. *Diabetes Care.* 2013;36(8):2346-2350. doi:10.2337/dc12-2469.
18. Battelino T., Danne T., Bergenstal R. M., et al. Clinical Targets for Continuous Glucose Monitoring Data Interpretation: Recommendations From the International Consensus on Time in Range. *Diabetes Care.* 2019;42(8):1593-1603. doi:10.2337/dc19-0028.
19. Jialal I., Major A. M., Devaraj S. Global Toll-like Receptor 4 Knockout Results in Decreased Renal Inflammation, Fibrosis and Podocyte Injury in Streptozotocin-Induced Diabetic Nephropathy. *Exp Diabetes Res.* 2011;2011:437030. doi:10.1155/2011/437030.
20. Jayashree B., Bibin Y. S., Prabhu D., et al. Increased circulatory levels of lipopolysaccharide (LPS) and zonulin signify novel biomarkers of proinflammation in patients with type 2 diabetes. *Mol Cell Biochem.* 2014;388(1-2):203-210. doi:10.1007/s11010-013-1911-4.

БИОПРИНТИНГ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ЭКСТРУЗИОННЫХ МЕТОДИК И ОПТИМАЛЬНЫЕ БИОМАТЕРИАЛЫ ДЛЯ 3D-БИОПЕЧАТИ КОМПОНЕНТОВ КОЖИ

Волкова Н. А., Юрченко К. А., Дегирменджи Э. Т., Саенко Ю. С., Фомочкина И. И.,

Кубышкин А. В.

Инжиниринговый центр «Генетические и клеточные биотехнологии», Ордена Трудового Красного Знамени Медицинский институт имени С. И. Георгиевского федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского» (Медицинский институт им. С. И. Георгиевского ФГАОУ ВО «КФУ им. В. И. Вернадского»), 295051, бул. Ленина, 5/7, Симферополь, Россия

Для корреспонденции: Волкова Надежда Александровна, кандидат фармацевтических наук, младший научный сотрудник Инжинирингового центра «Генетические и клеточные биотехнологии», Медицинский институт им. С. И. Георгиевского ФГАОУ ВО «КФУ им. В. И. Вернадского», e-mail: nadalina.alex@yandex.ru

For correspondence: Nadezhda A. Volkova, PhD in Pharmaceutical science, junior researcher at the Engineering Center «Genetic and Cellular Biotechnology», Order of the Red Banner of Labor Medical Institute named after S. I. Georgievsky V. I. Vernadsky Crimean Federal University (Medical Institute named after S. I. Georgievsky of Vernadsky CFU), e-mail: nadalina.alex@yandex.ru

Information about authors:

Volkova N. A., <https://orcid.org/0000-0002-7820-7074>
Yurchenko K. A., <https://orcid.org/0000-0002-0284-7059>
Degirmenji E. T., <https://orcid.org/0009-0000-4787-3739>
Saenko J. S., <https://orcid.org/0000-0002-5304-6112>
Fomochkina I. I., <https://orcid.org/0000-0003-3065-5748>
Kubyshkin A. V., <https://orcid.org/0000-0002-1309-4005>

РЕЗЮМЕ

Создание функциональных тканеинженерных конструкций, способных восстанавливать поврежденные ткани, является ключевым направлением в регенеративной медицине и тканевой инженерии. 3D-биопринтинг, в частности экструзионные методики, представляет собой перспективный подход для послойного формирования каркасов, поддерживающих пролиферацию и дифференцировку клеток, а также способствующих регенерации тканей. Цель настоящего систематического обзора – проанализировать современные стратегии создания оптимальных матриц для экструзионного 3D-биопринтинга компонентов кожи и их интеграции с культурами фибробластов, а также выявить ключевые достижения и существующие ограничения в области биоинженерии кожи, с целью определения перспективных направлений исследований и практического применения в регенеративной медицине. Для поиска релевантной литературы использовались базы данных PubMed, Scopus и Google Scholar, а также специализированные журналы по биопринтингу и инженерии тканей, такие как «Tissue Engineering», «Biomaterials» и «Biofabrication». Основное внимание уделялось публикациям последних десяти лет с полным текстом и рецензированием. Результаты систематизировались с указанием автора, года, типа исследования, используемых клеточных моделей, материалов и ключевых выводов. Исследования показывают, что оптимизация состава биочернил повышает воспроизводимость печати, механическую стабильность и выживаемость клеток, обеспечивая равномерное распределение клеток в конструкции. Вместе с тем остаются значительные проблемы, включая контроль взаимодействия матрицы с клетками, обеспечение вакуумации и масштабирование до клинически значимых результатов. Несмотря на эти ограничения, экструзионные подходы позволяют создавать жизнеспособные модели кожи для регенеративной медицины, лечения ран. Таким образом, экструзионный 3D-биопринтинг в сочетании с оптимизированными биочернилами и интеграцией фибробластов представляет собой перспективную стратегию для создания функциональных конструкций кожи. Дальнейшее совершенствование матриц, методов интеграции клеток и масштабируемых протоколов печати является необходимым для преодоления технологических и биологических барьеров и успешной клинической трансляции.

Ключевые слова: 3D-биопринтинг, экструзионная биопечать, матрицы для биопечати, фибробlastы, выживаемость клеток.

BIOPRINTING USING EXTRUSION TECHNIQUES AND OPTIMAL BIOMATERIALS FOR 3D BIOPRINTING OF SKIN COMPONENTS

Volkova N. A., Yurchenko K. A., Degirmenji E. T., Saenko J. S., Fomochkina I. I., Kubyshkin A. V.

Engineering Center «Genetic and Cellular Biotechnologies», Medical Institute named after S. I. Georgievsky of Vernadsky CFU, Simferopol, Russia

SUMMARY

The creation of functional tissue-engineered constructs capable of restoring damaged tissues represents a key direction in regenerative medicine and tissue engineering. 3D bioprinting, particularly extrusion-based methods, offers

a promising approach for layer-by-layer fabrication of scaffolds that support cell proliferation and differentiation, as well as tissue regeneration. The aim of this systematic review is to analyze current strategies for designing optimal matrices for extrusion-based 3D bioprinting of skin components and their integration with fibroblast cultures, as well as to identify major achievements and existing limitations in skin bioengineering, with the goal of outlining promising directions for further research and clinical application in regenerative medicine. Relevant literature was searched using PubMed, Scopus, and Google Scholar, as well as specialized journals in bioprinting and tissue engineering, such as «Tissue Engineering», «Biomaterials», and «Biofabrication». The focus was on full-text, peer-reviewed publications from the last ten years. Results were systematized by author, year, study type, cell models, materials used, and key findings. Studies indicate that optimizing bioink composition improves print reproducibility, mechanical stability, and cell viability, ensuring uniform cell distribution within the construct. Nevertheless, significant challenges remain, including controlling matrix–cell interactions, ensuring vascularization, and scaling constructs to clinically relevant sizes. Despite these limitations, extrusion-based approaches enable the creation of viable skin models for regenerative medicine and wound treatment. Thus, extrusion-based 3D bioprinting combined with optimized bioinks and fibroblast integration represents a promising strategy for fabricating functional skin constructs. Further refinement of matrices, cell integration methods, and scalable printing protocols is essential to overcome technological and biological barriers and achieve successful clinical translation.

Key words: 3D bioprinting, extrusion bioprinting, bioprinting inks, fibroblasts, cell survival.

3D-биопринтеринг – перспективно развивающаяся отрасль тканевой инженерии, предназначенная для создания тканеинженерных конструкций (ТИК) [1, 2]. Описана возможность применения биопринтеринга тканей дыхательной системы для реконструкции трахеи у пациентов детского возраста с трахеомалляцией [3]. Особый интерес вызывает биопечать искусственных бронхов и создание нового аэрогематического барьера [4]. Перспективна технология биопечати гепатоцитов в качестве имплантируемых ТИК, а также для моделирования заболеваний [5; 6]. Проводятся доклинические исследования эффективного восстановления остеохондроцитов у крыс после применения тканеинженерных конструкций [7]. Достижения биопечати позволяют создавать модели сердца в том числе могут заменить исследования лекарственных средств на животных [8]. 3D-печать применяется в стоматологии, для создания патологических моделей, медицинских устройств, анатомических моделей для планирования хирургических операций, обучения медицинского персонала, а также скрининга лекарственных средств [9].

Наконец, в последнее время биопечать стала широко применяться как многообещающая технология регенерации тканей кожи при ожогах и обширных ранениях [10]. Во-первых, биопечать дает возможность создать структуры, содержащие фибробласты, которые могут ускорить процесс заживления и улучшить качество восстановленной кожи. Во-вторых, использование биопечати для создания тканеинженерных конструкций позволяет персонализировать лечение для каждого пациента. Это приводит к минимальному риску возникновения реакции отторжения трансплантата, аллергических реакций и других нежелательных явлений. В-третьих, с технологией биопечати можно значительно сократить по-

требность в донорских тканях, что делает процесс лечения более доступным и устраниет проблемы, связанные с нехваткой доноров.

Таким образом, на данный момент технология 3D-биопринтеринга обладает все большей значимостью в тканевой инженерии и регенеративной медицине, однако многие вопросы, связанные с материалами, клеточными моделями и эффективностью технологий, остаются недостаточно изученными. В связи с этим, цель настоящего систематического обзора – проанализировать современные стратегии создания оптимальных матриц для экструзионного 3D-биопринтеринга компонентов кожи и их интеграции с культурами фибробластов, а также выявить ключевые достижения и существующие ограничения в области биоинженерии кожи, с целью определения перспективных направлений для дальнейших исследований и практического применения в регенеративной медицине.

Для поиска релевантной литературы использовались базы данных PubMed, Scopus, Web of Science и Google Scholar, а также ключевые специализированные журналы по биопринтерингу и инженерии тканей, такие как «Tissue Engineering», «Biomaterials» и «Biofabrication». Поиск проводился с использованием комбинаций ключевых слов, включая «3D bioprinting», «skin tissue engineering», «hydrogel scaffold», «dermal fibroblasts» и «keratinocytes». Основное внимание уделялось публикациям последних десяти лет (2015-2025 гг.), преимущественно на английском языке, с полным текстом и рецензированием. Критериями включения служили оригинальные исследования, обзоры и метаанализы, посвященные 3D-биопринтерингу кожи, с использованием человеческих или животных клеток и описанием материалов, технологий печати и условий культивирования. Исключались публикации без

описания методики, дублирующие исследования, отчеты конференций без рецензирования, работы по 3D-печати других тканей. Отбор статей осуществлялся в несколько этапов: первоначальный поиск по ключевым словам, анализ заголовков и аннотаций для исключения нерелевантных публикаций, чтение полного текста для оценки соответствия критериям включения и кросс-проверка ссылок для выявления дополнительных источников. Результаты систематизировались с указанием автора, года, типа исследования, используемых клеточных моделей, материалов и ключевых выводов.

На основе выбранных и проанализированных публикаций можно выделить последовательность этапов 3D-биопечати кожи, подробно описанную в современных исследованиях. Так, В. А. Миронов и соавторы выделили три этапа биопечати [11]. На этапе препроцессинга происходит создание цифровой модели каркаса для биопечати, культивирование клеток [12]. Вначале участок, на который в дальнейшем будет проводиться имплантация, исследуется с помощью современных методов визуализации, а именно компьютерной томографии и магнитно-резонансной томографии. Затем определяются геометрические и математические параметры будущего тканеинженерного конструкта, его толщина моделируются компьютерной автоматизированной системой CAD (Computer-Aided Design) в формате, который будет использован биопринтером [12]. Этап процессинга подразумевает наслаждение ТИК на подложку, позволяя получить трехмерную структуру. На этапе постпроцессинга происходит созревание конструкта. Улучшение механических, биологических и функциональных характеристик ТИК достигается помещением его в биореактор [2; 11; 12].

3D-биопринтеринг методом экструзии осуществляется посредством послойного нанесения биочернил благодаря перемещению механизированной системы и экструдера в системе координат X и Y, по горизонтали и по вертикали [2; 11; 13-15]. Печать может осуществляться с использованием давления, методом прямой печати [16]. Автоматизированная система при этом обеспечивает точное наложение чернил непрерывными линиями согласно заданной 3D-модели. Экструзионная биопечать позволяет использовать такие материалы, как гидрогели, сополимеры и клеточные сфероиды, причем низкая вязкость биоматериала обеспечивает большую жизнеспособность клеток, а высокая – структурный каркас конструкта [13].

Для печати используются биочернила, включающие матрицу, клетки и факторы роста. Достижение оптимальных реологических свойств тка-

неинженерного конструкта – одна из основных проблем биопринтеринга, так как физико-химические свойства биоматериалов, в которых находятся клетки, требуют понимания взаимодействия клеток с внеклеточным матриксом [13].

Для изготовления биочернил используют природные (альгинат, желатин, коллаген, гиалуроновая кислота), синтетические (сложные полизэфиры молочной и гликоловой кислот), а также композитные материалы, представляющие собой гидрогель из твердой и жидкой фаз [17-19]. Гидрогель удерживает клетки и представляет собой специальную поддерживающую и транспортную среду во время и после процесса печати. При этом для достижения максимальной выживаемости и жизнеспособности клеток биоматериалы, применяемые для печати, должны отвечать ряду требований: необходимые физико-химические свойства, такие как вязкость, поверхностное натяжение, сшивание, обеспечивая легкий выход из экструдера и высокоточную печать; прочность на разрыв, жесткость и эластичность для обеспечения имитации механических свойств естественных тканей, прикрепления и размножения тканей; совместимость с тканями; удовлетворительная скорость замены биочернил тканями [13; 20]. Таким образом, разработка матрикса для биопечати решает различные задачи, которые связаны с точностью, стабильностью напечатанных конструкций, возможностью печати и выживаемости ТИК.

Йоргенсен и соавторы продемонстрировали удовлетворительное ремоделирование коллагена *in vivo* на лабораторных животных при ранах на всю толщину кожи. Матрикс был изготовлен из фибриногенового геля, смешанного с желатином, глицерином и гиалуроновой кислотой. В биочернилах супензировали человеческие кератиноциты, фибробласти, преадипоциты. Для сшивания конструкции был использован тромбин [21].

Для создания модели вакуляризованной кожи при атопическом дерматите сотрудниками Национального центра развития трансляционных наук были использованы кератиноциты, фибробласти и перициты человека, полученные из плюрипотентных стволовых клеток. В качестве гидрогеля применяли смесь фибриногена, компонента Novogel, термочувствительного гидрогеля и апротинина. Показано, что применение гидрогеля на основе фибриногена сокращает контракцию тканеинженерного конструкта по сравнению с коллагеновыми подложками [22].

Трехмерные биопечатные эквиваленты кожи с подтвержденной морфологией и барьерной функцией были предложены Дерром и соавторами [23]. Для матрикса использовались желатин для обеспечения необходимой вязкости, раствор фи-

бриногена, а также коллаген I типа для усиления адгезии клеток, эластин с фосфатным буфером. Клетки имели достаточную жизнеспособность, наблюдалась минимальная контракция в боковой проекции благодаря введению коллагена и фиброплазии.

Формирование пластика из биоматериала *in situ* предложено смешивание биочернил, содержащих дермальные фибробласти человека в растворе фибриногена, коллагена и гиалуроновой кислоты [24]. Фиксированные напечатанные листы через 0, 3, 6 и 12 часов после изготовления исследовались путем окрашивания для выявления ядер и цитоскелета. Клетки успешно адаптировались к 3D-каркасу без ущерба для морфологии. Что касается кератиноцитов, то для обеспечения имитации заживления ран в эпидермальном слое, ускорения биоразложения матрикса, сокращения расстояния между клетками и формирования кластеров коллаген к биочернилам не добавлялся.

Предлагаемые Кавалло и соавторами биочернила на основе фибриногена, альгината, а также тромбина и кальция хлорида в качестве сшивающих агентов [25]. Матрица данного состава отвечает требованиям достаточной механической прочности, пористости, биоразлагаемости, биосовместимости *in vitro*. Биочернила цитосовместимы с фибробластами и кератиноцитами. Анализ жизнеспособности клеток в образцах матрицы с промывкой и без промывки после сшивания составила 94 % и 87 %.

Проводилась оценка физических и биологических характеристик фибриногенного гидрогеля, дополненного децеллюляризованным внеклеточным матриксом, полученным из кожи человека [26]. Гидрогель дополняет прочность ТИК, а также повышает жизнеспособность биоэквивалента кожи.

Разработана система матрицы и система биочернил с катехолом для получения тканеинженерных конструкций, обладающих прочностью и эластичностью, с встроенными микроканалами, имитирующими сосудистую структуру [27]. Двойная сеть на основе катехол-гиалуроновой кислоты (НАСА) и альгината, обеспечивала механические свойства биочернил, а микроканалы создавались с использованием желатина. НАСА/альгинат и желатин сначала печатались с помощью 3D-экструзионного принтера. После этого фибриноген смешивался с дермальными фибробластами человека и вводился в напечатанные каркасы для формирования геля. Для имитации пластика кожи кератиноциты вводились поверх конструкции фибробластов. Напечатанные биоэквиваленты демонстрировали высокую эластичность и способствовали формированию двухслойной структуры кожи.

Группа испанских ученых для биопечати двух слоев кожи человека использовали биочернила, содержащие плазму крови человека [28]. Культура фибробластов суспендировалась в среде DMEM, а матриксом для биоэквивалента кожи служила плазма, содержащая фибриноген и транексамовую кислоту. Сообщается о малой выраженности контракции матрикса по сравнению с коллагеновыми гидрогелями.

Схожая жизнеспособность дермальных фибробластов человека наблюдалась при попытке повышения неоднородности биочернил на основе желатина [29]. Добавление поливинилового спирта в однородные желатиновые гели приводит к микрофазному разделению, наблюдается выраженное скольжение, а также высокой жизнеспособности благодаря снижению повреждений при сдвиге во время экструзии. То же самое наблюдается при печати клеток на подложке с композитами на основе желатина и наноглины.

В исследовании для создания тканеинженерного конструкта кожи, содержащей сети фибробластов с крупными порами, слои кератиноцитов, использовались различные составы биочернил на основе желатин-метакрилата и наноцеллюлозы [30]. Как показывают результаты, что матрица на основе 10% желатин-метакрилата и 0,3% наноцеллюлозы лучше подходят для моделирования биопечатной дермы, создавая благоприятную микросреду. Кроме того, биочернила с составом 10% желатин-метакрилата / 1,5% наноцеллюлозы в качестве базального образуют достаточно прочную сеть и жесткость, необходимую для поддержки сплошных монослоев кератиноцитов, что способствует регенерации грануляционной ткани и улучшает качество заживления ран.

С целью создания гидрогеля, который можно биомимизировать под клеточную среду для различных типов тканей Цугер с коллегами использовали сочетание желатина и метилцеллюлозы [31]. Авторы отмечают возможность регулирования жесткости матрикса за счет изменения концентрации сшивающего агента – трансглутаминазы. Матрица показала высокую внутреннюю цитосовместимость, а ткани, созданные путем биопечати фибробластов, продемонстрировали удовлетворительную жизнеспособность.

Точный биоэквивалент кожи человека, перфузируемого кровеносными сосудами, получен с помощью 3D-биопечати на биочернилах описанного далее состава [32]. Для дермы использовали децеллюляризованный внеклеточный матрикс (1,5%), фибриноген, хлорид натрия, апротинин, для сосудов – желатин, глицерин, тромбин, и, наконец, для подкожной клетчатки децеллюляризованный внеклеточный матрикс (2%), фибриноген, хлорид натрия, апротинин. Также децел-

люляризованный внеклеточный матрикс в качестве основы для биочернил предложен Воном и соавторами [33]. Жизнеспособность клеток при использовании этого материала составляет 90%.

В качестве биочернил предлагается также использование рекомбинантного коллагена человека [34]. Фибробласты дермы человека инкапсулированы в желатиновые метакрилоил-rhCol3 композитные биочернила и напечатаны на трансвелл-платформе. К гелю метакроилового желатина добавлялся рекомбинантный коллаген человека III типа. Так, сформирован слой дермы, на который были помещены эпидермальные кератиноциты человека для культивирования. Жизнеспособность клеток достигает 90 %, при этом модификация гидрогеля метакрилоилом приводит к снижению его жёсткости и улучшению печатаемых характеристик.

Исследования показывают, что пригодным для регенерации ран является морской коллаген, извлеченный из кожи рыбы-баса *Pangasius bocourti* [35]. Для изготовления эквивалента кожи были приготовлены биочернила путем растворения порошка морского коллагена в среде для культивирования RPMI, после этого к раствору добавляли 8 %-ый стерильный альгинат. Агентом сшивания являлся CaCl₂. Жизнеспособность тканевых структур ТИК после печати была принята за 100% и составила 139 % и 164 % на 7-й и 14-й день культивирования соответственно.

Сравнивали также биочернила полученные из рыбы голубого гренадера *Macruronus novaezealandiae*, с более распространённым коллагеном типа I, полученным из свинины [36]. Рыбий и свиной коллаген метакриллировали, растворяли в уксусной кислоте и перед печатью нейтрализовали раствором гидроксида натрия, затем полибутиленсукцинат и фотоинициатор литий фенил-2,4,6-триметилбензоилфосфинат. Инкапсулированные фибробlastы сшивали воздействием УФ-света при длине волны 400 нм. Высокая жизнеспособность фибробластов наблюдалась при использовании обоих видов биочернил.

Разработаны гидрогели на основе желатинового метакрилоила с добавлением полисахарида ульванового типа, выделенный из культивируемого австралийской макроводоросли *Ulva sp.*, содержащего сульфаты, рамнозу, напоминающий гликозаминогликаны млекопитающих [37]. Фибробласты человека, инкапсулированные в матрицу, продемонстрировали высокую жизнеспособность клеток, пролиферацию. Был отмечен синтез клетками компонентов внеклеточного матрикса: коллаген I типа, коллаген III типа, эластин и фибронектин.

Эффективны в качестве биочернил также концентрированные растворы нативного коллагена

Viscoll [38]. Матрица состава Viscoll (коллаген I типа), нейтрализованный в уксусной кислоте формировалась каркасы, подходящие для пространственного расположения тканевых сфероидов в виде жёстких структур, а тканеинженерный конструкт показал достаточную упругость и жизнеспособность клеток.

Значительный потенциал в регенерации кожи и последующем заживлении ран имел гидрогель COL@d-ECM/M2-Exo, обладающий совместимостью с тканями *in vivo* [39]. Были разработаны гидрогели для ускорения поляризации макрофагов класса M2. Гидрогели состояли из модифицированного полидофамином альгината и желатиновых для усиления секреции M2-экзосом. Экзосомы затем помещали в биочернила из коллагена I типа и децеллюляризованного внеклеточного матрикса, полученного из куриной кожи, для экструзионной биопечти фибробластов, кератиноцитов, стволовых клеток и клеток эндотелия. Жизнеспособными оставались все клетки в течение 7 дней после культивирования. Предположительно, добавление экзосом значительно повышает жизнеспособность ТИК.

Предложены биочернила на основе комбинирования коллагена и тирамин-модифицированной гиалуроновой кислоты [40]. Наблюдалось успешное формирование коллагеновых волокон в биочернилах. Метаболическая активность была слегка снижена в первый день, но полностью восстановилась в течение первых трёх дней после помещения клеток в биочернила.

Альгинат – натуральный полисахарид, получаемый из морских водорослей. Биосовместимость с клетками и нетоксичность делает его пригодным для создания подложки при 3D-биопечати. Альгинат обладает способностью гелеобразования при контакте с ионами кальция, что позволяет создавать стабильные структуры при печати. Это необходимо для придания формы и объема ТИК. Кроме того, альгинат хорошо удерживает воду, что поддерживает жизнеспособность клеток и биологических компонентов в биочернилах, используемых в биопринтинге [41].

Был создан биосовместимый гидрогель для раневых повязок на основе желатина, альгината, дофамина и четвертичного хитозана [42]. Повязка обладает хорошей прочностью на разрыв, значительным коэффициентом набухания. Описана антибактериальная активность повязки в отношении *S. aureus* и *E. coli*. Авторами отмечается высокая жизнеспособность клеток, относительное количество выживших клеток фибробластов, которые были инкапсулированы в гель, превысило 350 % в течение 7 дней после культивирования. Дофамин обладает антиоксидантными свойства-

ми и препятствует появлению активных форм кислорода, а также воспалительному процессу.

Ким с соавторами предлагает биочернила, полученные путем конъюгации тираминовой аминогруппы с карбоксильной группой альгината и сшивания пероксидазой хрена и пероксида водорода [43]. Жизнеспособность фибробластов в гидрогеле составляет $68,18 \pm 3,73\%$, однако добавление в смесь коллагена увеличивает ее до $92,13 \pm 0,70\%$.

Проводились исследования различных концентраций альгината (2 %, 5 % и 10 %) в биочернилах Ши и соавторами [44]. Матрицы имели разную жесткость, вязкость и эластичность, а клетки обладали высокой жизнеспособностью.

Фибробlastы человека были успешно инкапсулированы в биочернила с альгинатом натрия и нанокристаллами карбоксицеллюлозы и ксантовой камеди [45]. Матрица обладала текучестью и способностью к разжижению при сдвиге, что улучшает печатаемость. Отмечены также динамические свойства гидрогелевых чернил при сжатии. Кроме того, была отмечена хорошая жизнеспособность фибробластов.

Соотношение полимерных компонентов для фибробластов в среде желатина, целлюлозы и альгината изучалось также Эркоком с коллегами [46]. В качестве агентов сшивания использовались глутаральдегид или CaCl_2 .

С целью непрерывного увлажнения ожоговых ран были разработаны гидрогелевые по-

взки, напечатанные с помощью экструзионной 3D-биопечати [47]. В качестве матрицы использовали желатин и альгинат натрия в соотношении 5:3, биоактивное боратное стекло. Боратное стекло стимулирует клеточную активность, ускоряет заживление ран, и ремоделирует внеклеточный матрикс, подавляя воспалительный процесс благодаря уменьшению активных форм кислорода. In vivo при заживлении ран была исследована на крысах с ожогами второй степени. Исследование тканеинженерного конструкта *in vitro* показало, что добавление боратного стекла увеличивало прочность на разрыв, повышалась также жизнеспособность фибробластов человека, а также поддерживалась оптимальная влажность раны.

Наполнителем для гидрогеля из альгината и желатина также может быть наногидроксиапатит [48]. Гидроксиапатит обеспечивает достаточную прочность и упругость тканеинженерного конструкта. Стабильная жизнеспособность фибробластов подтверждает цитосовместимость матрицы в ходе культивирования *in vitro*.

Проанализированные результаты исследований позволили систематизировать составы гидрогелей, используемых для биопечати кожи, с указанием типов клеток, включаемых в матрицу, и ключевых особенностей каждого материала, что позволяет наглядно оценить их составные компоненты и функциональные возможности (Таблица).

**Таблица. Составы и свойства гидрогелей для биопечати кожи.
Table. Composition and properties of hydrogels for skin bioprinting.**

Материал	Примеры состава гидрогелей	Клетки	Особенности
Фибриноген	фибриноген + желатин + гиалуроновая кислота; фибриноген + коллаген + гиалуроновая кислота; фибриноген + катехол-гиалурон + альгинат + желатин	кератиноциты, фибробlastы, преадипоциты, дермальные клетки	эластичная структура, микроканалы, улучшенные печатаемые свойства
Коллаген	рекомбинантный коллаген III + GelMA; морской коллаген + альгинат; коллаген + тираминовая гиалуроновая кислота; альгинат + тирамин + коллаген	преимущественно фибробlastы	формирование волокон, улучшенные печатаемые свойства, Ca^{2+} - сшивание
Желатин	желатин + фибриноген + коллаген I + эластин; желатин + метилцеллюлоза + трансглутаминаза; желатин + ульван	фибробlastы	минимальная контракция, регулируемая жесткость, стимуляция ECM
Альгинат	альгинат; альгинат + карбоксицеллюлоза + ксантовая камедь; желатин + альгинат + дофамин + четвертичный хитозан	фибробlastы	удержание воды, текучесть при сдвиге, прочность, антибактериальная активность
Композитные / другие	GelMA + наноцеллюлоза	кератиноциты, дермальные клетки	поддержка грануляционной ткани

Рассмотренные материалы продемонстрировали широкий спектр свойств, необходимых для успешного создания кожных компонентов, включая биосовместимость, механическую прочность и способность к клеточной адгезии. Предположительно, оптимальная матрица для экструзионного биопринтинга должна сочетать как натуральные, так и синтетические полимеры, что обеспечивает необходимую гибкость и стабильность при печати. Подходящие добавки и модификаторы могут улучшить свойства матриц, оптимизируя текучесть и вязкость, что в свою очередь влияет на качество печати и жизнеспособность клеток.

Таким образом, дальнейшие разработки биоматериалов и технологий биопринтинга позволяют открыть новые горизонты для создания функциональных ТИК и улучшения методов регенеративной медицины.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Биопринтинг с использованием экструзионных методик и оптимально подобранных биоматериалов представляет собой перспективное направление в регенеративной медицине, открывающее возможности для создания полнослойных кожных эквивалентов, персонализированных имплантатов и высокоточных моделей кожи для фармакологических исследований. Дальнейшие исследования должны быть направлены на оптимизацию состава специальных «чернил» для 3D-биопринтинга, интеграцию клеточных компонентов и факторов роста, повышение разрешающей способности печати, а также разработку многоуровневых конструкций с ваксуляризацией. При этом ключевыми препятствиями остаются технологические ограничения, включая недостаточную точность формирования гистоархитектуры и отсутствие единых стандартов качества, а также клинические барьеры, связанные с прививаемостью трансплантатов, иммунными реакциями и необходимостью соблюдения строгих регуляторных требований.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

Финансирование. Исследование выполнено при финансовой поддержке ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского» в рамках проекта МОЛ/2024/3.

Funding. The study was carried out with the financial support of the V.I. Vernadsky Crimean Federal University within the framework of the project MOL/2024/3.

ЛИТЕРАТУРА

- Xiaorui L., Fuyin Z., Xudong W., Xuezheng G., Shudong Z., Hui L., Dandan D., Yubing L., Lizhen

W., Yubo F. Biomaterial inks for extrusion-based 3D bioprinting: Property, classification, modification, and selection. *Int J Bioprint.* 2022;9(2):649. doi:10.18063/ijb.v9i2.649.

2. Хесуани Ю. Д., Сергеева Н. С., Миронов В. А., Мустафин А. Г., Каприн А. Д. Введение в 3D-биопринтинг: история формирования направления, принципы и этапы биопечати. Гены и клетки. 2018;13(3):38-45. doi:10.23868/201811031.

3. Frejo L., Grande D. A. 3D-bioprinted tracheal reconstruction: an overview. *Bioelectron Med.* 2019;5:15. doi:10.1186/s42234-019-0031-1.

4. Целуйко С. С., Кушнарев В. А. 3D биопечать на службе дыхательной системы (обзор литературы). Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2016;61:128-134.

5. Sun L., Wang Y., Zhang S., Yang H., Mao Y. 3D bioprinted liver tissue and disease models: Current advances and future perspectives. *Biomater Adv.* 2023;152:213499. doi:10.1016/j.bioadv.2023.213499.

6. Онищенко Н. А., Гулай Ю. С., Шагидулин М. Ю., Никольская А. О., Башкина Л. В. Разработка имплантируемых клеточно- и тканеинженерных конструкций вспомогательной печени для лечения печёночной недостаточности. Гены & Клетки. 2015;1:6-17.

7. Liu Y., Peng L., Li L., Huang C., Shi K., Meng X., Wang P., Wu M., Li L., Cao H., Wu K., Zeng Q., Pan H., Lu W.W., Qin L., Ruan C., Wang X. 3D-bioprinted BMSC-laden biomimetic multiphasic scaffolds for efficient repair of osteochondral defects in an osteoarthritic rat model. *Biomaterials.* 2021;279:121216. doi:10.1016/j.biomaterials.2021.121216.

8. Yong U., Kang B., Jang J. 3D bioprinted and integrated platforms for cardiac tissue modeling and drug testing. *Essays Biochem.* 2021;65(3):545-554. doi: 10.1042/EBC20200106.

9. Huang G., Zhao Y., Chen D., Wei L., Hu Z., Li J., Zhou X., Yang B., Chen Z. Applications, advancements, and challenges of 3D bioprinting in organ transplantation. *Biomater Sci.* 2024;12(6):1425-1448. doi: 10.1039/d3bm01934a.

10. Luo Y., Xu X., Ye Z., Xu Q., Li J., Liu N., Du Y. 3D bioprinted mesenchymal stromal cells in skin wound repair. *Front Surg.* 2022;9:988843. doi: 10.3389/fsurg.2022.988843.

11. Mironov V., Boland T., Trusk T., Forgacs G., Markwald R. R. Organ printing: Computer-aided jet-based 3D tissue engineering. *Trends Biotechnol.* 2003;21(4):157-161. doi:10.1016/S0167-7799(03)00033-7.

12. Fay C. D. Computer-Aided Design and Manufacturing (CAD/CAM) for Bioprinting. *Methods Mol Biol.* 2020;2140:27-41. doi:10.1007/978-1-0716-0520-2_3.

13. Zhang J., Wehrle E., Rubert M., Müller R. 3D Bioprinting of Human Tissues: Biofabrication, Bioinks, and Bioreactors. *Int J Mol Sci.* 2021;22(8):3971. doi:10.3390/ijms22083971.
14. Mandrycky C., Wang Z., Kim K., Kim D. H. 3D bioprinting for engineering complex tissues. *Biotechnol Adv.* 2016;34(4):422-434. doi:10.1016/j.biotechadv.2015.12.011.
15. Derakhshanfar S., Mbeleck R., Xu K. G., Zhang X. Y., Zhong W., Xing M. 3D bioprinting for biomedical devices and tissue engineering: A review of recent trends and advances. *Bioact. Mater.* 2018;3:144-156. doi: 10.1016/j.bioactmat.2017.11.008.
16. You F., Eames B. F., Chen X. Application of Extrusion-Based Hydrogel Bioprinting for Cartilage Tissue Engineering. *Int J Mol Sci.* 2017;18(7):1597. doi:10.3390/ijms18071597.
17. Perez-Valle A., Del Amo C., Andia I. Overview of Current Advances in Extrusion Bioprinting for Skin Applications. *Int J Mol Sci.* 2020;21(18):6679. doi:10.3390/ijms21186679.
18. Rossi A., Pescara T., Gambelli A. M., Gaggia F., Asthana A., Perrier Q., Basta G., Moretti M., Senin N., Rossi F., Orlando G., Calafiore R. Biomaterials for extrusion-based bioprinting and biomedical applications. *Front Bioeng Biotechnol.* 2024;12:1393641. doi:10.3389/fbioe.2024.1393641.
19. Arslan-Yildiz A., El Assal R., Chen P., Guven S., Inci F., Demirci U.. Towards artificial tissue models: past, present, and future of 3D bioprinting. *Biofabrication.* 2016;8(1):014103. doi: 10.1088/1758-5090/8/1/014103.
20. Murphy S. V., Atala A. 3D bioprinting of tissues and organs. *Nat Biotechnol.* 2014;32(8):773-85. doi:10.1038/nbt.2958.
21. Jorgensen A. M., Varkey M., Gorkun A., Clouse C., Xu L., Chou Z., Murphy S. V., Molnar J., Lee S. J., Yoo J. J., Soker S., Atala A. Bioprinted Skin Recapitulates Normal Collagen Remodeling in Full-Thickness Wounds. *Tissue Eng Part A.* 2020;26(9-10):512-526. doi:10.1089/ten.TEA.2019.0319.
22. Liu X., Michael S., Bharti K., Ferrer M., Song M.J. A biofabricated vascularized skin model of atopic dermatitis for preclinical studies. *Biofabrication.* 2020;12(3):035002. doi: 10.1088/1758-5090/ab76a1.
23. Derr K., Zou J., Luo K., Song M. J., Sittampalam G. S., Zhou C., Michael S., Ferrer M., Derr P. Fully Three-Dimensional Bioprinted Skin Equivalent Constructs with Validated Morphology and Barrier Function. *Tissue Eng Part C Methods.* 2019;25(6):334-343. doi:10.1089/ten.TEC.2018.0318.
24. Hakimi N., Cheng R., Leng L., Sotoudehfar M., Ba P. Q., Bakhtyar N., Amini-Nik S., Jeschke M. G., Günther A. Handheld skin printer: in situ formation of planar biomaterials and tissues. *Lab Chip.* 2018;18(10):1440-1451. doi:10.1039/c7lc01236e.
25. Cavallo A., Al Kayal T., Mero A., Mezzetta A., Guazzelli L., Soldani G., Losi P. Fibrinogen-Based Bioink for Application in Skin Equivalent 3D Bioprinting. *J Funct Biomater.* 2023;14(9):459. doi:10.3390/jfb14090459.
26. Jorgensen A. M., Chou Z., Gillispie G., Lee S. J., Yoo J. J., Soker S., Atala A. Decellularized Skin Extracellular Matrix (dsECM) Improves the Physical and Biological Properties of Fibrinogen Hydrogel for Skin Bioprinting Applications. *Nanomaterials (Basel).* 2020;10(8):1484. doi:10.3390/nano10081484.
27. Zhou Y., Fan Y., Chen Z., Yue Z., Wallace G. Catechol functionalized ink system and thrombin-free fibrin gel for fabricating cellular constructs with mechanical support and inner micro channels. *Biofabrication.* 2021;14(1). doi:10.1088/1758-5090/ac2ef8.
28. Chen Z., Khuu N., Xu F., Kheiri S., Yakavets I., Rakhshani F., Morozova S., Kumacheva E. Printing Structurally Anisotropic Biocompatible Fibrillar Hydrogel for Guided Cell Alignment. *Gels.* 2022;8(11):685. doi: 10.3390/gels8110685.
29. Maciel B. R., Grimm A., Oelschlaeger C., Schepers U., Willenbacher N. Targeted micro-heterogeneity in bioinks allows for 3D printing of complex constructs with improved resolution and cell viability. *Biofabrication.* 2023;15(4). doi:10.1088/1758-5090/acee22.
30. Li M., Sun L., Liu Z., Shen Z., Cao Y., Han L., Sang S., Wang J. 3D bioprinting of heterogeneous tissue-engineered skin containing human dermal fibroblasts and keratinocytes. *Biomater Sci.* 2023;11(7):2461-2477. doi: 10.1039/d2bm02092k.
31. Züger F., Berner N., Gullo M. R. Towards a Novel Cost-Effective and Versatile Bioink for 3D-Bioprinting in Tissue Engineering. *Biomimetics (Basel).* 2023;8(1):27. doi:10.3390/biomimetics8010027.
32. Kim B. S., Gao G., Kim J. Y., Cho D. W. 3D Cell Printing of Perfusible Vascularized Human Skin Equivalent Composed of Epidermis, Dermis, and Hypodermis for Better Structural Recapitulation of Native Skin. *Adv Healthc Mater.* 2019;8(7):e1801019. doi:10.1002/adhm.201801019.
33. Won J. Y., Lee M. H., Kim M. J., Min K. H., Ahn G., Han J. S., Jin S., Yun W. S., Shim J. H. A potential dermal substitute using decellularized dermis extracellular matrix derived bio-ink. *Artif Cells Nanomed Biotechnol.* 2019;47(1):644-649. doi:10.1080/21691401.2019.1575842.
34. Yang Y., Xu R., Wang C., Guo Y., Sun W., Ouyang L. Recombinant Human Collagen-Based Bioinks for the 3D Bioprinting of Full-

- thickness Human Skin Equivalent. *Int J Bioprint.* 2022;8(4):611. doi:10.18063/ijb.v8i4.611.
35. Cavallo A., Al Kayal T., Mero A., Mezzetta A., Pisani A., Foffa I., Vecoli C., Buscemi M., Guazzelli L., Soldani G., Losi P. Marine Collagen-Based Bioink for 3D Bioprinting of a Bilayered Skin Model. *Pharmaceutics.* 2023;15(5):1331. doi:10.3390/pharmaceutics15051331.
36. Maher M., Glattauer V., Onofrillo C., Duchi S., Yue Z., Hughes T.C., Ramshaw J.A.M., Wallace G.G. Suitability of Marine- and Porcine-Derived Collagen Type I Hydrogels for Bioprinting and Tissue Engineering Scaffolds. *Mar Drugs.* 2022;20(6):366. doi:10.3390/md20060366.
37. Chen X., Yue Z., Winberg P. C., Lou Y. R., Beirne S., Wallace G. G. 3D bioprinting dermal-like structures using species-specific ulvan. *Biomater Sci.* 2021;9(7):2424-2438. doi: 10.1039/d0bm01784a.
38. Osidak E. O., Karalkin P.A., Osidak M.S., Parfenov V.A., Sivogrivov D. E., Pereira F. D. A. S., Gryadunova A. A., Koudan E. V., Khesuani Yu. D., Kasyanov V. A., Belousov S.I., Krasheninnikov S. V., Grigoriev T.E., Chvalun S.N., Bulanova E.A., Mironov V. A., Domogatsky S. P. Viscoll collagen solution as a novel bioink for direct 3D bioprinting. *J Mater Sci Mater Med.* 2019;30(3):31. doi:10.1007/s10856-019-6233-y.
39. Dutta S. D., An J.M., Hexiu J., Randhawa A., Ganguly K., Patil T. V., Thambi T., Kim J., Lee Y. K., Lim K. T. 3D bioprinting of engineered exosomes secreted from M2-polarized macrophages through immunomodulatory biomaterial promotes in vivo wound healing and angiogenesis. *Bioact Mater.* 2024;45:345-362. doi:10.1016/j.bioactmat.2024.11.026.
40. Kim S. D., Jin S., Kim S., Son D., Shin M. Tyramine-Functionalized Alginate-Collagen Hybrid Hydrogel Inks for 3D-Bioprinting. *Polymers (Basel).* 2022;14(15):3173. doi:10.3390/polym14153173.
41. Mancha Sánchez E., Gómez-Blanco J. C., López Nieto E., Casado J. G., Macías-García A., Díaz Díez M. A., Carrasco-Amador J. P., Torrejón Martín D., Sánchez-Margallo F. M., Pagador J. B. Hydrogels for Bioprinting: A Systematic Review of Hydrogels Synthesis, Bioprinting Parameters, and Bioprinted Structures Behavior. *Front Bioeng Biotechnol.* 2020;8:776. doi:10.3389/fbioe.2020.00776.
42. Yueqi L., Jie X., Ya S., Huan F., Jiaqi L., Siyao L., Yuen Yee C., Yi N., Wenfang L., Bo P., Kedong S. A biocompatible double-crosslinked gelatin/ sodium alginate/dopamine/quaternized chitosan hydrogel for wound dressings based on 3D bioprinting technology. *Int J Bioprint.* 2023;9(2):689. doi:10.18063/ijb.v9i1.689.
43. Kim S. D., Jin S., Kim S., Son D., Shin M. Tyramine-Functionalized Alginate-Collagen Hybrid Hydrogel Inks for 3D-Bioprinting. *Polymers (Basel).* 2022;14(15):3173. doi:10.3390/polym14153173.
44. Shi P., Laude A., Yeong W.Y. Investigation of cell viability and morphology in 3D bio-printed alginate constructs with tunable stiffness. *J Biomed Mater Res A.* 2017;105(4):1009-1018. doi:10.1002/jbm.a.35971.
45. Kumar A., I Matari I.A., Han S.S. 3D printable carboxylated cellulose nanocrystal-reinforced hydrogel inks for tissue engineering. *Biofabrication.* 2020;12(2):025029. doi:10.1088/1758-5090/ab736e.
46. Erkoc P., Uvak I., Nazeer M. A., Batool S. R., Odeh Y. N., Akdogan O., Kizilel S. 3D Printing of Cytocompatible Gelatin-Cellulose-Alginate Blend Hydrogels. *Macromol Biosci.* 2020;20(10):e2000106. doi:10.1002/mabi.202000106.
47. Fayyazbakhsh F., Khayat M. J., Sadler C., Day D., Huang Y. W., Leu M. C. 3D-printed hydrogels dressings with bioactive borate glass for continuous hydration and treatment of second-degree burns. *Int J Bioprint.* 2023;9(6):0118. doi:10.36922/ijb.0118.
48. Roy Chowdhury S., Dey K., Basu B. 3D Extrusion-Printed Alginate-Gelatin Hydrogel Modified with Nanoscale Hydroxyapatite: A Comprehensive Understanding of Process Science and Evaluation of the Antimicrobial Property. *ACS Omega.* 2025;10(18):18428-18443. doi: 10.1021/acsomega.4c10743.

REFERENCES

- Xiaorui L., Fuyin Z., Xudong W., Xuezheng G., Shudong Z., Hui L., Dandan D., Yubing L., Lizhen W., Yubo F. Biomaterial inks for extrusion-based 3D bioprinting: Property, classification, modification, and selection. *Int J Bioprint.* 2022;9(2):649. doi:10.18063/ijb.v9i2.649.
- Khesuani Yu. D., Sergeeva N. S., Mironov V. A., Mustafin A. G., Kaprin A. D. Introduction to 3D-bioprinting: the history, principles and stages. *Genes & Cells.* 2018; 13(3):38-45. (In Russ.). doi:10.23868/201811031.
- Frejo L., Grande D. A. 3D-bioprinted tracheal reconstruction: an overview. *Bioelectron Med.* 2019;5:15. doi:10.1186/s42234-019-0031-1.
- Tseluyko S. S., Kushnarev V. A. 3D bioprinting in the service of the respiratory system (review). *Bulletin Physiology and Pathology of Respiration.* 2016;61:128-134. (In Russ.).
- Sun L., Wang Y., Zhang S., Yang H., Mao Y. 3D bioprinted liver tissue and disease models: Current advances and future perspectives. *Biomater Adv.* 2023;152:213499. doi:10.1016/j.biadv.2023.213499.
- Onishchenko N. A., Gulay Y. S., Shagidulin M. Y., Nikolskaya A. O., Bashkina L. V. Development

- of implantable cell-tissue-engineering designs of auxiliary liver for the treatment of liver failure. *Genes & Cells.* 2015;1:6-17. (In Russ.).
7. Liu Y., Peng L., Li L., Huang C., Shi K., Meng X., Wang P., Wu M., Li L., Cao H., Wu K., Zeng Q., Pan H., Lu W.W., Qin L., Ruan C., Wang X. 3D-bioprinted BMSC-laden biomimetic multiphasic scaffolds for efficient repair of osteochondral defects in an osteoarthritic rat model. *Biomaterials.* 2021;279: 121216. doi:10.1016/j.biomaterials.2021.121216.
 8. Yong U., Kang B., Jang J. 3D bioprinted and integrated platforms for cardiac tissue modeling and drug testing. *Essays Biochem.* 2021;65(3):545-554. doi: 10.1042/EBC20200106.
 9. Huang G., Zhao Y., Chen D., Wei L., Hu Z., Li J., Zhou X., Yang B., Chen Z. Applications, advancements, and challenges of 3D bioprinting in organ transplantation. *Biomater Sci.* 2024;12(6):1425-1448. doi: 10.1039/d3bm01934a.
 10. Luo Y., Xu X., Ye Z., Xu Q., Li J., Liu N., Du Y. 3D bioprinted mesenchymal stromal cells in skin wound repair. *Front Surg.* 2022;9:988843. doi: 10.3389/fsurg.2022.988843.
 11. Mironov V., Boland T., Trusk T., Forgacs G., Markwald R. R. Organ printing: Computer-aided jet-based 3D tissue engineering. *Trends Biotechnol.* 2003;21(4):157-161. doi: 10.1016/S0167-7799(03)00033-7.
 12. Fay C. D. Computer-Aided Design and Manufacturing (CAD/CAM) for Bioprinting. *Methods Mol Biol.* 2020;2140:27-41. doi:10.1007/978-1-0716-0520-2_3.
 13. Zhang J., Wehrle E., Rubert M., Müller R. 3D Bioprinting of Human Tissues: Biofabrication, Bioinks, and Bioreactors. *Int J Mol Sci.* 2021;22(8):3971. doi:10.3390/ijms22083971.
 14. Mandrycky C., Wang Z., Kim K., Kim D. H. 3D bioprinting for engineering complex tissues. *Biotechnol Adv.* 2016;34(4):422-434. doi:10.1016/j.biotechadv.2015.12.011.
 15. Derakhshanfar S., Mbeleck R., Xu K. G., Zhang X. Y., Zhong W., Xing M. 3D bioprinting for biomedical devices and tissue engineering: A review of recent trends and advances. *Bioact. Mater.* 2018;3:144-156. doi: 10.1016/j.bioactmat.2017.11.008.
 16. You F., Eames B. F., Chen X. Application of Extrusion-Based Hydrogel Bioprinting for Cartilage Tissue Engineering. *Int J Mol Sci.* 2017;18(7):1597. doi:10.3390/ijms18071597.
 17. Perez-Valle A., Del Amo C., Andia I. Overview of Current Advances in Extrusion Bioprinting for Skin Applications. *Int J Mol Sci.* 2020;21(18):6679. doi:10.3390/ijms21186679.
 18. Rossi A., Pescara T., Gambelli A. M., Gaggia F., Asthana A., Perrier Q., Basta G., Moretti M., Senin N., Rossi F., Orlando G., Calafiore R. Biomaterials for extrusion-based bioprinting and biomedical applications. *Front Bioeng Biotechnol.* 2024;12:1393641. doi:10.3389/fbioe.2024.1393641.
 19. Arslan-Yildiz A., El Assal R., Chen P., Guven S., Inci F., Demirci U.. Towards artificial tissue models: past, present, and future of 3D bioprinting. *Biofabrication.* 2016;8(1):014103. doi: 10.1088/1758-5090/8/1/014103.
 20. Murphy S. V., Atala A. 3D bioprinting of tissues and organs. *Nat Biotechnol.* 2014;32(8):773-85. doi:10.1038/nbt.2958.
 21. Jorgensen A. M., Varkey M., Gorkun A., Clouse C., Xu L., Chou Z., Murphy S. V., Molnar J., Lee S. J., Yoo J. J., Soker S., Atala A. Bioprinted Skin Recapitulates Normal Collagen Remodeling in Full-Thickness Wounds. *Tissue Eng Part A.* 2020;26(9-10):512-526. doi:10.1089/ten.TEA.2019.0319.
 22. Liu X., Michael S., Bharti K., Ferrer M., Song M.J. A biofabricated vascularized skin model of atopic dermatitis for preclinical studies. *Biofabrication.* 2020;12(3):035002. doi: 10.1088/1758-5090/ab76a1.
 23. Derr K., Zou J., Luo K., Song M. J., Sittampalam G. S., Zhou C., Michael S., Ferrer M., Derr P. Fully Three-Dimensional Bioprinted Skin Equivalent Constructs with Validated Morphology and Barrier Function. *Tissue Eng Part C Methods.* 2019;25(6):334-343. doi:10.1089/ten.TEC.2018.0318.
 24. Hakimi N., Cheng R., Leng L., Sotoudehfar M., Ba P. Q., Bakhtyar N., Amini-Nik S., Jeschke M. G., Günther A. Handheld skin printer: in situ formation of planar biomaterials and tissues. *Lab Chip.* 2018;18(10):1440-1451. doi:10.1039/c7lc01236e.
 25. Cavallo A., Al Kayal T., Mero A., Mezzetta A., Guazzelli L., Soldani G., Losi P. Fibrinogen-Based Bioink for Application in Skin Equivalent 3D Bioprinting. *J Funct Biomater.* 2023;14(9):459. doi:10.3390/jfb14090459.
 26. Jorgensen A. M., Chou Z., Gillispie G., Lee S. J., Yoo J. J., Soker S., Atala A. Decellularized Skin Extracellular Matrix (dsECM) Improves the Physical and Biological Properties of Fibrinogen Hydrogel for Skin Bioprinting Applications. *Nanomaterials (Basel).* 2020;10(8):1484. doi:10.3390/nano10081484.
 27. Zhou Y., Fan Y., Chen Z., Yue Z., Wallace G. Catechol functionalized ink system and thrombin-free fibrin gel for fabricating cellular constructs with mechanical support and inner micro channels. *Biofabrication.* 2021;14(1). doi:10.1088/1758-5090/ac2ef8.
 28. Chen Z., Khuu N., Xu F., Kheiri S., Yakavets I., Rakhshani F., Morozova S., Kumacheva E. Printing Structurally Anisotropic Biocompatible

- Fibrillar Hydrogel for Guided Cell Alignment. *Gels.* 2022;8(11):685. doi: 10.3390/gels8110685.
29. Maciel B. R., Grimm A., Oelschlaeger C., Schepers U., Willenbacher N. Targeted micro-heterogeneity in bioinks allows for 3D printing of complex constructs with improved resolution and cell viability. *Biofabrication.* 2023;15(4). doi:10.1088/1758-5090/acee22.
30. Li M., Sun L., Liu Z., Shen Z., Cao Y., Han L., Sang S., Wang J. 3D bioprinting of heterogeneous tissue-engineered skin containing human dermal fibroblasts and keratinocytes. *Biomater Sci.* 2023;11(7):2461-2477. doi: 10.1039/d2bm02092k.
31. Züger F., Berner N., Gullo M. R. Towards a Novel Cost-Effective and Versatile Bioink for 3D-Bioprinting in Tissue Engineering. *Biomimetics (Basel).* 2023;8(1):27. doi:10.3390/biomimetics8010027.
32. Kim B. S., Gao G., Kim J. Y., Cho D. W. 3D Cell Printing of Perfusionable Vascularized Human Skin Equivalent Composed of Epidermis, Dermis, and Hypodermis for Better Structural Recapitulation of Native Skin. *Adv Healthc Mater.* 2019;8(7):e1801019. doi:10.1002/adhm.201801019.
33. Won J. Y., Lee M. H., Kim M. J., Min K. H., Ahn G., Han J. S., Jin S., Yun W. S., Shim J. H. A potential dermal substitute using decellularized dermis extracellular matrix derived bio-ink. *Artif Cells Nanomed Biotechnol.* 2019;47(1):644-649. doi:10.1080/21691401.2019.1575842.
34. Yang Y., Xu R., Wang C., Guo Y., Sun W., Ouyang L. Recombinant Human Collagen-Based Bioinks for the 3D Bioprinting of Full-thickness Human Skin Equivalent. *Int J Bioprint.* 2022;8(4):611. doi:10.18063/ijb.v8i4.611.
35. Cavallo A., Al Kayal T., Mero A., Mezzetta A., Pisani A., Foffa I., Vecoli C., Buscemi M., Guazzelli L., Soldani G., Losi P. Marine Collagen-Based Bioink for 3D Bioprinting of a Bilayered Skin Model. *Pharmaceutics.* 2023;15(5):1331. doi:10.3390/pharmaceutics15051331.
36. Maher M., Glattauer V., Onofrillo C., Duchi S., Yue Z., Hughes T.C., Ramshaw J.A.M., Wallace G.G. Suitability of Marine- and Porcine-Derived Collagen Type I Hydrogels for Bioprinting and Tissue Engineering Scaffolds. *Mar Drugs.* 2022;20(6):366. doi:10.3390/md20060366.
37. Chen X., Yue Z., Winberg P. C., Lou Y. R., Beirne S., Wallace G. G. 3D bioprinting dermal-like structures using species-specific ulvan. *Biomater Sci.* 2021;9(7):2424-2438. doi: 10.1039/d0bm01784a.
38. Osidak E. O., Karalkin P.A., Osidak M.S., Parfenov V.A., Sivogrivov D. E., Pereira F. D. A. S., Gryadunova A. A., Koudan E. V., Khesuani Y. D., Kasyanov V. A., Belousov S.I., Krasheninnikov S. V., Grigoriev T.E., Chvalun S.N., Bulanova E.A., Mironov V. A., Domogatsky S. P. Viscoll collagen solution as a novel bioink for direct 3D bioprinting. *J Mater Sci Mater Med.* 2019;30(3):31. doi:10.1007/s10856-019-6233-y.
39. Dutta S. D., An J.M., Hexiu J., Randhawa A., Ganguly K., Patil T. V., Thambi T., Kim J., Lee Y. K., Lim K. T. 3D bioprinting of engineered exosomes secreted from M2-polarized macrophages through immunomodulatory biomaterial promotes in vivo wound healing and angiogenesis. *Bioact Mater.* 2024;45:345-362. doi:10.1016/j.bioactmat.2024.11.026.
40. Kim S. D., Jin S., Kim S., Son D., Shin M. Tyramine-Functionalized Alginate-Collagen Hybrid Hydrogel Inks for 3D-Bioprinting. *Polymers (Basel).* 2022;14(15):3173. doi:10.3390/polym14153173.
41. Mancha Sánchez E., Gómez-Blanco J. C., López Nieto E., Casado J. G., Macías-García A., Díaz Díez M. A., Carrasco-Amador J. P., Torrejón Martín D., Sánchez-Margallo F. M., Pagador J. B. Hydrogels for Bioprinting: A Systematic Review of Hydrogels Synthesis, Bioprinting Parameters, and Bioprinted Structures Behavior. *Front Bioeng Biotechnol.* 2020;8:776. doi:10.3389/fbioe.2020.00776.
42. Yueqi L., Jie X., Ya S., Huan F., Jiaqi L., Siyao L., Yuen Yee C., Yi N., Wenfang L., Bo P., Kedong S. A biocompatible double-crosslinked gelatin/ sodium alginate/dopamine/quaternized chitosan hydrogel for wound dressings based on 3D bioprinting technology. *Int J Bioprint.* 2023;9(2):689. doi:10.18063/ijb.v9i1.689.
43. Kim S. D., Jin S., Kim S., Son D., Shin M. Tyramine-Functionalized Alginate-Collagen Hybrid Hydrogel Inks for 3D-Bioprinting. *Polymers (Basel).* 2022;14(15):3173. doi:10.3390/polym14153173.
44. Shi P., Laude A., Yeong W.Y. Investigation of cell viability and morphology in 3D bio-printed alginate constructs with tunable stiffness. *J Biomed Mater Res A.* 2017;105(4):1009-1018. doi:10.1002/jbm.a.35971.
45. Kumar A., I Matari I.A., Han S.S. 3D printable carboxylated cellulose nanocrystal-reinforced hydrogel inks for tissue engineering. *Biofabrication.* 2020;12(2):025029. doi:10.1088/1758-5090/ab736e.
46. Erkoc P., Uvak I., Nazeer M. A., Batool S. R., Odeh Y. N., Akdogan O., Kizilel S. 3D Printing of Cytocompatible Gelatin-Cellulose-Alginate Blend Hydrogels. *Macromol Biosci.* 2020;20(10):e2000106. doi:10.1002/mabi.202000106.
47. Fayyazbakhsh F., Khayat M. J., Sadler C., Day D., Huang Y. W., Leu M. C. 3D-printed hydrogels dressings with bioactive borate glass for continuous hydration and treatment of second-degree burns. *Int J Bioprint.* 2023;9(6):0118. doi:10.36922/ijb.0118.
48. Roy Chowdhury S., Dey K., Basu B. 3D Extrusion-Printed Alginate-Gelatin Hydrogel Modified with Nanoscale Hydroxyapatite: A

Comprehensive Understanding of Process Science and Evaluation of the Antimicrobial Property. ACS Omega. 2025;10(18):18428-18443. doi:10.1021/acsomega.4c10743.

РОЛЬ ЭКЗОСОМ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК В РЕГЕНЕРАЦИИ ТКАНЕЙ

Громенко Д. А., Имаева А. К., Данилко К. В., Тимербулатов В. М., Маркелов В. А.

Лаборатория клеточных культур, Институт фундаментальной медицины, Башкирский государственный медицинский университет, 450008, ул. Заки-Валиди, 45/1, Уфа, Россия.

Для корреспонденции: Громенко Денис Альбертович, Лаборатория клеточных культур, Институт фундаментальной медицины, Башкирский государственный медицинский университет, e-mail: denisgromenko@internet.ru

For correspondence: Gromenko Denis Albertovich, Laboratory of Cell Cultures, Institute of Fundamental Medicine, Bashkir State Medical University, e-mail: denisgromenko@internet.ru

Information about authors:

Gromenko D. A., <https://orcid.org/0009-0009-8918-8233>

Imaeva A. K., <https://orcid.org/0000-0002-3421-0212>

Danilko K. V., <https://orcid.org/0000-0002-4374-2923>

Timerbulatov V. M., <https://orcid.org/0000-0003-1696-3146>

Markelov V. A., <https://orcid.org/0000-0002-0663-7219>

РЕЗЮМЕ

В последние годы экзосомы, выделенные из мезенхимальных стволовых клеток (МСК), привлекают всё большее внимание как перспективный инструмент бесклеточной терапии в регенеративной медицине. Экзосомы, которые, как правило, имеют размер 40–160 нм, участвуют в межклеточной коммуникации, переносят биологически активные молекулы (включая белки, липиды, микроRNK и цитокины) и оказывают модулирующее влияние на широкий спектр физиологических и патологических процессов. В отличие от традиционной клеточной терапии, использование экзосом характеризуется более высокой безопасностью и меньшим риском иммуноопосредованных осложнений. Экзосомы способны модулировать врождённый и адаптивный иммунитет, регулируя активность макрофагов, дендритных клеток и Т-лимфоцитов, в том числе за счёт доставки противовоспалительных микроRNK (например, miR-21, miR-146а). Современные экспериментальные и доклинические исследования подтверждают эффективность экзосом, полученных из МСК, в регенерации различных тканей, включая костную, печёночную, кожную, сердечную, сосудистую, а также сухожилий. Показано, что они стимулируют остеогенез, восстанавливают гепатоциты, ускоряют заживление ран, улучшают функцию миокарда и способствуют ангиогенезу. Установленные молекулярные механизмы действия включают активацию сигнальных путей Wnt/β-катенин, JAK/STAT6, TGF-β/GDF11, а также подавление апоптоза и фиброза. Тем не менее, гетерогенность состава экзосом в зависимости от условий культивирования клеток требует стандартизации методов их получения и применения. В совокупности, экзосомы МСК представляют собой универсальную платформу для направленного восстановления тканевого гомеостаза, обладая потенциалом к широкому клиническому применению. Использовали источники на английском, русском языках, включая публикации с 2020 по 2025 годы, доступные в базах PubMed, Research Gate, National Library of Medicine, CyberLeninka, ChemSpider, Databases & Elibrary.

Ключевые слова: экзосомы мезенхимальных стволовых клеток, регенеративная медицина, тканевая регенерация, бесклеточная терапия, заживление ран, тканевая регенерация.

THE ROLE OF EXOSOMES OF MESENCHYMAL STEM CELLS IN TISSUE REGENERATION

Gromenko D. A., Imaeva A. K., Danilko K. V., Timerbulatov V. M., Markelov V. A.

Laboratory of Cell Cultures, Institute of Fundamental Medicine, Bashkir State Medical University, Ufa, Russia

SUMMARY

In recent years, exosomes derived from mesenchymal stem cells (MSCs) have attracted increasing attention as a promising tool for cell-free therapy in regenerative medicine. Typically ranging from 40 to 160 nm in size, exosomes are involved in intercellular communication, transporting biologically active molecules – including proteins, lipids, microRNAs, and cytokines—and exert modulatory effects on a wide range of physiological and pathological processes. Unlike traditional cell-based therapies, the use of exosomes is associated with greater safety and a reduced risk of immune-related complications. Exosomes are capable of modulating both innate and adaptive immune responses by regulating the activity of macrophages, dendritic cells, and T lymphocytes, in part through the delivery of anti-inflammatory microRNAs such as miR-21 and miR-146a. Recent experimental and preclinical studies have demonstrated the efficacy of MSC-derived exosomes in the regeneration of various tissues, including bone, liver, skin, heart, and vasculature. These vesicles have been shown to promote osteogenesis, restore hepatocyte function, accelerate wound healing, improve cardiac performance, and enhance angiogenesis. The underlying molecular mechanisms involve activation of key signaling pathways such as Wnt/β-catenin, JAK/STAT6, and TGF-β/GDF11, as well as the suppression of apoptosis and fibrosis. Nevertheless, the heterogeneity of exosome composition, which depends on the culture conditions of the parental cells, highlights the need for standardized methods of isolation and application.

Taken together, MSC-derived exosomes represent a versatile platform for targeted tissue regeneration and restoration of tissue homeostasis, with significant potential for clinical translation. We used sources in English, Russian, including publications from 2020 to 2025 available in the databases PubMed, Research Gate, National Library of Medicine, CyberLeninka, ChemSpider, Databases & Elibrary.

Key words: **exosomes of mesenchymal stem cells, regenerative medicine, tissue regeneration, cell-free therapy, wound healing, tissue regeneration.**

Цель литературного обзора: проведение анализа исследований о влиянии экзосом, выделенных из мезенхимальных стволовых клеток, на процессы регенерации тканей и определить перспективы их применения в медицине.

В последние годы особое внимание уделяется использованию экзосом, полученных из мезенхимальных стволовых клеток (МСК), в регенеративной медицине [18; 19]. Эти внеклеточные везикулы могут регулировать иммунный ответ, уменьшать воспаление, стимулировать образование новых кровеносных сосудов, активировать деление и дифференциацию клеток получателей [6; 8; 20]. В отличие от клеточной терапии, которая связана с риском развития опухолей и отторжения иммунной системой, использование экзосом считается более безопасным и контролируемым методом лечения. Однако, состав экзосом может значительно меняться в зависимости от условий выращивания клеток и их состояния, что требует стандартизации методов получения и использования экзосом.

Биология экзосом и их состав

Экзосомы – это внеклеточные везикулы размером от 40 до 160 нм в диаметре, образующиеся во всех типах клеток и выделяемые во все биологические жидкости, такие как плазма крови, сыворотка, моча, грудное молоко, молозиво и другие [1; 2]. Они являются посредниками межклеточной коммуникации на близком и дальнем расстоянии в здоровом и больном организме и влияют на различные аспекты клеточной биологии, являясь ключевыми медиаторами в процессах восстановления поврежденных тканей [12]. Имея в своем составе разнообразные биологические молекулы, такие как белки, липиды и различные виды РНК, включая микроРНК и малые некодирующие РНК, частицы способны влиять на физиологические и патологические процессы в организме [Табл. 1]. Можно было бы ожидать, что экзосомы, полученные из одной и той же родительской клетки, будут содержать аналогичные белки, нуклеиновые кислоты и липиды, однако недавно было показано, что молекулярный состав экзосом может различаться, даже если экзосомы получены из одной и той же первичной клетки [1; 2].

Влияние экзосом на иммунный ответ

Экзосомы играют значительную роль в регуляции как врожденного, так и адаптивного им-

мунитета, осуществляя межклеточный транспорт биоактивных молекул и модифицируя функции клеток-реципиентов (рис. 1).

1. Модуляция врожденного иммунитета

Секретируемые макрофагами и нейтрофилами экзосомы содержат провоспалительные цитокины, такие как TNF- α и IL-1 β , а также лиганды для Toll-подобных рецепторов. Это усиливает активацию клеток врожденного звена иммунитета и способствует привлечению дополнительных иммунных клеток к очагу воспаления [2; 6].

В условиях инфекционного стресса экзосомы переносят патоген-ассоциированные молекулярные паттерны (PAMP) и фрагменты патогенов, стимулируя выработку интерферонов и других антивирусных факторов в клетках-реципиентах [2].

2. Презентация антигена и активация адаптивного ответа

На поверхности дендритных клеток экзосомы несут комплексы МНС I/II, пептидные антигены и костимулирующие молекулы (CD80/CD86), что позволяет им напрямую активировать наивные Т-лимфоциты и модулировать дифференцировку Т-клеток [2]. Опухолевые и вирус-инфицированные клетки используют экзосомы для распространения опухолевых антигенов и вирусных белков, что может стимулировать или подавлять специфический иммунный ответ в зависимости от контекста [2].

3. Регуляция иммунного гомеостаза через микроРНК

Перенос экзосомами микроРНК приводит к подавлению транскрипции провоспалительных генов в клетках-реципиентах. Например, мезенхимальные стволовые клетки (MSC) выделяют экзосомы, обогащенные miR-21 и miR-146a, которые снижают выработку TNF- α и IL-6, способствуя развитию противовоспалительного фенотипа макрофагов [2, 8, 22]. Важно отметить, что этот иммуномодулирующий потенциал экзосом МСК имеет ключевое значение для регенерации иммуно-привилегированных тканей, таких как роговица, где подавление воспаления напрямую связано с восстановлением прозрачности [13].

Авторы указывают, что через доставку микроРНК экзосомы могут индуцировать образование Т-регулирующих клеток и поддерживать иммунную толерантность в местах хронического воспаления [2; 22]. В то же время экзосомы

Таблица. Состав экзосомы.
Tabl. Composition of the exosome.

Компонент	Ключевые элементы	Примечания / Функциональная роль
Белки	Тетраспанины: CD9, CD63, CD81, CD82 ESCRT-компоненты (Endosomal Sorting Complex Required for Transport): ALIX, TSG101 Другие: HSP70, флотиллин-1, клатрин, убиквитин, белки липидных рафтов, молекулы адгезии, интегрины	-Участвуют в биогенезе (ALIX, TSG101, ESCRT), слиянии, поглощении. - CD63, CD9, ALIX, TSG101, HSP70 - маркеры идентификации. - Могут отражать специфику родительской клетки (онкогенные, мутировавшие белки).
Нуклеиновые кислоты	РНК: мРНК, микроРНК (18-25 нуклеотидов), малые некодирующие РНК (вкл. пиrimидин-интерферирующие РНК (26-31 н.о.), малые ядерные РНК (60-300 н.о.))	-Функциональная активность РНК. -Потенциальные биомаркеры заболеваний.
Липиды	Основные: сфингомиелин, холестерин, фосфатидилсерин, церамид Другие: фосфатидилхолин, фосфатидилэтаноламин, фосфатидилинозитол, цереброзиды, ганглиозиды	-Обязательные компоненты мембранны. -Обогащены по сравнению с плазматической мембраной. -Ключевая роль в биогенезе, деформации мембран, слиянии и стабилизации. - Симметричное распределение фосфатидилсерина.

ингибируют пролиферацию В-клеток и их способность продуцировать аутоантитела (такие как

ревматоидный фактор и антитела к циклическому цитруллинированному пептиду (АЦЦП) [24]).

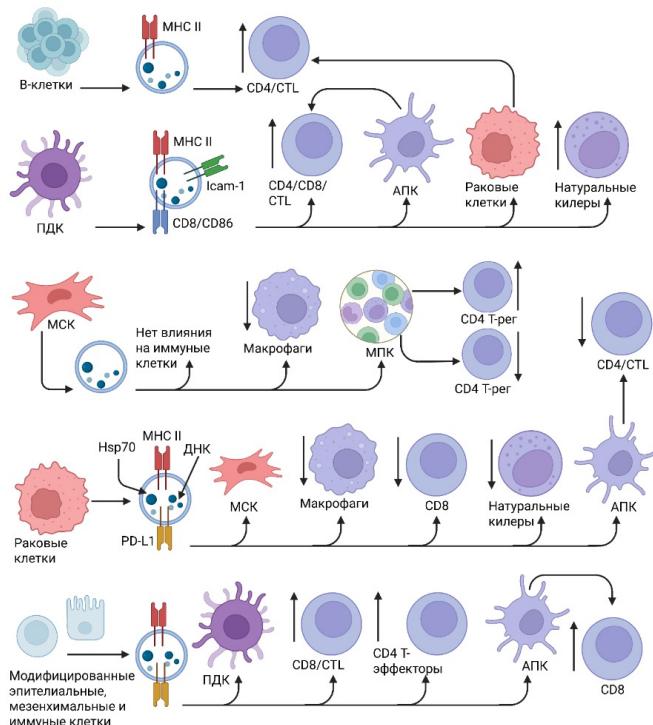


Рис. 1. Регуляция иммунного ответа с помощью экзосом. Сделано при помощи специализированного программного обеспечения для создания научных иллюстраций BioRender.

Fig.1. Regulation of the immune response using exosomes. Created using the specialized scientific illustration software BioRender.

Применение МСК-экзосом в регенерации различных тканей

1. Костная ткань

Использование экзосом МСК в регенерации костной ткани в последние годы имеет особый интерес, что обусловлено положительным эффектом лечения. Данная методика может являться альтернативой по отношению к классическим методам используемых в травматологии и ортопедии [3; 16; 21; 23].

В исследовании Brunello et al. (2022) было показано, что экзосомы из МСК пульпы молочных зубов, особенно у молодых доноров, усиливают регенеративный потенциал. Введение экзосом способствовало повышению активности щелочной фосфатазы (ALP) – раннего маркера остеогенной дифференцировки МСК, а также увеличивало экспрессию генов, включая Runx2, остеокальцин, остеопонтин, коллаген I типа [3].

Также согласно исследованию Гребень и соавторов (2023), в ходе которого было проанализировано 82 источника, было определено, что экзосомы, выделенные из МСК, положительно влияют на ремоделирование костной ткани, что, в свою очередь, обусловлено ангиогенным и противовоспалительным эффектом [21].

О положительном влиянии экзосом МСК на регенерацию костной ткани также указывает исследование Майбородина и соавторов (2019), в ходе которого выявлено, что, помимо неоангиогенеза и противовоспалительного эффекта, экзосомы способны связываться с коллагеном типа I и фибронектином, расширяя свои возможности как биоматериалов, а также способствуют размножению МСК и остеобластов, миграции клеток к месту повреждения (в т. ч. выход МСК из сосудистого русла) и формированию минерализованного матрикса [23].

2. Печень

В 2024 году Zanolla et al. было продемонстрировано, что экзосомы, выделенные из мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани собак, имеют выраженный регенеративный эффект в модели хронического гепатита у собак. По результатам исследования через 180 дней после инъекции улучшились биохимические показатели крови, а именно нормализуют желчные кислоты, альбумин и холестерин и снижает АЛТ, АСТ, ЩФ, ГГТ. На фоне лечения у животных исчезли симптомы анорексии и вялости через 30 дней. Этот эффект авторы связывают с доставкой экзосомами противовоспалительных и регенеративных микроРНК, таких как miR-199, miR-21, miR-29a [4].

3. Кожа

Ряд современных исследований подтверждает эффективность экзосом МСК в заживлении кож-

ных покровов. Так, Li et al (2023) продемонстрировали, что экзосомы, полученные из жировых МСК и комбинированные с гиалуроновой кислотой, ускоряют заживление кожных ран у свиней на 10% по сравнению с контролем [5]. Yuan et al. (2023) получили подобные данные в ходе своей работы, где оценивалось восстановление кожи под воздействием экзосом из жировой ткани человека в доклинических моделях. По результатам метаанализа выявлено, что экзосомы стимулируют ангиогенез, ускоряют эпителизацию, снижают фиброз, что может быть связано с доставкой микроРНК, например: miR-21, miR-29a, miR-146a [7]. Более глубокое изучение Chen et al. (2024) привело к выводу, что экзосомы из жировых МСК индуцируют поляризацию макрофагов в противовоспалительный M2-фенотип и усиливают секрецию IL-33, который в свою очередь активирует путь Wnt/β-катенин в кератоцитах, ускоряющий эпителизацию, ангиогенез и образование коллагена. Авторы убеждены, что IL-33 является ключевым медиатором кожной регенерации, эффект которого реализуется опосредованно через экзосомы.

Схожих результатов добились Mazini et al. (2023). Согласно их исследованию ключевым механизмом экзосом жировых МСК является регуляция путей TGF-β/GDF11, что приводит к поляризации макрофагов в M2-фенотип и давлению провоспалительных цитокинов, таких как TNF-α и IL-6. Также они выявили, что ускорение регенерации кожи опосредовано ингибированием матриксных металлопротеаз и усилением синтеза коллагена I/III [11].

4. Сердце

В результатах исследования Wang et al. (2023) был подтвержден терапевтический потенциал экзосом, выделенных из мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани крыс, в виде улучшения функции сердца при модели сердечной недостаточности, индуцированной доксорубицином. После введения экзосом у животных наблюдалось значительное увеличение фракции выброса левого желудочка (LVEF), фракционного укорочения (LVFS) и ударного объема (SV), а также снижение сывороточных уровней маркеров сердечной недостаточности – BNP и ANP. Кроме того, лечение привело к повышению уровня АТФ в миокарде, подавлению апоптоза кардиомиоцитов и уменьшению патологических изменений в сердечной ткани. Этот кардиопротекторный эффект авторы связывают со способностью экзосом модулировать экспрессию ключевых регуляторов апоптоза: подавлением проапоптотических белков (Bax, caspase-3, p53) и усилением экспрессии антиапоптотического белка Bcl-2 [9]. В противовес этим обнадеживающим доклиничес-

ским данным, клиническое исследование Traxler et al. не выявило значимого влияния интрамиокардиального введения самих ADSC на профиль плазменных sEV и их miRNA-карго у пациентов с ишемической сердечной недостаточностью, что согласуется с отсутствием улучшения функции сердца в основной группе лечения [15].

5. Сосудистая регенерация

Wang et al. (2022) показали, что экзосомы, секретируемые стволовыми клетками жировой ткани, усиливают ангиогенез при ишемии конечностей у мышей с диабетом 2 типа за счет поляризации макрофагов в противовоспалительный M2-фенотип через путь JAK/STAT6. Обработка макрофагов *in vitro* привела к увеличению экспрессии M2-маркеров (CD206, CD163), усилиению пролиферации, миграции и адгезии различных типов клеток, а также подавлению их апоптоза. Введение экзосом в ишемизированные конечности диабетических мышей *in vivo* стимулировало неоваскуляризацию (повышение плотности микрососудов CD31+) и значительное улучшение перфузии крови, что подтверждает их терапевтический потенциал для лечения ишемии на фоне диабета [10].

Исследование Son et al. (2021) показало регенеративный потенциал экзосом (EV-210), полученных из стволовых клеток жировой ткани (ASCs), обогащенных miR-210. В модели ишемии-реперфузии у крыс фракция выброса левого желудочка повысилась до 89.9% от нормы, а площадь фиброза снизилась до 13.24% (против 31.97% в группе контроля и 17.87% при терапии нативными ASC). Механизмы включали антиапоптотическое действие на кардиомиоциты (через подавление PTP1B/DAPK1), ангиогенез (через ингибирование EFNA3 и повышение VEGF на 211%) и антифибротический эффект (через подавление CTGF на 60%) [14].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Обобщая представленные данные, можно заключить, что экзосомы, выделенные из мезенхимальных стволовых клеток различного происхождения, обладают выраженным терапевтическим потенциалом, реализуемым за счёт транспорта биологически активных молекул, включая микроРНК, белки, липиды и цитокины. Их биологическая активность проявляется в способности модулировать ключевые клеточные процессы: пролиферацию, дифференцировку, ангиогенез, ремоделирование внеклеточного матрикса, а также подавление воспаления и апоптоза. Несмотря на то, что часть исследований фокусируется на тканях, отличных от костной (кожа, печень, миокард), выявленные молекулярные механизмы действия экзосом имеют универсаль-

ный характер. Таким образом, экзосомы из МСК представляют собой перспективный инструмент клеточно-свободной терапии в контексте регенерации ткани, обладая способностью к таргетной модуляции межклеточной коммуникации и восстановлению тканевого гомеостаза.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare that there is no conflict of interest.

ЛИТЕРАТУРА

1. Diomaiuto E., Principe V., Luca A. D., Laperuta F., Alterisio C., Loria A. D. Exosomes in dogs and cats: an innovative approach to the treatment of tumoral and non-tumoral diseases. *Pharmaceutics*. 2021;14.
2. Kalluri R., LeBleu V. S. The biology, function, and biomedical applications of exosomes. *Science*. 2020;367.
3. Brunello G., Zanotti F., Trentini M., Zanolla I., Pishavar E., Favero V., et al. Dental pulp stem cell-derived exosomes show different angiogenic and osteogenic properties depending on donor age. *Pharmaceutics*. 2022;14:908. doi:10.3390/pharmaceutics14050908.
4. Zanolla I., Trentini M., Tiengo E., Zanotti F., Pusceddu T., Rubini A., et al. Adipose-derived stem cell exosomes act as microRNA delivery vehicles in a canine chronic hepatitis model. *Nanotheranostics*. 2024 Mar 9;8(3):298-311. doi:10.7150/ntno.93064.
5. Lee J. H., Won Y. J., Kim H., Choi M., Lee E., Ryoo B., et al. Adipose-derived mesenchymal stem cell exosomes promote wound healing and tissue regeneration. *Int J Mol Sci*. 2023 Jun 21;24(13):10434. doi:10.3390/ijms241310434.
6. Xiong M., Zhang Q., Hu W., Zhao C., Lv W., Yi Y., et al. Adipose-derived stem cell exosomes: new roles and applications in tissue regeneration in plastic and cosmetic surgery. *Front Cell Dev Biol*. 2020 Sep 10;8:574223. doi:10.3389/fcell.2020.574223.
7. Yuan T., Meijia L., Xinyao C., Xinyue L., Lijun H. Human adipose-derived stem cell exosomes improve wound healing quality: a systematic review and meta-analysis of preclinical animal studies. *Int Wound J*. 2023 Aug;20(6):2424-39. doi:10.1111/iwj.14081.
8. Wang Y., Ding H., Bai R., Li Q., Ren B., Lin P., et al. Adipose-derived stem cell exosomes accelerate wound healing by increasing IL-33 release from macrophages. *Stem Cell Res Ther*. 2025 Feb 21;16(1):80. doi:10.1186/s13287-025-04203-x.
9. Wang L., Zhang J. J., Wang S. S., Li L. Mechanism of adipose-derived mesenchymal stem cell exosomes in the treatment of heart failure. *World J Stem Cells*. 2023 Sep 26;15(9):897-907. doi:10.4252/wjsc.v15.i9.897..

10. Wang X., Chen S., Lu R., Sun Y., Song T., Nie Z., et al. Adipose stem cell-derived exosomes enhance angiogenesis by promoting M2 macrophage polarization via the JAK/STAT6 pathway in diabetic mice with limb ischemia. *Heliyon*. 2022 Nov 13;8(11):e11495. doi:10.1016/j.heliyon.2022.e11495.
11. Mazini L., Rochette L., Hamdan Y., Malka G. Skin immunomodulation during regeneration: emerging targets. *J Pers Med*. 2021 Jan 30;11(2):85. doi:10.3390/jpm11020085.
12. Yanuar A., Agustina H., Budhiparama N. C., Atik N. Perspectives on the use of exosomes in ligament healing: a systematic review. *Stem Cell Cloning*. 2023 Dec 27;16:91-101. doi:10.2147/SCCAAS438023.
13. Alió Del Barrio J. L., De la Mata A., De Miguel M. P., Arnalich-Montiel F., Nieto-Miguel T., El Zarif M., et al. Corneal regeneration using adipose-derived mesenchymal stem cells. *Cells*. 2022 Aug 16;11(16):2549. doi:10.3390/cells11162549.
14. Song B. W., Lee C. Y., Kim R., Kim W. J., Lee H. W., Lee M. Y., et al. Multiplexed targeting of microRNA-210 in stem cell-derived extracellular vesicles promotes selective regeneration in ischemic hearts. *Exp Mol Med*. 2021 Apr;53(4):695-708. doi:10.1038/s12276-021-00584-0.
15. Traxler D., Dannenberg V., Zlabinger K., et al. Plasma small extracellular vesicle cardiac miRNA expression in patients with ischemic heart failure randomized to percutaneous intramyocardial treatment of adipose-derived stem cells or placebo: subanalysis of the SCIENCE study. *Int J Mol Sci*. 2023;24(13):10647. doi:10.3390/ijms241310647.
16. Ossanna R., Quintero Sierra L. A., Ghazanfar Tehrani S., Jha V., Curatola C., Busato A., et al. Revolutionary bone regeneration and wound healing: mechanical stromal vascular fraction and hyaluronic acid in a mouse tibial defect model. *Front Cell Dev Biol*. 2025 May 13;13:1582083. doi:10.3389/fcell.2025.1582083.
17. Lyu K., Liu T., Chen Y., Lu J., Jiang L., Liu X., et al. “Cell-free therapy” for tendon injuries: exosomes derived from adipose stem cells. *Eur J Med Res*. 2022 May 28;27(1):75. doi:10.1186/s40001-022-00707-x.
18. Rong J., Li Y. Y., Wang X., Wang J. N., Song M. Non-coding RNAs in adipose-derived stem cell exosomes: mechanisms, therapeutic potential and challenges in wound healing. *World J Stem Cells*. 2025 Apr 26;17(4):102917. doi:10.4252/wjsc.v17.i4.102917.
19. Wan R., Hussain A., Behfar A., Moran S. L., Zhao C. Therapeutic potential of exosomes in soft tissue repair and regeneration. *Int J Mol Sci*. 2022 Mar 31;23(7):3869. doi:10.3390/ijms23073869.
20. Zhou S., Huang J., Zhang Y., Yu H., Wang X. Exosomes in action: unveiling their role in autoimmune diseases and exploring therapeutic potentials. *Immune Netw*. 2024 Feb 20;24(2):e12. doi:10.4110/in.2024.24.e12.
21. Гребень А. И., Еремин П. С., Костромина Е. Ю., Марков П. А., Гильмутдинова И. Р. Использование мезенхимальных стволовых клеток и экзосом в лечении костных дефектов. *Гений ортопедии*. 2024;(1). Доступно по ссылке: <https://cyberleninka.ru/article/n/ispolzovanie-mezenhimalnyh-stvolovyh-kletok-i-ekzosom-v-lechenii-kostnyh-defektov>. (Дата обращения: 07.11.2025).
22. Бехало В. А., Горская Ю. Ф., Нестренко В. Г. Иммунорегуляторный и иммунотерапевтический потенциал мезенхимальных стволовых/стромальных клеток: перспективы и проблемы. *Иммунология*. 2024;(3). Доступно по ссылке: <https://cyberleninka.ru/article/n/immunoregulyatornyy-i-immunoterapevticheskiy-potentsial-mezenhimalnyh-stvolovyh-stromalnyh-kletok-perspektivy-i-problemy>. (Дата обращения: 07.11.2025).
23. Майбородин И. В., Шевела А. И., Морозов В. В., Михеева Т. В., Фигуренко Н. Ф., Маслов Р. В., Майбородина В. И. Влияние экстрацеллюлярных везикул (экзосом) мезенхимальных стромальных клеток на регенерацию костной ткани. *Новости хирургии*. 2019;(2). Доступно по ссылке: <https://cyberleninka.ru/article/n/vliyanie-ekstratsellyulyarnyh-vezikul-ekzosom-mezenhimalnyh-stromalnyh-kletok-na-regeneratsiyu-kostnoy-tkani>. (Дата обращения: 07.11.2025).
24. Такоева Е. А., Кокаев Р. И., Ислаев А. А. Мезенхимальные стволовые клетки или внеклеточные везикулы в выборе лечения ревматоидного артрита. *Acta Biomed Sci*. 2025;(1). Доступно по ссылке: <https://cyberleninka.ru/article/n/mezenhimalnye-stvolovye-kletki-ili-vnekletochnye-vezikuly-v-vybore-lecheniya-revmatoidnogo-artrita>. (Дата обращения: 13.11.2025).

REFERENCES

1. Diomaiuto E., Principe V., Luca A. D., Laperuta F., Alterisio C., Loria A. D. Exosomes in dogs and cats: an innovative approach to the treatment of tumoral and non-tumoral diseases. *Pharmaceutics*. 2021;14.
2. Kalluri R., LeBleu V. S. The biology, function, and biomedical applications of exosomes. *Science*. 2020;367.
3. Brunello G., Zanotti F., Trentini M., Zanolli I., Pishavar E., Favero V., et al. Dental pulp stem cell-derived exosomes show different angiogenic and osteogenic properties depending on donor

- age. *Pharmaceutics.* 2022;14:908. doi:10.3390/pharmaceutics14050908.
4. Zanolla I., Trentini M., Tiengo E., Zanotti F., Pusceddu T., Rubini A., et al. Adipose-derived stem cell exosomes act as microRNA delivery vehicles in a canine chronic hepatitis model. *Nanotheranostics.* 2024 Mar 9;8(3):298-311. doi:10.7150/ntno.93064.
 5. Lee J. H., Won Y. J., Kim H., Choi M., Lee E., Ryoo B., et al. Adipose-derived mesenchymal stem cell exosomes promote wound healing and tissue regeneration. *Int J Mol Sci.* 2023 Jun 21;24(13):10434. doi:10.3390/ijms241310434.
 6. Xiong M., Zhang Q., Hu W., Zhao C., Lv W., Yi Y., et al. Adipose-derived stem cell exosomes: new roles and applications in tissue regeneration in plastic and cosmetic surgery. *Front Cell Dev Biol.* 2020 Sep 10;8:574223. doi:10.3389/fcell.2020.574223.
 7. Yuan T., Meijia L., Xinyao C., Xinyue , Lijun H. Human adipose-derived stem cell exosomes improve wound healing quality: a systematic review and meta-analysis of preclinical animal studies. *Int Wound J.* 2023 Aug;20(6):2424-39. doi:10.1111/iwj.14081.
 8. Wang Y., Ding H., Bai R., Li Q., Ren B., Lin P., et al. Adipose-derived stem cell exosomes accelerate wound healing by increasing IL-33 release from macrophages. *Stem Cell Res Ther.* 2025 Feb 21;16(1):80. doi:10.1186/s13287-025-04203-x.
 9. Wang L., Zhang J. J., Wang S. S., Li L. Mechanism of adipose-derived mesenchymal stem cell exosomes in the treatment of heart failure. *World J Stem Cells.* 2023 Sep 26;15(9):897-907. doi:10.4252/wjsc.v15.i9.897.
 10. Wang X., Chen S., Lu R., Sun Y., Song T., Nie Z., et al. Adipose stem cell-derived exosomes enhance angiogenesis by promoting M2 macrophage polarization via the JAK/STAT6 pathway in diabetic mice with limb ischemia. *Heliyon.* 2022 Nov 13;8(11):e11495. doi:10.1016/j.heliyon.2022.e11495.
 11. Mazini L., Rochette L., Hamdan Y., Malka G. Skin immunomodulation during regeneration: emerging targets. *J Pers Med.* 2021 Jan 30;11(2):85. doi:10.3390/jpm11020085.
 12. Yanuar A., Agustina H., Budhiparama N. C., Atik N. Perspectives on the use of exosomes in ligament healing: a systematic review. *Stem Cell Cloning.* 2023 Dec 27;16:91-101. doi:10.2147/SCCA.S438023.
 13. Alió Del Barrio J. L., De la Mata A., De Miguel M. P., Arnalich-Montiel F., Nieto-Miguel T., El Zarif M., et al. Corneal regeneration using adipose-derived mesenchymal stem cells. *Cells.* 2022 Aug 16;11(16):2549. doi:10.3390/cells11162549.
 14. Song B. W., Lee C. Y., Kim R., Kim W. J., Lee H. W., Lee M. Y., et al. Multiplexed targeting of microRNA-210 in stem cell-derived extracellular vesicles promotes selective regeneration in ischemic hearts. *Exp Mol Med.* 2021 Apr;53(4):695-708. doi:10.1038/s12276-021-00584-0.
 15. Traxler D., Dannenberg V., Zlabinger K., et al. Plasma small extracellular vesicle cardiac miRNA expression in patients with ischemic heart failure randomized to percutaneous intramyocardial treatment of adipose-derived stem cells or placebo: subanalysis of the SCIENCE study. *Int J Mol Sci.* 2023;24(13):10647. doi:10.3390/ijms241310647.
 16. Ossanna R., Quintero Sierra L. A., Ghazanfar Tehrani S., Jha V., Curatola C., Busato A., et al. Revolutionary bone regeneration and wound healing: mechanical stromal vascular fraction and hyaluronic acid in a mouse tibial defect model. *Front Cell Dev Biol.* 2025 May 13;13:1582083. doi:10.3389/fcell.2025.1582083.
 17. Lyu K., Liu T., Chen Y., Lu J., Jiang L., Liu X., et al. “Cell-free therapy” for tendon injuries: exosomes derived from adipose stem cells. *Eur J Med Res.* 2022 May 28;27(1):75. doi:10.1186/s40001-022-00707-x.
 18. Rong J., Li Y. Y., Wang X., Wang J. N., Song M. Non-coding RNAs in adipose-derived stem cell exosomes: mechanisms, therapeutic potential and challenges in wound healing. *World J Stem Cells.* 2025 Apr 26;17(4):102917. doi:10.4252/wjsc.v17.i4.102917.
 19. Wan R., Hussain A., Behfar A., Moran S. L., Zhao C. Therapeutic potential of exosomes in soft tissue repair and regeneration. *Int J Mol Sci.* 2022 Mar 31;23(7):3869. doi:10.3390/ijms23073869.
 20. Zhou S., Huang J., Zhang Y., Yu H., Wang X. Exosomes in action: unveiling their role in autoimmune diseases and exploring therapeutic potentials. *Immune Netw.* 2024 Feb 20;24(2):e12. doi:10.4110/in.2024.24.e12.
 21. Greben A. I., Eremin P. S., Kostromina E. Yu., Markov P. A., Gilmutdinova I. R. Use of mesenchymal stem cells and exosomes in the treatment of bone defects. *Genius of Orthopedics.* 2024; (1). Available at: [\(Accessed: 07.11.2025\).](https://cyberleninka.ru/article/n/ispolzovanie-mezenhimalnyh-stvolovyh-kletok-i-ekzosom-v-lechenii-kostnyh-defektov)
 22. Bekhalo V. A., Gorskaya Yu. F., Nesterenko V. G. Immunoregulatory and immunotherapeutic potential of mesenchymal stem/stromal cells: prospects and problems. *Immunology.* 2024; (3). Available at: [\(Accessed: 07.11.2025\).](https://cyberleninka.ru/article/n/immunoregulyatornyy-i-immunoterapevticheskiy-potentsial-mezenhimalnyh-stvolovyh-stromalnyh-kletok-perspektivy-i-problemy)
 23. Maiborodin I. V., Shevela A. I., Morozov V. V., Mikheeva T. V., Figurenko N. F., Maslov R. V., Maiborodina V. I. Effect of extracellular

vesicles (exosomes) of mesenchymal stromal cells on bone tissue regeneration. Surgical news. 2019; (2). Available at: <https://cyberleninka.ru/article/n/vliyanie-ekstratsellyulyarnyh-vezikul-ekzosom-mezenhimalnyh-stromalnyh-kletok-na-regeneratsiyu-kostnoy-tkani>. (Accessed: 07.11.2025).

24. Takoeva E. A., Kokaev R. I., Islaev A. A. Mesenchymal stem cells or extracellular vesicles in choosing the treatment for rheumatoid arthritis. Acta Biomed Sci. 2025;(1). Available at: <https://cyberleninka.ru/article/n/mezenhimalnye-stvolovye-kletki-ili-vnekletochnye-vezikuly-v-vybore-lecheniya-revmatoidnogo-artrita>. (Accessed: 13.11.2025).

ПОЛНАЯ ТРАНСПЛАНТАЦИЯ ЛИЦА: ПОКАЗАНИЯ, ХИРУРГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ, ОСЛОЖНЕНИЯ.

Жариков Ю. О.¹, Устянова А. В.¹, Ильичева В. Н.¹, Орлюк М. А.², Антонян С. Ж.³,

Игизова Д. И.¹, Жарикова Т. С.¹, Николенко В. Н.¹

¹ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва, Россия

²Университет «Синергия», Москва, Россия

³ГБУЗ «НИИ СП им. Н.В. Склифосовского ДЗМ», Москва, Россия

Для корреспонденции: Жариков Юрий Олегович, кандидат медицинских наук, доцент, доцент кафедры анатомии и гистологии человека Института клинической медицины имени Н. В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова (Сеченовский университет) Минздрава России 125009, Москва, Моховая улица, 11с10, e-mail: dr_zharikov@mail.ru

For correspondence: Yury O. Zharikov, PhD, Associate Professor, Department of Human Anatomy and Histology, I. M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), e-mail: dr_zharikov@mail.ru

Information about authors:

Zharikov Yu. O., <https://orcid.org/0000-0001-9636-3807>

Ustyanova A. V., <https://orcid.org/0009-0004-2287-9818>

Ilyicheva V. N., <https://orcid.org/0009-0003-1050-6865>

Orliuk M. A., <https://orcid.org/0009-0000-0176-4588>

Antonyan S. Zh., <https://orcid.org/0000-0003-1463-1244>

Igizova D. I., <https://orcid.org/0009-0007-0675-6166>

Zharikova T. S., <https://orcid.org/0000-0001-6842-1520>

Nikolenko V. N., <https://orcid.org/0000-0001-9532-9957>

РЕЗЮМЕ

В данной статье представлен анализ актуальных направлений в области полной трансплантации лица, охватывающий ключевые аспекты, представляющие научный и практический интерес. Впервые систематически исследована связь между трансплантацией лица и развитием синдрома Гийена-Барре, включая анализ факторов риска, клинических проявлений и иммунных механизмов этого осложнения. Разработан алгоритм комплексного иммунологического обследования реципиентов, включающий анализ антител к HLA-антителам, кросс-матч, виртуальный кросс-матч, что позволяет оптимизировать подбор донора и снизить риск отторжения. Особое внимание уделено анализу эффективности и безопасности тимоглобулина и других современных иммунодепрессантов, а также обоснована необходимость разработки персонализированных схем иммуносупрессии с учетом индивидуальных особенностей пациентов. Хирурги-трансплантологи могут использовать полученные данные для оптимизации хирургической техники и улучшения отбора пациентов. Иммунологи получают новые сведения о механизмах иммунного ответа при трансплантации лица, что способствует разработке более эффективных методов иммуносупрессии. Для неврологов будут полезны ценные данные для ранней диагностики и лечения аутоиммунных поражений периферической нервной системы. Реаниматологи и специалисты интенсивной терапии смогут применять эти знания для оптимизации ведения пациентов в послеоперационном периоде, а психологи и психиатры – для разработки программ психологической реабилитации пациентов после трансплантации. Перспективы дальнейших исследований включают проведение многоцентровых долгосрочных исследований для оценки отдаленных результатов трансплантации, разработку моделей, прогнозирующих риск аутоиммунных осложнений, изучение влияния микробиома на приживление трансплантата, а также создание новых иммуносупрессивных препаратов и методов иммуномодуляции, таких как селективные ингибиторы иммунных контрольных точек и клеточная терапия. Таким образом, настоящее исследование не только вносит существенный вклад в развитие трансплантологии, но и определяет направления для будущих научных изысканий в этой области.

Ключевые слова: полная трансплантация, аутоиммune заболевания периферической нервной системы, иммунология, реакция «трансплантат против хозяина», иммуносупрессивная терапия, антитела, подбор донора и реципиента, тимоглобулин, синдром Гийена-Барре.

TOTAL FACE TRANSPLANTATION: INDICATIONS, SURGICAL ASPECTS, COMPLICATIONS.

Zharikov Yu. O.¹, Ustyanova A. V.¹, Ilyicheva V. N.¹, Orliuk M. A.², Antonyan S. Zh.³, Igizova D. I.¹,
Zharikova T. S.¹, Nikolenko V. N.¹

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

²Synergy University, Moscow, Russia

³N. V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine, Moscow, Russia

SUMMARY

This review article presents an analysis of current trends in the field of full face transplantation, covering key aspects of scientific and practical interest. For the first time, the relationship between face transplantation and the development of Guillain-Barré syndrome has been systematically studied, including an analysis of risk factors, clinical manifestations, and immune mechanisms of this complication. An algorithm for a comprehensive immunological examination of recipients has been developed, including analysis of antibodies to HLA antigens, cross-match, virtual cross-match, which allows optimizing donor selection and reducing the risk of rejection. Particular attention is paid to the analysis of the effectiveness and safety of thymoglobulin and other modern immunosuppressants, and the need to develop personalized immunosuppression regimens taking into account the individual characteristics of patients is substantiated. Transplant surgeons can use the data obtained to optimize surgical techniques and improve patient selection. Immunologists gain new insights into the mechanisms of the immune response in face transplantation, which helps develop more effective immunosuppression methods. Neurologists will benefit from valuable data for early diagnosis and treatment of autoimmune lesions of the peripheral nervous system. Resuscitators and intensive care specialists will be able to use this knowledge to optimize patient management in the postoperative period, and psychologists and psychiatrists will be able to develop programs for psychological rehabilitation of patients after transplantation. Prospects for further research include conducting multicenter long-term studies to assess the long-term results of transplantation, developing models predicting the risk of autoimmune complications, studying the influence of the microbiome on graft engraftment, as well as creating new immunosuppressive drugs and immunomodulatory methods, such as selective immune checkpoint inhibitors and cell therapy. Thus, the present study not only makes a significant contribution to the development of transplantology, but also defines directions for future scientific research in this area.

Key words: total transplantation, autoimmune diseases of the peripheral nervous system, immunology, graft-versus-host disease, immunosuppressive therapy, antibodies, donor and recipient selection, thymoglobulin, Guillain-Barré syndrome.

В 2005 г. была проведена первая трансплантация лица, на данный момент во всем мире было зарегистрировано 48 таких операций [1]. Аутологическая жировая трансплантация расширила границы реконструктивной микрохирургии, иммунологии и трансплантологии и заняла свое место на стыке многих дисциплин. Эта операция затрагивает сложные научные, этические и социальные вопросы. Пациентам и врачам приходится сталкиваться с целым рядом порой вечных проблем, таких как лечение иммуносупрессии и психосоциальные препятствия [2]. Трансплантация лица может понадобиться по самым разным причинам. Пересадку лица предлагаю тогда, когда без этого лица не функционирует нормально: человек не может видеть при здоровых глазах, дышать через нос, есть и/или говорить. Также стоит отметить, что эстетика лица человека влияет на его социальные взаимодействия, интеграцию и восприятие его в целом. Нарушение социальных функций влияет на качество жизни, что может привести к депрессии [3].

В условиях современности тема трансплантации лица и кожи является актуальной, так как различные травмы, полученные в дорожно-транспортных происшествиях, на поле боевых действий или в несчастных случаях требуют серьезного хирургического вмешательства [4]. Трансплантация лица проводится, чтобы попытаться улучшить качество жизни для тех, кто пережил тяжелую травму, ожоги, болезни или врожденные дефекты, которые повлияли красоту и функционирование лица [5].

Общая статистика операций

По данным многоцентрового исследования 2024 года с момента первой операции (2005 год)

были выполнены 50 трансплантаций 39 мужчинам (81%) и 9 женщинам (19%), медиана возраста которых на момент трансплантации составляла 35 (от 19 до 68) лет. Среднее время наблюдения составило 8,9 (в диапазоне от 0,2 до 16,7) лет. Было проведено 26 полных трансплантаций лица (52%) и 33 трансплантации содержали кости в дополнение к мягким тканям (66%). За время наблюдения было потеряно 6 трансплантатов, у 2 пациентов были повторные пересадки. 10 пациентов умерли, 2 из которых потеряли трансплантат. 5-летняя и 10-летняя выживаемость трансплантатов составила 85% и 74%, соответственно. Среднее число эпизодов острого отторжения в год составило 1,2 (диапазон 0-5,3) для трансплантатов, которые были потеряны, и 0,7 (диапазон 0-4,6) для трансплантатов, которые выжили. Отдаленные результаты, имеющиеся по данным литературы, при полной пересадке лица определены у 21 реципиента (Таблица 1). Несоответствия по HLA варьировали от 0 до 6. В большинстве случаев в качестве иммуносупрессора применялся тимоглобулин [1].

Профилактика отторжения

Для оценки эффективности операции был подсчитан параметр выживаемости трансплантанта, то есть случаи, когда не наблюдалось отторжение его организмом или смерть пациента. Из 48 человек, которым была проведена трансплантация лица, у одного донором стал мужчина 51 года с диагнозом черепно-мозговой травмы. После диагностики смерти головного мозга и констатации смерти было получено согласие родственников. На этапе подготовки донора выполнена трахеостомия и сделана посмертная лицевая маска. Для проведения ваккуляризованной композитной ал-

лотрансплантации лица был выбран алгоритм «face first, concurrent completion» «сначала лицо, одновременное (параллельное) завершение», при этом аллотрансплантат лица был сформирован по типу «full face» [6]. Общая продолжительность операции от разреза до завершения эксплантации составила 8 часов 20 минут. За период с 2005 по 2021 год умерли 10 реципиентов. Среди причин смерти указываются инфекции, посттрансплантационные лимфопролиферативные заболевания, сепсис, онкологические заболевания. Если оценивать лишь случаи отторжения трансплантата, то 5- и 10-летняя выживаемость составляет соответственно 96% и 83%. Такие результаты значительно превышают аналогичные показатели для трансплантации отдельных органов — почки (56%), печени (61%) и сердца (65%) [1].

Важна не только хирургическая техника и сама операция по трансплантации лица, но и предоперационная подготовка, которая может влиять восстановление в интра- и послеоперационном периоде. В предоперационную подготовку также входят подготовка реципиента и подбор донорского материала [7]. Международный опыт по трансплантации лица показал, насколько важны данные этапы, так как они имеют решающее значение для минимизации времени ишемии трансплантата, которое должно составлять менее четырех часов. В подготовку реципиента входит психиатрическая оценка, то есть подтверждение его способности к жизни с новым лицом и ожидаемому терапевтическому соответствию, к возможным послеоперационным осложнениям, также в этот этап входит оценка сети социальной поддержки, так как такие пациенты часто подвергаются нежелательным комментариям в их адрес со стороны общества. При информированном согласии человек должен быть предупрежден о существенных рисках и хронической иммуносупрессии. Отмечены случаи, когда реципиенты чувствовали изменения в их отношении к самому себе [8]. Возможно составление цифрового плана для трансплантации васкуляризованных композитных комплексов тканей лица, как при первой пересадке лица в Бельгии. Трехмерное 3D КТ- моделирование было важным этапом подготовки к трансплантации и понимания внешнего вида после операции. Также необходимы компьютерная ангиография и магнитно-резонансная ангиография, которые помогают понять особенности анатомии сосудов пациентов [9; 10].

Отбор реципиента

Отбор реципиента происходит очень строго и долго [11; 12], так как операцию могут выдержать не все пациенты вследствие своих генетических особенностей или тяжелых повреждений лица. Деформация лица приводит к ухудшению

качества жизни, и эту проблему не всегда можно решить с помощью реконструктивной хирургии [10; 11]. Единственным наиболее оптимальным методом решения проблемы в настоящее время является аллотрансплантация. Требуется анализ дефекта лица пациента. Критерии оценивания реципиента могут быть расширены, если будут показаны положительные результаты в динамике после операции. Самыми сложными пациентами являются те, кто получил ожоги, покрывающие большие площади поверхности, или те, кто перенес многочисленные реконструктивные операции [11]. Особенности каждого дефекта делает определение показаний для трансплантации лица персонализированными.

Общие критерии исключения соответствуют стандартным рекомендациям по трансплантации органов. Конкретным и абсолютным противопоказанием является неосуществимость адекватного наблюдения, несоблюдение врачебных предписаний в прошлом и поведенческие нарушения, которые ставят под угрозу их выполнение [13]. Многие авторы считают, что онкологическое заболевание и ВИЧ в анамнезе - противопоказание, хотя отмечен случай, когда постонкологический и ВИЧ-положительный пациенты удачно перенесли трансплантацию лица [13; 14].

Отбор донора

Поиски донора занимают неопределенное количество времени, так как необходимы совпадения реципиента и донора по данным типирования, цвету кожи и волос, полу и возрасту, антропометрическим и этническим данным [15]: для представителей негроидной расы – темная кожа, курчавые черные волосы, темный цвет радужки глаз, долихокранная высокосводная форма черепа, невысокое лицо и небольшая ширина скул, средне высокий лоб со слабо выраженным надбровными дугами, прогнатизм, широкий разрез глаз, широкий плоский слабовыступающий нос, толстые губы, верхняя губа – прохейличная; европеоидной расы – ортогнатическое лицо, волосы прямые или волнистые, глаза имеют широкий разрез, хотя глазная щель бывает небольшой, со средне- или сильно выступающим высоким переносцем, губы тонкие или умеренно толстые, сильный или средний рост волос на лице, цвет кожи, волос и глаз от очень светлых оттенков до очень темных [16], для балкано-кавказских этнических групп – брахицефалия, низкое широкое лицо, темные прямые или волнистые волосы, темные глаза, сильное развитие бороды [17].

Также необходимо получить информированное согласие у родственников умершего на эксплантацию лица [18; 19]. Помимо вышеперечисленного, донор должен соответствовать следующим критериям: идентифицированная личность,

отсутствие повреждения костей черепа в области лица, диагностированная смерть мозга, возраст – 18 - 50 лет, пол – мужской или женский (в зависимости от случая), отсутствие гнойно-воспалительных заболеваний ЛОР-органов и кожных заболеваний в области лица, стабильная гемодинамика, соответствие антропометрическим данным реципиента, нахождение на ИВЛ не более 96 часов, отсутствие атеросклероза наружной и общей сонной артерии [18]. Также необходимо иммунологическое обследование реципиента и донора (группа крови, степень иммунологической сенсибилизации реципиента, фенотип реципиента, фенотип донора, проведение пробы Cross-match), обследование донора на маркеры инфекционных заболеваний (вирус иммуноде-

фицита человека – ВИЧ, сифилис, гепатиты В и С, цитомегаловирус – ЦМВ), определение особенностей потенциального донора лица до и во время эксплантации, варианты и этапы изъятия и консервация лица и солидных органов, транспортировка изъятых вакуумизированных композитных комплексов тканей для трансплантации лица и солидных органов в условиях ограниченного времени, координация работы всех задействованных служб: бригады органного донорства, хирургической бригады центра трансплантации [18]. В настоящее время во всем мире стремятся к индуцированию донорской толерантности для минимизации или полного прекращения иммуносупрессии у реципиента [11].

Таблица 1. Результаты по полной трансплантации лица на март 2025 года
Table 1. Results for full face transplantation as of March 2025

№	Год, страна	Возраст, пол	Показание	Тип пересадки	Статус	Отторжение
1	2010, Испания [20]	30, М	Баллистическая травма	Полная	Смерть *на момент выхода публикации (2011)	Коагуляционный некроз (тромбоз венозных анатомозов)
2	2010, Франция [21]	35, М	Нейрофиброматоз	Полная	Жив *на момент выхода публикации (2020)	Коагуляционный некроз (тромботическая микроangiопатия, синдром системного воспалительного ответа), ЦМВ-виреmia, фиброз (рубцевание), потеря аллотрансплантата
3	2011, США [22]	25, М	Ожог	Полная	Жив *на момент выхода публикации (2011)	Коагуляционный некроз (сиалоцеле, его инфицирование кандидозом и синегнойной палочкой)
4	2011, США [22]	30, М	Ожог	Полная	Жив *на момент выхода публикации (2011)	Коагуляционный некроз и фиброз (почечная недостаточность, пневмония)
5	2011, США [22]	57, Ж	Нападение животных	Полная, а также двусторонняя пересадка рук	Жива *на момент выхода публикации (2011)	Коагуляционный некроз (ДВС-синдром, сепсис, ассоциированный с пневмонией), потеря аллотрансплантата рук
6	2012, Турция [23]	19, М	Ожог	Полная	Жива *на момент выхода публикации (2018)	Коагуляционный некроз
7	2012, Турция [23]	25, М	Ожог	Полная	Жив *на момент выхода публикации (2018)	-
8	2012 [23]	37, М	Баллистическая травма	Полная	Жив *на момент выхода публикации(2018)	Коагуляционный некроз

Продолжение таблицы

9	2012, Турция [23]	35, М	Ожог	Полная	Жив *на момент выхода публикации (2018)	Коагуляционный некроз
10	2013, США [24 - 28]	45, Ж	Ожог	Полная	Жива *на момент выхода публикации (2021)	Коагуляционный некроз (опоясывающий герпес, флегмона) и фиброз, ЦМВ-виремия, потеря аллотрансплантата
11	2013, Турция [29]	26, М	Баллистическая травма	Полная	Жив *на момент выхода публикации (2016)	Коагуляционный некроз (абсцесс подглазничной области)
12	2013, Турция [23]	54, М	Баллистическая травма	Полная	Смерть *на момент выхода публикации (2018)	Коагуляционный некроз (плоскоклеточный рак, диффузная В-крупноклеточная лимфома - ДВКЛ, аспергиллез легких и мозжечка)
13	2013, Польша [30]	28, Ж	Нейрофиброматоз	Полная	Жива *на момент выхода публикации (2017)	Коагуляционный некроз
14	2015, Испания [31]	45, М	Артериовенозная мальформация	Полная	Жив *на момент выхода публикации (2021)	-
15	2015 [29]	41, М	Ожог	Полная	Жив *на момент выхода публикации (2016)	Коагуляционный некроз
16	2017 [32]	21, Ж	Баллистическая травма	Полная	Жива *на момент выхода публикации (2022)	Коагуляционный некроз
17	2018, Франция [22]	44, М	Хроническое отторжение лицевого трансплантата	Полная	Жив *на момент выхода публикации (2020)	Коагуляционный некроз (ЦМВ-эзофагит, аспирационная пневмония)
18	2018, Финляндия [33]	58, М	Баллистическая травма	Полная	Жив *на момент выхода публикации (2023)	-
19	2019, США [28]	68, М	Ожог	Полная	Жив *на момент выхода публикации (2021)	Коагуляционный некроз (субапоневротическая гематома, инфекция мочевыводящих путей с сепсисом)
20	2020, США [28]	52, Ж	Хроническое отторжение лицевого трансплантата	Полная	Жива *на момент выхода публикации (2021)	Коагуляционный некроз (ЦМВ-виремия, нейтропения)
21	2020 [34]	21, М	Ожог	Полная, а также двусторонняя пересадка рук	Жив *на момент выхода публикации (2022)	-

Особенности проведения трансплантации лица

Операция по трансплантации является сложным и долгим процессом, ограниченным по времени, который требует и организованности медицинской команды, и соблюдения хирургических принципов, которые различаются во всех странах и случаях, в зависимости от особенностей каждого пациента [11; 18; 20; 35]. Полная пересадка лица включает одновременный забор трансплантата у донора и подготовку лица у реципиента. Одна медицинская команда выделяет основные двигательные и чувствительные нервы, артериальные и венозные компоненты – донорская операция, другая команда отвечает за работу с реципиентом, то есть удаляет кожу и подготавливает остатки тканей лица, выделяет с двух сторон нервные ветви и шейные сосуды, в случае отсутствия лицевого и ветвей тройничного нервов проводят их анастомозирование [26].

Жизнь пересаженной ткани лица напрямую зависит от артериального кровоснабжения и венозного дренажа. Осуществляют микроанастомоз лицевых артерий и вен с каждой стороны, некоторых случаях – анастомоз между общей сонной артерией донора и наружной сонной артерией реципиента слева (чтобы исключить анастомоз с натяжением), справа – анастомоз наружных сонных артерий в проксимальном направлении [34]. Трансплантат снабжается двусторонней системой наружных сонных артерий и дренируется через занижнечелюстную и наружную яремные вены [26], для вен используют анастомоз “конец в конец”, для нервов – по типу “конец в бок” [31], выполняется двусторонняя коаптация подглазничного и надглазничного нервов сквозным способом [31], для лицевого нерва используется микроанастомоз [26]. Возможны три варианта переноса мягких тканей, но в настоящее используется только один – когда кожа и подкожный жир используются только в качестве оболочки, содержащей сеть кровеносных сосудов, необходимую для питания. В этом случае трансплантат, который состоит из кожи и жировой ткани, будет пересаживаться на мышцы лица реципиента, перед этим необходимо удалить его рубцовую ткань. Второй вариант – пересаживается не только кожа и жир, но и некоторые или все мышцы лица, лицевой нерв и околоушная слюнная железа. Третий вариант – поднадкостничная трансплантация, которая включает в себя не только пересадку всех мягких тканей, но и некоторых костных структур [35].

Отторжение трансплантата

Трансплантация лица может быть успешно реализована только при тщательном отборе донора и отсутствии реакции отторжения. При транс-

плантации лица у реципиента вырабатываются белки на поверхности клеток против специфических антигенов молекул главного комплекса гистосовместимости (МНС) - HLA-антитела (Human Leukocyte Antigen) против компонентов чужеродных тканей (донора) [36]. В случае повышения уровня специфических антител назначают коррекцию иммуносупрессивной терапии для повышения шансов приживления трансплантата. При иммунологической несовместимости, когда иммунные клетки донора (в первую очередь Т-лимфоциты) распознают HLA-антителы реципиента как чужеродные, развивается реакция «трансплантат против хозяина» (РТПХ). В обратной ситуации, когда иммунная система реципиента атакует трансплантат, может развиться реакция отторжения, которая бывает острой или хронической [37].

Острые реакции связаны с прямой презентацией антигена, которые активируют CD4+ и CD8+ Т-лимфоциты для выработки цитокинов и активации макрофагов и обычно развиваются в первые недели или месяцы после операции, проявляется это сыпью, язвами, покраснениями на коже, а также поражением желудочно-кишечного тракта (рвота, желтуха, низкий уровень альбумина, боль в животе, водянистая или кровавая диарея, повышение уровня билирубина, печеночная недостаточность) [36]. Хронические реакции связаны с непрямой презентацией антигена, низким уровнем антител и развиваются значительно позже, медленнее острого отторжения и схожи с аутоиммунными заболеваниями, влияя на системы органов, ограничивая подвижность суставов, вызывая сыпь, зуд, фиброз тканей и частичную потерю кожи и волос, сухость во рту, в глазах, желтуху и появление злокачественных новообразований [37; 38]. Следует учитывать также антитела (изогемагглютинины) к антигенам АВ0, которые экспрессируются на поверхности эритроцитов и других тканевых клеток. Для отсутствия антителопосредованного отторжения необходима полная идентичность антигенов донора и реципиента. При несовместимости возможен гемолиз, бактериальная инфекция, тромбоз, некроз и острое отторжение трансплантата [39]. Сверхострому отторжению способствуют IgG-антитела к донорским эндотелиальным/моноцитарным клеткам, которые могут оказывать негативное действие на сосуды трансплантата, приводя к нарушению кровоснабжения и вызывая некроз тканей [40; 41]. Антигены гистосовместимости (mHAgS) также могут приводить к РТПХ и отторжению, данные антигены могут быть связаны с половыми и аутосомными хромосомами [36; 42].

Отдельного внимания заслуживают иммуносупрессивные препараты, которые подавляют ак-

тивность иммунной системы (В- и Т-лимфоцитов, эозинофилов, моноцитов, естественных киллеров (NK)) и выработку цитокинов. Побочные эффекты являются наиболее серьезными проблемами, так как за счет подавления иммунного ответа организма повышается риск развития инфекций (бактериальных, вирусных и грибковых) и злокачественных новообразований. При длительном приеме иммunosупрессоры негативно влияют на функции не только трансплантированного органа, но и на работу других органов (в частности, почек, печени). В случае заражения цитомегаловирусной инфекцией (ЦМВ), например, от донора, если он был им заражен, или из окружающей среды иммунная система у реципиента может реактивироваться с появлением антител IgM к ЦМВ. ЦМВ может вызвать гепатит, пневмонию, гастроэнтерит, энцефалит, кроме того, она инициирует аутоиммунные заболевания [43].

Несмотря на лечение, организм реципиента может начать иммунный ответ против донорских тканей, что приводит к острому отторжению трансплантата. Вследствие изменения иммунной системы при приеме иммunosупрессоров увеличивается риск возникновения аутоиммунных заболеваний, поражающих периферическую нервную систему, например -постинфекционный цитомегаловирус-ассоциированный синдром Гийена-Барре (СГБ), которой стремительно прогрессирует, поражая миелин и - при особо тяжелых проявлениях болезни – влияет на аксоны периферических нервов, в особенности поражая черепные нервы и инициируя лицевую диплегию или дисфагию (затрагивая блуждающий языкоглоточный и подъязычный нервы) [44; 45], приводя к нервно-мышечным параличам и онемению, распространяющимся по всему телу и лицу; в некоторых случаях могут быть сенсорные нарушения и снижение или отсутствие сухожильных рефлексов, возможна дыхательная недостаточность и нарушения сердечного ритма [46; 47]. Особенностью СГБ является альбумино-цитологическая диссоциация в спинномозговой жидкости, которая хоть и типична для этого заболевания, но может отсутствовать на ранних стадиях [47].

Хроническая воспалительная демиелинизирующая полиневропатия (ХВДП) – иммуноопосредованное аутоиммунное заболевание, атакующее миелиновые оболочки нервов периферической нервной системы, которое может быть вызвано как вирусом иммунодефицита человека, так и генетической предрасположенностью или цитомегаловирусом [48]. В отличии от синдрома Гийена-Барре, ХВДП развивается постепенно, более 2 месяцев, происходит угнетение двигательных и сенсорных реакций, повышение уровня бел-

ка в ликворе. При типичной ХВДП происходит демиелинизация, опосредованная антителами и действующая симметрично на проксимальные и дистальные мышцы, дистальные нервные окончания и нервные корешки. Атипичная ХВДП отличается асимметричной демиелинизацией нервных стволов [49]. Также возможно развитие миастении гравис (МГ) – аутоиммунного заболевания, опосредованного аутоантителами, чаще всего к ацетилхолиновому рецептору, и проявляющегося химической передачей импульсов (с помощью нейромедиаторов) на постсинаптическую мембрану нервно-мышечного соединения, вызывая мышечную слабость [50; 51].

Иммуносупрессивная терапия

В иммуносупрессивной терапии используются разные классы препаратов. Кортикостероиды (преднизолон, метилпреднизолон) обладают мощным противовоспалительным эффектом и быстро подавляют иммунный ответ; ингибиторы кальциневрина (циклоспорин-А, таクロлимуз) подавляют активацию Т-лимфоцитов путем ингибирования кальциневрина, что снижает выработку интерлейкинов и других цитокинов, участвующих в иммунном ответе. Кроме того, их использование может привести к нефротоксичности. Ингибиторы мTOR (сиrolimus, эверолимус) действуют на пути мишени рапамицина у мlekопитающих (mTOR), влияя на пролиферацию клеток и активность Т-лимфоцитов.

Цитотоксические препараты (азатиоприн, миофенолата мофетил) сейчас назначаются как начальные иммуносупрессивные препараты. Они индуцируют некроз и уменьшают пролиферацию Т- и В-клеток и могут применяться в качестве дополнения к другим иммуносупрессивным средствам. Чаще всего используются циклоспорин, таクロлимуз, сиролимус, метотрексат, миофенолата мофетил, антитимоцитарный глобулин (АТГ, поликлональные антитела) и алемтузумаб (моноклональные антитела) [36]. При генетической несовместимости, когда HLA-антителы донора не совпадают с HLA реципиента, может развиваться гуморальное отторжение. Этот процесс обусловлен тем, что в организме реципиента уже существуют или начинают вырабатываться специфические антитела против HLA-антител донора, что приводит к повреждению трансплантата [52]. Дальнейшие исследования должны быть направлены на более глубокое изучение связи между трансплантацией лица и активацией аутоиммунных заболеваний периферической нервной системы (в особенности, синдрома Гийена-Барре) во избежание осложнений и реакций отторжения и увеличения продолжительности жизни реципиента.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полная трансплантация лица является сложной реконструктивной операцией, которая требует тщательного планирования и постоянного мониторинга состояния реципиента. Несмотря на рост числа операций и улучшение выживаемости пациентов, ключевыми моментами остаются риски отторжения, пожизненная иммуносупрессия с ее тяжелыми побочными эффектами (инфекции, включая ЦМВ, ХВДП, онкологические заболевания, потенциальная провокация аутоиммунных заболеваний) и необходимость строжайшего отбора как реципиентов (психологическая готовность, соблюдение режима), так и доноров (имmunологическая совместимость). Будущее трансплантации лица зависит от разработки новых, улучшенных методов лечения, углубленного изучения патогенеза осложнений для того, чтобы операция стала не только технически возможной, но и надежной и доступной для соответствующих пациентов.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Homsy P., Huelsboemer L., Barret J. P., Blondeel P., Borsuk D. E., Bula D., Gelb B., Infante-Cossio P., Lantieri L., Mardini S., Morelon E., Nasir S., Papay F., Petruzzo P., Rodriguez E., Özkan Ö., Özmen S., Pomahac B., Lassus P. An Update on the Survival of the First 50 Face Transplants Worldwide. *JAMA Surg.* 2024;159(12):1339-1345. doi:10.1001/jamasurg.2024.3748.
2. Ma X., Huang J., Long X., Wang X. Quantifying outcomes of autologous fat transplantation in different facial deformities: A systemic review and meta-analysis. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2023 Dec;87:117-130. doi:10.1016/j.bjps.2023.09.007.
3. Rami S. Kantar M. D., M. P. H. Allyson R. Alfonso B. S., B. A. Gustave K. Diep, M. D. Zoe P. Berman, M. D. William J. Rifkin, M. D. J. Rodrigo Diaz-Siso, M. D. Michael Sosin, M. D. Bruce E. Gelb, M. D. Daniel J. Ceradini, M. D. Eduardo D. Rodriguez, M.D., D. D.S From the Hansjörg Wyss Department of Plastic Surgery and the Transplant Institute, New York University Langone Health. Received for publication, 2020; accepted 2021. doi:10.1097/PRS.0000000000007932.
4. Gargat E. A., Tkacheva M. Yu., Nalapko Yu. I., Stadnik A. D., Senchenko A. M. Clinical and epidemiological aspects of combat surgical facial trauma in the context of a local military conflict. University Clinic. (In Russ.). 2017;1(4(25)):31-35.
5. Kiwanuka Harriet; Bueno, Ericka Maria, Diaz-Siso J. Rodrigo M. D., Sisk Geoffroy C. M. D., Lehmann, Lisa Soleymani M. D., M.Sc.; Pomahac, Bohdan M. D. Evolution of Ethical Debate on Face Transplantation. *Plastic and Reconstructive Surgery.* 2013;132(6):1558-1568. doi:10.1097/PRS.0b013e3182a97e2b
6. Uyba V. V., Gubarev K. K., Voskanyan S. E., et al. Algorithm for the donor stage of allotransplantation of complex facial tissues. The first Russian experience. *Transplantology.* 2016;(4). (In Russ.). URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/algoritm-donorskogo-etapa-allotransplantatsii-slozhnogo-kompleksa-tkaney-litsa-pervyy-rossiyskiy-opty>.
7. Dikarev AS, Vartanyan SA, Martirosyan AA, et al. The first Russian experience of pediatric subtotal facial tissue replantation. *Plastic Surgery and Aesthetic Medicine.* 2024;(4):5 15. (In Russ.). doi:10.17116/plast.hirurgia20240415.
8. Freeman M., Abou Jaoudé P.. Justifying surgery's last taboo: the ethics of face transplants. *J Med Ethics.* 2007;33(2):76-81. doi:10.1136/jme.2006.016865.
9. Roche N. A., Vermeersch H. F., Stilliaert F. B., Peters K. T., De Cubber J, Van Lierde K., Rogiers X., Colenbie L., Peeters P. C., Lemmens G. M., Blondeel P. N. Complex facial reconstruction by vascularized composite allotransplantation: the first Belgian case. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2015;68(3):362-71. doi:10.1016/j.bjps.2014.11.005.
10. Infante-Cossio P., Barrera-Pulido F., Gomez-Cia T., Sicilia-Castro D., Garcia-Perla-Garcia A., Gacto-Sanchez P., Hernandez-Guisado J. M., Lagares-Borrego A., Narros-Gimenez R., Gonzalez-Padilla J. D. Facial transplantation: a concise update. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2013;18(2):e263-71. doi: 10.4317/medoral.18552.
11. Pomahac B., Bueno E. M., Sisk G. C., Pribaz J. J. Current principles of facial allotransplantation: the Brigham and Women's Hospital Experience. *Plast Reconstr Surg.* 2013;131(5):1069-1076. doi: 10.1097/PRS.0b013e3182865cd3.
12. Diep G. K., Ramly E. P., Alfonso A. R., Berman Z. P., Rodriguez E. D. Enhancing Face Transplant Outcomes: Fundamental Principles of Facial Allograft Revision. *Plast Reconstr Surg Glob Open.* 2020;8(8):e2949. doi:10.1097/GOX.0000000000002949.
13. Pomahac B., Diaz-Siso J. R., Bueno E. M. Evolution of indications for facial transplantation. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* ;64(11):1410-6. doi:10.1016/j.bjps.2011.06.024.
14. Lantieri L. Face transplant: a paradigm change in facial reconstruction. *J Craniofac Surg.* 2012;23(1):250-3. doi:10.1097/SCS.0b013e318241c10b.

15. Freeman M, Abou Jaoudé P. Justifying surgery's last taboo: the ethics of face transplants. *J Med Ethics.* 2007;33(2):76-81. doi:10.1136/jme.2006.016865.
16. Pakstis, A. J., Gurkan, C., Dogan, M. et al. Genetic relationships of European, Mediterranean, and SW Asian populations using a panel of 55 AISNPs. *Eur J Hum Genet.* 2019;27:1885-1893. doi.org/10.1038/s41431-019-0466-6.
17. Guarino-Vignon P., Lefevre M., Chimènes A., Monnereau A., Guliyev F., Pecqueur L., Jovenet E., Lyonnet B., Bon C. Genome-wide analysis of a collective grave from Mentesh Tepe provides insight into the population structure of early neolithic population in the South Caucasus. *Commun Biol.* 2023;6(1):319. doi:10.1038/s42003-023-04681-w.
18. Volokh M., Manturova N., Fisun A., Uyba V., Voskanyan S., Khubulava G., Kalakutskiy N., Gubarev K.. First Russian Experience of Composite Facial Tissue Allotransplantation. *Plast Reconstr Surg Glob Open.* 2019;7(11):e2521. doi:10.1097/GOX.0000000000002521.
19. Rifkin W. J., David J. A., Plana N. M., Kantar R. S., Diaz-Siso J. R., Gelb B. E., Ceradini D. J., Rodriguez E. D. Achievements and Challenges in Facial Transplantation. *Ann Surg.* 2018;268(2):260-270. doi: 10.1097/SLA.0000000000002723.
20. Barret J. P., Serracanta J., Collado J. M., Garrido A., Salamero P., Pont T., Masnou N., Arana E., Arno A., Garcia V., Sancho J., Ruiz M. Full face transplantation organization, development, and results--the Barcelona experience: a case report. *Transplant Proc.* 2011 Nov;43(9):3533-4. doi:10.1016/j.transproceed.2011.10.012.
21. Lantieri L., Cholley B., Lemogne C., Guillemain R., Ortonne N., Grimbert P., Thervet E., Lellouch A. G. First human facial retransplantation: 30-month follow-up. *Lancet.* 2020 Nov;396(10264):1758-1765. doi:10.1016/S0140-6736(20)32438-7.
22. Pomahac B., Pribaz J., Eriksson E., Bueno E. M., Diaz-Siso J. R., Rybicki F. J., Annino D. J., Orgill D., Caterson E. J., Caterson S. A., Cartey M. J., Chun Y. S., Sampson C. E., Janis J. E., Alam D. S., Saavedra A., Molnar J. A., Edrich T., Marty F. M., Tullius S. G. Three patients with full facial transplantation. *N Engl J Med.* 2012 Feb;366(8):715-22. doi:10.1056/NEJMoa1111432.
23. Özkan Ö., Özkan Ö., Ubur M., Hadimioğlu N., Cengiz M., Afşar İ. Face allotransplantation for various types of facial disfigurements: A series of five cases. *Microsurgery.* 2018 Nov;38(8):834-843. doi:10.1002/micr.30272.
24. Akdogan N., Ersoy-Evans S., Gokoz O., Erdem Y., Nasir S. Early recognition of chronic rejection in a face allotransplant patient with alopecia. *J Cutan Pathol.* 2021 Jun.
25. Chandraker A., Arscott R., Murphy G., Lian C., Bueno E., Marty F., Rennke H., Milford E., Tullius S., Pomahac B. Face Transplantation in a Highly Sensitized Recipient. *Mil Med.* 2016 May;181(5 Suppl):221-6. doi:10.7205/MILMED-D-15-00136.
26. Win T. S., Murakami N., Borges T. J., Chandraker A., Murphy G., Lian C., Barrera V., Ho Sui S., Schoenfeld D., Teague J., Bueno E., Tullius S. G., Pomahac B., Clark R. A., Riella L. V. Longitudinal immunological characterization of the first presensitized recipient of a face transplant. *JCI Insight.* 2017 Jul 6;2(13):e93894. doi:10.1172/jci.insight.93894.
27. Chandraker A., Arscott R., Murphy G. F., Lian C. G., Bueno E. M., Marty F. M., Rennke H. G., Milford E., Tullius S. G., Pomahac B. The management of antibody-mediated rejection in the first presensitized recipient of a full-face allotransplant. *Am J Transplant.* 2014 Jun;14(6):1446-52. doi:10.1111/ajt.12715.
28. Kauke M., Panayi A. C., Safi A. F., Haug V., Perry B., Kollar B., Nizzi M. C., Broyles J., Annino D. J., Marty F. M., Sinha I., Lian C. G., Murphy G. F., Chandraker A., Pomahac B. Full facial retransplantation in a female patient-Technical, immunologic, and clinical considerations. *Am J Transplant.* 2021 Oct;21(10):3472-3480. doi:10.1111/ajt.16696.
29. Diaz-Siso J. R., Sosin M., Plana N. M., Rodriguez E. D. Face transplantation: Complications, implications, and an update for the oncologic surgeon. *J Surg Oncol.* 2016 Jun;113(8):971-5. doi:10.1002/jso.24211.
30. Krakowczyk Ł., Maciejewski A., Szymczyk C., Oleś K., Półtorak S. Face Transplant in an Advanced Neurofibromatosis Type 1 Patient. *Ann Transplant.* 2017 Jan ;22:53-57. doi:10.12659/aot.900617.
31. Diep G. K., Berman Z. P., Alfonso A. R., Ramly E. P., Boczar D., Trilles J., Rodriguez Colon R., Chaya B. F., Rodriguez E. D. The 2020 Facial Transplantation Update: A 15-Year Compendium. *Plast Reconstr Surg Glob Open.* 2021 May 21;9(5):e3586. doi:10.1097/GOX.0000000000003586.
32. Knackstedt R., Siemionow M., Djohan R., Schwarz G., Gharb B. B., Rampazzo A., Bernard S., Doumit G., Gurunian R., Egthesad B., Bergfeld W., Priebe D., Papay F., Gastman B. R. Youngest Composite Full-Face Transplant: A Model for Vascularized Composite Allograft in Younger Populations. *Ann Plast Surg.* 2022 Nov ;89(5):564-572. doi:10.1097/SAP.0000000000003312.
33. Kiukas E. L., Sipilä M., Manninen A., Ylä-Kotola T., Lindford A., Lassus P. Comprehensive outcome analysis in two composite face transplants in Helsinki: Have we succeeded? *J Plast Reconstr*

- Aesthet Surg. 2023 May;80:148-155. doi:10.1016/j.bjps.2023.02.023.
34. Ramly E. P., Alfonso A. R., Berman Z. P., Diep G. K., Bass J. L., Catalano L. W. 3rd, Ceradini D. J., Choi M., Cohen O. D., Flores R. L., Golas A. R., Hacquebord J. H., Levine J. P., Saadeh P. B., Sharma S., Staffenberg D. A., Thanik V. D., Rojas A., Bernstein G. L., Gelb B. E., Rodriguez E. D. The First Successful Combined Full Face and Bilateral Hand Transplant. Plast Reconstr Surg. 2022 Aug ;150(2):414-428. doi:10.1097/PRS.0000000000009369.
 35. Morris P. J., Bradley J. A., Doyal L., Earley M., Hagan P., Milling M., Rumsey N. Facial transplantation: a working party report from the Royal College of Surgeons of England. Transplantation. 2004 Feb;77(3):330-8. doi:10.1097/01.TP.0000113810.54865.
 36. da Silva M. B., da Cunha F. F., Terra F.F., Camara N. O. Old game, new players: Linking classical theories to new trends in transplant immunology. World J Transplant. 2017 Feb 24;7(1):1-25. doi:10.5500/wjt.v7.i1.1.
 37. Jacobsohn D. A., Vogelsang G. B. Acute graft versus host disease. Orphanet J Rare Dis. 2007 Sep 4;2:35. doi:10.1186/1750-1172-2-35.
 38. Katabathina V., Menias C. O., Pickhardt P., Lubner M., Prasad S. R. Complications of Immunosuppressive Therapy in Solid Organ Transplantation. Radiol Clin North Am. 2016 Mar;54(2):303-19. doi:10.1016/j.rcl.2015.09.009.
 39. Subramanian V., Ramachandran S., Klein C., Wellen J. R., Shenoy S., Chapman W. C., Mohanakumar T. ABO-incompatible organ transplantation. Int J Immunogenet. 2012 Aug;39(4):282-90. doi:10.1111/j.1744-313X.2012.01101.
 40. Schlatter M. I., Yandamuri S. S., O'Connor K. C., Nowak R. J., Pham M. C., Obaid A. H., Redman C., Provost M., McSweeney P. A., Pearlman M. L., Tees M. T., Bowen J. D., Nash R. A., Georges G. E. Remission of severe myasthenia gravis after autologous stem cell transplantation. Ann Clin Transl Neurol. 2023 Nov;10(11):2105-2113. doi:10.1002/acn3.51898.
 41. Sumitran-Karuppan S., Tyden G., Reinholt F., Berg U., Moller E. Hyperacute rejections of two consecutive renal allografts and early loss of the third transplant caused by non-HLA antibodies specific for endothelial cells. Transpl Immunol. 1997 Dec;5(4):321-7. doi:10.1016/s0966-3274(97)80016-0.
 42. Dierselhuis M., Goulmy E. The relevance of minor histocompatibility antigens in solid organ transplantation. Curr Opin Organ Transplant. 2009 Aug;14(4):419-25. doi:10.1097/MOT.0b013e32832d399c.
 43. Scott Nightingale, Vicky Lee Ng,68 - Neonatal Hepatitis,Editor(s): Robert Wyllie, Jeffrey S. Hyams,Pediatric Gastrointestinal and Liver Disease (Fourth Edition),W.B. Saunders,2011,Pages 728-740.e4, doi:10.1016/B978-1-4377-0774-8.10068-5.
 44. Schlatter M. I., Yandamuri S. S., O'Connor K. C., Nowak R. J., Pham M. C., Obaid A. H., Redman C., Provost M., McSweeney P. A., Pearlman M. L., Tees M. T., Bowen J. D., Nash R. A., Georges G. E. Remission of severe myasthenia gravis after autologous stem cell transplantation. Ann Clin Transl Neurol. 2023 :2105-2113. doi:10.1002/acn3.51898
 45. Bellanti R., Rinaldi S. Guillain-Barré syndrome: a comprehensive review. Eur J Neurol. 2024 Aug;31(8):e16365. doi:10.1111/ene.16365.
 46. Bhagavati S. Autoimmune Disorders of the Nervous System: Pathophysiology, Clinical Features, and Therapy. Front Neurol. 2021 Apr 14;12:664664. doi:10.3389/fneur.2021.664664.
 47. Shokri T., Saadi R., Wang W., Reddy L., Ducic Y. Facial Transplantation: Complications, Outcomes, and Long-Term Management Strategies. Semin Plast Surg. 2020 Nov;34(4):245-253. doi:10.1055/s-0040-1721760.
 48. Vanasse M., Rossignol E., Hadad E. Chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy. Handb Clin Neurol. 2013;112:1163-9. doi:10.1016/B978-0-444-52910-7.00037-4.
 49. Kuwabara S., Misawa S. Chronic Inflammatory Demyelinating Polyneuropathy. Adv Exp Med Biol. 2019;1190:333-343. doi:10.1007/978-981-32-9636-7_21.
 50. Binks S., Vincent A., Palace J. Myasthenia gravis: a clinical-immunological update. J Neurol. 2016 Apr;263(4):826-34. doi:10.1007/s00415-015-7963-5.
 51. Schlatter M. I., Yandamuri S. S., O'Connor K. C., Nowak R. J., Pham M. C., Obaid A. H., Redman C., Provost M., McSweeney P. A., Pearlman M. L., Tees M. T., Bowen J. D., Nash R. A., Georges G. E. Remission of severe myasthenia gravis after autologous stem cell transplantation. Ann Clin Transl Neurol. 2023 Nov;10(11):2105-2113. doi:10.1002/acn3.51898.
 52. Mahdi B. M. A glow of HLA typing in organ transplantation. Clin Transl Med. 2013 Feb;2(1):6. doi:10.1186/2001-1326-2-6.

ИЗМЕНЕНИЕ СПЕЦИФИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ ПРИ МЕТАБОЛИЧЕСКОМ СИНДРОМЕ

Коврижных Е. В., Петрова Д. А., Заурова М. Б., Кубышкин А. В., Фомочкина И. И.

Ордена Трудового Красного Знамени Медицинский институт имени С. И. Георгиевского федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Крымский федеральный университет им. В. И. Вернадского» (Медицинский институт им. С. И. Георгиевского ФГАОУ ВО «КФУ им. В. И. Вернадского»), 295051, бул. Ленина, 5/7, Симферополь, Россия

Для корреспонденции: Коврижных Екатерина Викторовна, студент кафедры общей и клинической патофизиологии, Медицинский институт им. С. И. Георгиевского ФГАОУ ВО «КФУ им. В. И. Вернадского», e-mail: medkkovr@mail.ru

For correspondence: Ekaterina V. Kovrzhnykh, Student of the Department of General and Clinical Pathophysiology Order of the Red Banner of Labor Medical Institute named after S. I. Georgievsky V. I. Vernadsky Crimean Federal University (Medical Institute named after S. I. Georgievsky of Vernadsky CFU), e-mail: medkkovr@mail.ru

Information about authors:

Kovrzhnykh E. V., <https://orcid.org/0009-0000-3231-6091>

Petrova D. A., <https://orcid.org/0009-0000-3533-5300>

Zaurova M. B., <https://orcid.org/0009-0002-3307-907X>

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

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

РЕЗЮМЕ

Метаболический синдром (МС) – многофакторная патология, характеризующаяся висцеральным ожирением, гипертонией, гипергликемией и дислипидемией. Данный синдром является фактором риска для развития сахарного диабета 2 типа и сердечно-сосудистых заболеваний, в частности атеросклероза. Среди множеств звеньев патогенеза эндотелиальная дисфункция (ЭД) является одним из важных механизмов развития МС. О развитии эндотелиальной дисфункции свидетельствует изменение специфических биомаркеров в периферической крови, концентрация которых изменяется в зависимости от стадии заболевания. Одним из наиболее значимых патогенетических аспектов МС является инсулинерезистентность: так, гипергликемия способствует повреждению эндотелиоцитов из-за явлений хронического воспаления, в печени увеличивается выработка триглицеридов (ТГ) и липопroteинов очень низкой плотности (ЛПОНП) и, одновременно, происходит снижение концентрации защитных липопroteинов высокой плотности (ЛПВП). Биомаркерами эндотелиальной дисфункции являются окисленные липопротеины низкой плотности (ox-LPНП), которые способствуют уменьшению диаметра просвета сосудов и повышению их тонуса, кроме того они влияют на экспрессию провоспалительных, вазоконстрикторных и протромботических агентов, пролиферацию гладкомышечных клеток артерий. Нарушается синтез веществ, выделяемых эндотелиоцитами, что приводит к колебанию концентрации молекул ингибитора активатора плазминогена - 1 (PAI-1), тканевого активатора плазминогена (tPA), циркулирующих зрелых эндотелиальных клеток, клеток-предшественниц эндотелия, вазоконстрикторного агента (ET1) и нарушению высвобождения оксида азота (NO). Несомненно, и висцеральное ожирение является ключевой причиной метаболического синдрома, при котором снижается выработка оксида азота и других вазопротекторных релаксирующих факторов. Отдельным биомаркером ЭД являются циркулирующие эндотелиальные клетки, микрочастицы и внеклеточные наноразмерные везикулы, которые появляются в кровотоке в результате некротических и апоптотических процессов. Выявление всех вышеописанных биомаркеров может свидетельствовать о развитии метаболического синдрома, ассоциированного с эндотелиальной дисфункцией и способствовать стратификации риска развития патологий сердечно – сосудистой, эндокринной, половой и других систем организма человека. Использовали источники на английском, русском и испанском языках, включая публикации с 2020 по 2025 годы, доступные в базах PubMed, Research Gate, National Library of Medicine, CyberLeninka, ChemSpider, Databases & Elibrary.

Ключевые слова: эндотелиальная дисфункция, метаболический синдром, маркеры эндотелиальной дисфункции, эндотелин-1, оксид азота, эндотелиальная синтаза азота.

CHANGES IN SPECIFIC MARKERS OF ENDOTHELIAL DYSFUNCTION IN METABOLIC SYNDROME

Kovrzhnykh E. V., Petrova D. A., Zaurova M. B., Kubyshkin A.V., Fomochkina I. I.

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

SUMMARY

Metabolic syndrome (MS) is a multifactorial pathology characterized by visceral obesity, hypertension, hyperglycemia, and dyslipidemia. This syndrome is a risk factor for the development of type 2 diabetes and cardiovascular diseases, in particular atherosclerosis. Among the many links of pathogenesis, endothelial dysfunction (ED) is one of

the important mechanisms of MS development. The development of endothelial dysfunction is indicated by changes in specific biomarkers in peripheral blood, the concentration and structure of which vary depending on the stage of the disease. One of the most significant pathogenetic aspects of MS is insulin resistance: for example, hyperglycemia contributes to endotheliocyte damage due to chronic inflammation, and the production of triglycerides (TG) and very low-density lipoproteins (VLDL) increases in the liver, while the concentration of protective high-density lipoproteins (HDL) decreases. Biomarkers of endothelial dysfunction are oxidized low-density lipoproteins (ox – LDL), which help to reduce the diameter of the vascular lumen and increase their tone, in addition, they affect the expression of proinflammatory, vasoconstrictor and prothrombotic agents, proliferation of smooth muscle cells of the arteries. The synthesis of substances secreted by endotheliocytes is disrupted, which leads to fluctuations in the concentration of plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1), tissue plasminogen activator (tPA), circulating mature endothelial cells, endothelial progenitor cells, vasoconstrictor agent (ET1) and impaired release of nitric oxide (NO). Undoubtedly, visceral obesity is also a key cause of metabolic syndrome, in which the production of nitric oxide and other vasoprotective relaxing factors decreases. A separate biomarker of ED is circulating endothelial cells, microparticles, and extracellular nanoscale vesicles that appear in the bloodstream as a result of necrotic and apoptotic processes. The identification of all the biomarkers described above may indicate the development of a metabolic syndrome associated with endothelial dysfunction and contribute to the stratification of the risk of developing pathologies of the cardiovascular, endocrine, reproductive and other systems of the human body. We used sources in English, Russian, and Spanish, including publications from 2020 to 2025 available in the databases PubMed, Research Gate, National Library of Medicine, CyberLeninka, ChemSpider, Databases & Elibrary.

Key words: **endothelial dysfunction, metabolic syndrome, markers of endothelial dysfunction, endothelin-1, nitric oxide, endothelial nitrogen synthase.**

Метаболический синдром (МС) имеет различную распространенность по всему миру и часто коррелирует с абдоминальным ожирением, диабетом и сердечно-сосудистыми заболеваниями, он представляет собой актуальную проблему, затрагивающую приблизительно 1/4 населения Земли (ВОЗ, 2018). Согласно прогнозам Всемирной Организации Здоровья, к 2035 году частота встречаемости МС может возрасти до 53%. Несмотря на количество проведенных исследований, большинство современных методов лечения направлены только на сопутствующие метаболическому синдрому патологии, а терапия, нацеленная на одно из главных патогенетических звеньев - эндотелиальную дисфункцию, к сожалению, до сих пор не разработана [1]. Для предупреждения прогрессирования сердечно-сосудистых заболеваний было предложено использование биомаркеров эндотелиальной дисфункции с целью выявления микро- и макрососудистых повреждений, развития атеросклероза, особенно при нарушениях обмена веществ [2]. Определение патогенетической взаимосвязи повреждения эндотелиальных клеток при метаболическом синдроме имеет важное значение для разработки нового варианта терапии у людей с различными заболеваниями, включая диабет II типа и ишемическую болезнь сердца (ИБС) [3; 4]. Будущие исследования могут быть сосредоточены на разработке методов эффективной терапии, направленной на ключевые механизмы эндотелиальной дисфункции при метаболическом синдроме. В этом обзоре будут обобщены аспекты измененных молекулярных механизмов, возникающих при эндотелиальной дисфункции, ассоциированной с метаболическим синдромом, а также применение потенциальных

биомаркеров в терапевтической практике при данной патологии.

Метаболический синдром (МС), представляющий собой конгломерат патологических состояний, включает абдоминальное ожирение, артериальную гипертензию, инсулинорезистентность и гиперлипидемию. МС является фактором риска развития множества патологий, в т. ч. сахарного диабета 2 типа, синдрома обструктивного апноэ сна, неалкогольной жировой болезни печени, синдрома поликистозных яичников, эректильной дисфункции, рака предстательной железы, заболеваний сердечно-сосудистой системы, в частности инфаркта миокарда, инсульта и атеросклероза [5-15]. МС оказывает негативное влияние на сосудистую стенку, вызывая эндотелиальную дисфункцию. ЭД - состояние дисбаланса синтеза сосудорасширяющих и сосудосуживающих факторов: при этом наблюдается сдвиг в сторону образования провоспалительных, вазоконстрикторных и протромботических агентов, пролиферация гладкомышечных клеток артерий [10], а также нарушается продукция веществ, выделяемых эндотелиоцитами, что приводит к колебанию уровня молекул адгезии (sVCAM-1, sICAM-1, Е - селектин), ингибитора активатора плазминогена - 1 (PAI-1), тканевого активатора плазминогена (tPA), фактора фон Виллебранда, лектиноподобного окисленного рецептора липопротеина низкой плотности - 1 (LOX-1), циркулирующих зрелых эндотелиальных клеток, клеток-предшественниц эндотелия и вазоконстрикторного агента (ET - 1) [3]. Систематизированные данные, касающиеся патогенетической роли биомаркеров ЭД при развитии сердечно-сосудистых заболеваний, представлены в таблице 1.

Таблица 1. Маркеры эндотелиальной дисфункции и их патогенетическое значение.
Table 1. Markers of endothelial dysfunction and their pathogenetic significance.

Маркер ЭД	Сокращенное название	Патогенетическое значение
Окисленные липопротеины низкой плотности	Ох-ЛПНП	Проатерогенные маркеры, усиливающие локальное воспаление.
Свободные жирные кислоты	СЖК	Увеличивают синтез глюкозы, ТГ и ЛПОНП.
Эндотелин-1	ЭТ-1	Вазоконстрикторный, хемотаксический и митогенный эффекты.
Ингибитор активатора плазминогена-1	PAI-1	Подавляет превращение плазминогена в плазмин и лизис тромбов. Белок острой фазы: повышение является фактором риска тромбоза и атеросклероза.
Тканевой активатор плазминогена	tPA	Способствует превращению плазминогена в плазмин.
Эндотелиальная синтаза оксида азота	eNOS	Снижение экспрессии eNOS приводит к уменьшению оксида азота, что связано со стойкой вазоконстрикцией и гиперплазией гладкомышечных клеток сосудов.
Ассиметричный диметиларгинин	АДМА	Эндогенный ингибитор синтеза оксида азота, ассоциирован с повышением VCAM – 1.
Фактор фон Виллебранда	vWF	Обеспечивает адгезию тромбоцитов на сосудистой стенке
Молекула межклеточной адгезии-1	ICAM – 1	Рецептор адгезии лейкоцитов в очаге воспаления, активирует Т – клеточный иммунный ответ, выведение патогенов, некротизированных клеток и апоптотических телец.
Молекула адгезии сосудистых клеток-1	VCAM – 1	Адгезия иммунных клеток на эндотелиоцитах и прогрессия воспаления.
Эндотелиальный селектин	E - селектин	Усиливают привлечение и связывание лейкоцитов с эндотелием.
Ангиопоэтин-подобный белок 2	ANGPTL2	Провоспалительный медиатор, способствует прогрессии воспалительного процесса в сосудах и повышении хемотаксической активности клеток моноцитарного ряда.
С-реактивный белок	СРБ	Белок острой фазы, неспецифический маркер воспаления
Внеклеточные наноразмерные везикулы	EV	Появляются в кровотоке в результате некроза и апоптоза.

Резистентность к инсулину играет одну из главных ролей в развитии метаболического синдрома и включает в себя такие последствия, как: гипертензию, абдоминальное ожирение и атерогенную дислипидемию [4; 14- 16]. При МС высвобождаются циркулирующие свободные жирные кислоты (СЖК), они, в свою очередь, снижают поглощение глюкозы в мышцах, вследствие чего уровень гликемии повышается, что приводит к увеличению секреции инсулина поджелудочной железой [13]. Одновременно, в печени СЖК увеличивают выработку глюкозы, триглицеридов и липопротеинов очень низкой плотности, уменьшая гликогенез. Резистентность к инсулину связана с повышенным липолизом и

усиленным производством свободных жирных кислот в порочном круге [2; 13]. Следовательно, происходит снижение уровня защитных антиатерогенных липопротеинов высокой плотности и повышение ЛПОНП [13; 17].

Окисленные липопротеины низкой плотности (ох – ЛПНП) идентифицированы как проатерогенные маркеры риска развития ишемической болезни сердца, т.к. они, связываясь с лектиноподобным рецептором-1 ох – ЛПНП (LOX-1), запускают сигнальный путь CD40/CD40L, усиливая локальное воспаление [6]. Также концентрация ох – ЛПНП коррелирует с уровнем эндотелина – 1 (ET-1), оказывающего значительное влияние на развитие эндотелиальной дисфункции, поскольку

характеризуется мощным вазоконстрикторным, хемотаксическим и митогенным эффектами, которые приводят к пролиферации гладкомышечных клеток, уменьшению диаметра просвета сосудов и повышению их тонуса [6; 18].

Считаем важным подчеркнуть, что только окисленные свободными радикалами ЛПНП являются атерогенными [2]. Под воздействием окисленных липопротеинов низкой плотности, гипертонии и сниженной концентрации инсулина в кровотоке уменьшается экспрессия оксида азота, активирующего растворимую гуанилатциклазу в клетках мышечного слоя, который посредством циклического гуанозинмонофосфата (цГМФ), инициирует расслабление и, как следствие, снижение тонуса сосудов [6; 18; 19]. Нарушение высвобождения оксида азота эндотелиальными клетками, катализируемое синтетазой оксида азота (eNOS) является начальным звеном в цепи, запускающей эндотелиальную дисфункцию, так как отсутствие монооксида нитрогена приводит к стойкой вазоконстрикции и гиперплазии клеток гладкой мускулатуры сосудов, а затем ее дисфункции [13, 20]. В связи со снижением экспрессии eNOS, обусловленной инсулинерезистентностью, образуется супероксид-анион (O_2^-), реагирующий с NO с образованием пероксинитрита ($ONOO^-$), что способствует стойкой вазоконстрикции [15].

Кроме этого, висцеральное ожирение, являясь основным критерием в установлении метаболического синдрома, характеризуется увеличением объема и изменением клеточного состава периваскулярной жировой ткани (ПВЖТ), в результате чего она становится дисфункциональной. ПВЖТ проявляется в накоплении околоаортального,

перикардиального, околопочекного жира и специфических отложений в крупных пристеночных органах, расположенных в непосредственной близости к адвентициальному слою кровеносных сосудов. В связи с дисфункцией периваскулярной жировой ткани также снижается выработка оксида азота и других вазопротекторных релаксирующих факторов [21; 24; 26]. Несмотря на физиологическую значимость NO его применение в качестве специфического маркера эндотелиальной дисфункции в клинической практике неосуществимо в связи с малым временем полураспада [27], однако противоположная ситуация складывается относительно метаболитов оксида азота, NO - синтаз (eNOS, nNOS, iNOS) и их ингибиторов, в частности ассиметричного диметиларгинина (АДМА) [6; 13; 21-23; 29; 31]. Повышение последнего сопровождается увеличением концентрации в периферическом кровотоке VCAM – 1 (молекула адгезии сосудистых клеток-1), опосредующего адгезию иммунных клеток на эндотелии сосудов и, как следствие, способствующего прогрессии воспаления [3; 6]. АДМА может служить специфическим биомаркером активации эндотелия, указывая на наличие факторов риска сердечно - сосудистых заболеваний (гиперлипидемии, гипертонии, ишемической болезни сердца, нестабильной стенокардии, инсульта, терминальной стадии почечной недостаточности и сахарного диабета), т.к. увеличивает окислительный стресс в эндотелиоцитах и ингибирует эндотелий-зависимую релаксацию артерий [6; 24; 29; 38]. Патогенетическая корреляция критериев метаболического синдрома с эндотелиальной дисфункцией представлена на рисунке 1.



Рис. 1. Схематическое изображение взаимосвязи проявлений эндотелиальной дисфункции и метаболического синдрома.

Fig. 1. Schematic representation of the relationship between manifestations of endothelial dysfunction and metabolic syndrome.

Висцеральное ожирение, являющееся основным критерием метаболического синдрома, приводит к повышению концентрации липопротеинов низкой и очень низкой плотности и экспрессии асимметричного диметиларгинина (АДМА-ингибитор синтеза NO), из-за чего снижается продукция эндотелиоцитами оксида азота (NO) и его синтаз (eNOS, nNOS, iNOS). Гиперлипидемия, сочетанная со стойкой вазоконстрикцией, может выступать в качестве главного этиологического фактора развития неалкогольной жировой болезни печени, атеросклероза и ишемической болезни сердца, а также способствовать образованию провоспалительных факторов: С-реактивного белка (СРБ), IL-6 и TNF- α , усиливающих окислительный стресс, что также способствует атероматозному поражению сосудов. Вазоконстрикция приводит к артериальной гипертензии, сопровождающейся синтезом эндотелина- 1 (ET - 1), фактора фон Виллебранда (vWF) и ингибитора активатора плазминогена – 1 (PAI-1).

Visceral obesity, which is the main criterion of metabolic syndrome, leads to an increase in the concentration of low and very low density lipoproteins and the expression of asymmetric dimethylarginine (ADMA-inhibitor of NO synthesis), due to which the production of nitric oxide (NO) and its synthases (eNOS, nNOS, iNOS) by endothelial cells decreases. Hyperlipidemia combined with persistent vasoconstriction can act as the main etiological factor in the development of non-alcoholic fatty liver disease, atherosclerosis and coronary heart disease, as well as contribute to the formation of pro-inflammatory factors: C-reactive protein (CRP), IL-6 and TNF- α , which increase oxidative stress, which also contributes to atherosomatous vascular damage. Vasoconstriction leads to arterial hypertension, accompanied by the synthesis of endothelin-1 (ET - 1), von Willebrand factor (vWF) and plasminogen activator inhibitor – 1 (PAI-1).

Помимо снижения продукции оксида азота при дисфункции ПВЖТ, вызванной висцеральным ожирением, повышается продукция паракринных просократительных молекул, таких как супероксид-анион, катехоламины, простагландины, хемерин, ангиотензин II, резистин и висфатин, а также провоспалительных факторов, в частности С - реактивный белок (СРБ), интерлейкин-6 (IL- 6) и интерлейкин- 1 β (IL- 1 β), монокитартарный хемоаттрактантный белок- 1 (MCP - 1) или фактор некроза опухоли α (TNF- α), способствующие усилиению окислительного стресса [6; 23; 33; 36; 37; 40]. С-реактивный белок свыше 10 мг/л свидетельствует об острых воспалительных процессах, вызывая медленнотекущее вос-

паление эндотелия, что провоцирует развитие атеросклероза. Известно, что повышение СРБ у пациентов с ишемической болезнью сердца, значительно повышает риск возникновения острого инфаркта миокарда. TNF- α является фактором, продуцируемым адипоцитами в ответ на хроническое воспаление, который усиливает пролиферацию и стероидогенез в клетках-тека крыс, что обуславливает развитие синдрома поликистозных яичников, ведущего к ановулаторному бесплодию как осложнение МС. Избыток фактора некроза опухоли α приводит к инсулинорезистентности путем блокирования фосфорилирования тирозинкиназы рецептора инсулина, влияет на транспорт глюкозы за счет снижения активности переносчика глюкозы 4 типа [40]. Кроме этого, IL- 6 и TNF- α активируют миграцию моноцитов, что, с одной стороны, приводит к накоплению холестерина в субэндотелиальном слое, а с другой – увеличивает экспрессию провоспалительных цитокинов, являющихся характерными признаками начальной стадии атероматозного поражения [15; 24; 33; 37].

Относительно недавно было высказано предположение, что одним из потенциальных биомаркеров эндотелиальной дисфункции может выступать провоспалительный медиатор аngиопоэтин-подобный белок 2 (ANGPTL2), способствующий воспалению сосудов и атеросклерозу, в связи с тем, что его концентрация положительно коррелирует с тяжестью атеросклероза. ANGPTL2 продуцируется эндотелиоцитами и макрофагами, проникающими в атероматозные бляшки [6], способствует прогрессии воспалительного процесса в сосудах посредством сигнального пути ядерного фактора (NF)- κ B в эндотелиальных клетках и повышении хемотаксической активности клеток моноцитарного ряда [3].

При рассмотрении роли воспалительного процесса в прогрессии эндотелиальной дисфункции при метаболическом синдроме важным биомаркером является повышение упоминавшихся ранее трансмембранных гликозилированных молекул адгезии из семейства иммуноглобулинов: VCAM-1 и ICAM-1. Последняя, локализуясь на мембранах детритных, Т-клеток, макрофагов и др., регулирует адгезивные взаимодействия со стенкой сосуда. Транспортирует гранулоциты через эндотелиальный слой, повышает эффекторный потенциал Т – клеточного иммунного ответа, участвует в выведении патогенов, некротизированных клеток и апоптотических телец. Напрямую влияет на поляризацию макрофагов, формируя провоспалительный фенотип и увеличивая продукцию ими цитокинов: IL-10, TGF- α , и PGE2 [36]. Peres B. U. и др., показали, что повышение концентрации молекул адгезии ICAM – 1

увеличивало вероятность сердечно-сосудистых заболеваний в течение восьми лет наблюдения [42].

Еще одной молекулой адгезии применимой в качестве биомаркера является эндотелиальный селектин (Е - селектин), повышение уровня которого указывает на ранние стадии атеросклеротического поражения сосудистой стенки. Физиологическая роль Е - селектина заключается в привлечении и связывании лейкоцитов с эндотелием [42].

Отдельным биомаркером ЭД являются циркулирующие эндотелиальные клетки и микрочастицы, появляющиеся в кровотоке в результате апоптотических и некротических процессов. Также в качестве маркеров были предложены внеклеточные наноразмерные везикулы (EV), которые высвобождаются в систему кровообращения эндотелиальными клетками и тромбоцитами после апоптоза. В результате применения данных биомаркеров эндотелиальной дисфункции может стать возможным не только выявление патологии сердечно-сосудистой системы, но и определение её стадии [6].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящее время метаболический синдром является основной причиной развития сахарного диабета II типа и заболеваний сердечно-сосудистой системы. Клинически метаболический синдром чаще возникает у людей с эндотелиальной дисфункцией, гипертонией, дислипидемией, висцеральным ожирением и нарушением метаболизма глюкозы. В возникновении данной патологии наибольшую роль играют: образование окисленных липопротеинов низкой плотности, влияющих на уменьшение синтеза оксида азота и экспрессии eNOS; гипергликемия и, как следствие, возникновение клеточной гипоксии. Также увеличивается образование провоспалительных (IL-6, TNF- α , СРБ, VCAM-1, ICAM-1, Е - селектин, MCP - 1 и ANGPTL2) и протромботических (PAI-1, vWF и ЭТ - 1) агентов, пролиферация гладкомышечных клеток артерий и нарушение продукции веществ, выделяемых эндотелиоцитами. Отдельным биомаркером ЭД являются циркулирующие эндотелиальные клетки, микрочастицы и внеклеточные наноразмерные везикулы, появляющиеся в кровотоке в результате некротических процессов. Таким образом, понимание патофизиологии метаболических нарушений, их механизмов и связанных с ними осложнений облегчит разработку новых методов лечения и профилактики данных заболеваний. Выявление новых биомаркеров способствует стратификации риска развития заболеваний, разработке их лечения, влияющего непосредственно как на ме-

ханизмы возникновения патологии, так и на возможные осложнения.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare that there is no conflict of interest.

Финансирование. Исследования выполнено при финансовой поддержке ФГАОУ ВО «КФУ имени В. И. Вернадского» в рамках проекта МОЛ/2024/4.

Funding. The research was carried out with the financial support of the “V. I. Vernadsky CFU” within the framework of the project MOL/2024/4.

ЛИТЕРАТУРА

1. Marzoog, B. A. Recent advances in molecular biology of metabolic syndrome pathophysiology: endothelial dysfunction as a potential therapeutic. *J Diabetes Metab.* 2022;21(2):1903-1911. doi:10.1007/s40200-022-01088-y.
2. Jia G., Bai H., Mather B., et al. Diabetic Vasculopathy: Molecular Mechanisms and Clinical Insights. *International Journal of Molecular Science.* 2024;25(2):804. doi:10.3390/ijms25020804.
3. Gallo G., Savoia C. New Insights into Endothelial Dysfunction in Cardiometabolic Diseases: Potential Mechanisms and Clinical Implications. *Int J Mol Sci.* 2024. 25(2973):2973. doi:10.3390/ijms25052973.
4. Tran V., De Silva T. V., Sobey C. G., et al. The Vascular Consequences of Metabolic Syndrome: Rodent Models, Endothelial Dysfunction, and Current Therapies. *Front Pharmacol.* 2020;11(14):148. doi:10.3389/fphar.2020.00148.
5. Hu L., Ma L., Xia X., et al. Efficacy of Bariatric Surgery in the Treatment of Women With Obesity and Polycystic Ovary Syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2022;107(8):3217-3229. doi:10.1210/clinem/dgac294.
6. Zhang J. Biomarkers of endothelial activation and dysfunction in cardiovascular diseases. *Rev Cardiovasc.* 2022;23(2):73. doi:10.31083/j.rcm2302073.
7. Montemayor S., Mascaró C. M., Ugarriza L., et al. Adherence to Mediterranean Diet and NAFLD in Patients with Metabolic Syndrome: The FLIPAN Study. *Nutrients.* 2022;14(15):3186. doi:10.3390/nu14153186.
8. Šmíd V., Dvořák K., Šedivý P., et al. Effect of Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids on Lipid Metabolism in Patients With Metabolic Syndrome and NAFLD. *Hepatol Commun.* 2022;6(6):1336-1349. doi:10.1002/hep4.1906.
9. Bayraktar Z., Şahin C., Yıldırım S., et al. Metabolic Syndrome is Associated with Prostate Cancer Diagnosed on Biopsy but not the Gleason Score and the Number of Cancer-Positive Cores: A

- Prospective Controlled Study.. Arhivos Espanoles de Urologia. 2023;76(7):504-510. doi:10.56434/j.arch.esp.urol.20237607.62.
10. Santofimia C. P., Torcal C. P., Verdú H. L., et al. Evaluation of the efficacy of an antioxidant combination for the modulation of metabolic, endocrine, and clinical parameters in patients with polycystic ovary syndrome. Gynecological Endocrinology. 2023;39(1):2227277. doi:10.1080/09513590.2023.2227277.
 11. Данилова М. В., Усольцева Е. Н., Вереина Н. К. и др. Роль компонентов метаболического синдрома у женщин в периоде менопаузального перехода и постменопаузе. Медицинская наука и образование Урала. 2025;26(1):127-132. doi:10.36361/18148999_2025_26_1_127.
 12. Филиппов Ю. А., Степанов А. В., Шпаков А. О. и др. Электрокардиографические изменения у крыс с метаболическим синдромом и сахарным диабетом 2 типа. Сибирский научный медицинский журнал. 2025;45(1):129-138. doi:10.18699/SSMJ20250114.
 13. Das D., Shruthi N. R., Banerjee A. et al. Endothelial dysfunction, platelet hyperactivity, hypertension, and the metabolic syndrome: molecular insights and combating strategies. Nutrition. 2023;10:1221438. doi:10.3389/fnut.2023.1221438.
 14. Эргашева М. Т., Хайдаров С. Н. Оценка эндотелиальной дисфункции у больных с метаболическим синдромом. Экономика и социум. 2021;10(89):1235 - 1240.
 15. Gallo G., Savoia C. New Insights into Endothelial Dysfunction in Cardiometabolic Diseases: Potential Mechanisms and Clinical Implications. Int J Mol Sci. 2024;25(5):2973. doi:10.3390/ijms25052973.
 16. Furuta K., Tang X., Islam Sh. et al. Endotheliopathy in the metabolic syndrome: Mechanisms and clinical implications. Pharmacol Ther. 2023;244:108372. doi:10.1016/j.pharmthera.2023.108372.
 17. Потеряева О. Н., Усынин И. Ф. Молекулярные механизмы регуляторного действия липопротеинов высокой плотности на функции эндотелия. Биомедицинская химия. 2024;70(4):206-217. doi:10.18097/PBMC20247004206.
 18. Ilha A. O. G., Nunes V. S., Afonso M. S. et al. Phytosterols Supplementation Reduces Endothelin-1 Plasma Concentration in Moderately Hypercholesterolemic Individuals Independently of Their Cholesterol-Lowering Properties. Nutrients. 2020;12(5):1507. doi:10.3390/nu12051507.
 19. Тодиева А. М., Звартай Н. Э., Никитина И. Л. Характеристика и оценка эндотелиальной дисфункции у подростков с ожирением и сниженной обеспеченностью витамином D. Педиатрия. Consilium Medicum. 2022;1:46-52. doi:10.26442/26586630.2022.1.201334.
 20. Sabe Sh. A., Feng J., Sellke F. V., et al. Mechanisms and clinical implications of endothelium-dependent vasomotor dysfunction in coronary microvasculature. Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2022;322(5):819-841. doi:10.1152/ajpheart.00603.2021
 21. Cai M., Zhao D., Han X. et al The role of perivascular adipose tissue-secreted adipocytokines in cardiovascular disease. Front Immunol. 2023;26(14):1271051. doi:10.3389/fimmu.2023.1271051.
 22. Копьева К. В., Мальцева А. Н., Мочула А. В. и др. Роль маркеров эндотелиальной дисфункции в патогенезе коронарной микроваскулярной дисфункции у пациентов с необструктивным поражением коронарных артерий. Бюллетень сибирской медицины. 2024;23(3):49-58. doi:10.20538/1682-0363-2024-3-49-58.
 23. Ahmed A., Bibi A., Valoti M., et al. Perivascular Adipose Tissue and Vascular Smooth Muscle Tone: Friends or Foes? Cells. 2023;12(8):1196. doi:10.3390/cells12081196.
 24. Хидирова Л. Д. Коваленко В. В., Кузакова А. В. Периваскулярная жировая ткань и её роль в развитии сердечно-сосудистых заболеваний. Системные гипертензии. 2025;22(1):13-17. doi:10.38109/2075-082X-2025-1-13-17.
 25. Mashayekhi M., Beckman J. A., Nian H. et al. Comparative effects of weight loss and incretin-based therapies on vascular endothelial function, fibrinolysis and inflammation in individuals with obesity and prediabetes: A randomized controlled trial. Diabetes Obes Metab. 2023;25(2):570 - 580. doi:10.1111/dom.14903.
 26. Boumiza S., Chahed K., Tabka Z., et al. MMPs and TIMPs levels are correlated with anthropometric parameters, blood pressure, and endothelial function in obesity. Sci Rep. 2021;11(1):20052 doi:10.1038/s41598-021-99577-2.
 27. Schroder J., Michelsen M. M., Mygind N. D., et al Coronary flow velocity reserve predicts adverse prognosis in women with angina and no obstructive coronary artery disease: results from the iPOWER study. Eur Heart J. 2021;42(3):228-239. doi:10.1093/eurheartj/ehaa944.
 28. Софонов Е. А., Тапиров Д. А., Гурфинкель Ю. И. и др. Особенности микроциркуляции и эндотелиальной функции у здоровых людей и пациентов с кардиальной патологией. Смоленский медицинский альманах. 2024;4:140-143. doi:10.37903/SMA.2024.4.39.
 29. Ревенко Н. А., Каладзе Н. Н., Ревенко О. А. и др. Взаимосвязь уровня асимметричного диметиларгинина с метаболическими нарушениями и стадией артериальной гипертензии у детей.

Вестник современной клинической медицины. 2025;18(1):63-70. doi:10.20969/VSKM.

30. Babcock M. C., DuBose L. E., Witten T. L., et al. Oxidative Stress and Inflammation Are Associated With Age-Related Endothelial Dysfunction in Men With Low Testosterone. *J Clin Endocrinol Metabol.* 2022;107(2):500-514. doi:10.1210/clinem/dgab715.

31. Bui T. M., Wiesolek H. L., Sumagin R. ICAM-1: A master regulator of cellular responses in inflammation, injury resolution, and tumorigenesis. *J Leukoc Biol.* 2020;108(3):787-799. doi:10.1002/JLB.2MR0220-549R.

32. Farrah E. T., Melville V., Czopek A., et al. Arterial stiffness, endothelial dysfunction and impaired fibrinolysis are pathogenic mechanisms contributing to cardiovascular risk in ANCA-associated vasculitis. *Kidney Int.* 2022;102(5):1115-1126. doi:10.1016/j.kint.2022.07.026.

33. Церцвадзе Л. К., Авдеева М. В., Щеглова Л. В. и др. Показатели углеводного обмена и их связь с провоспалительными изменениями, структурно-функциональным состоянием сосудистой стенки и биомаркёрами эндотелиальной дисфункции у юношей в возрасте 18-21 года с абдоминальным ожирением. *Медицина: теория и практика.* 2023;8(1):28-34. doi:10.56871/MTP.2023.31.62.003.

34. Dural I. E., Onrat E., Çelik S. et al. The Relationships Between Chocolate Consumption and Endothelial Dysfunction in Patients with Heart Failure. *Turk Kardiyol Dern Ars.* 2022;50(5):334-339. doi:10.5543/tkda.2022.21249.

35. Чередниченко В. Р., Хованцева У. С., Кузьмин В. В. и др. Моделирование процессов трансэндотелиального транспорта лпнп и миграции макрофагов. *Российский иммунологический журнал.* 2024;27(3):499-504. doi:10.46235/1028-7221-16678-MTP.

36. Тимофеев Ю. С., Михайлова М. А., Джинеева О. Н. и др. Значение биологических маркеров в оценке эндотелиальной дисфункции. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика.* 2024;23(9):113-119. doi:10.15829/1728-8800-2024-4061.

37. Masenga S. K., Kabwe L. S., Chakulya M. et al. Mechanisms of Oxidative Stress in Metabolic Syndrome. *Int J Mol Sci.* 2023;24(9):7898. doi:10.3390/ijms24097898.

38. Hagemann A., Watanabe M. T., Hueb J. C., et al. Assessment of atherosclerosis and endothelial dysfunction risk factors in patients with primary glomerulonephritis. *Brazilian Journal of Nephrology.* 2024;46(1):29-38. doi:10.1590/2175-8239-JBN-2022-0116enlinkcopy.

39. Просекин Г. А., Ким В. Н. Дисфункция эндотелия и нарушение микроциркуляции у юных спортсменов как проявление синдрома

перенапряжения: методы оценки и коррекция специализированными продуктами на основе апикомпонентов. *Регионарное кровообращение и микроциркуляция.* 2025;24(1):14-23. doi:10.24884/1682-6655-2025-24-1-14-23.

40. García-Sáenz M. R., Ferreira-Hermosillo A., Lobaton-Ginsberg M. Proinflammatory cytokines in polycystic ovarian syndrome. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc.* 2022;60(5):569-576.

41. Yilmaz M. I. Romano M., Basarali M. K. et al. The Effect of Corrected Inflammation, Oxidative Stress and Endothelial Dysfunction on Fmd Levels in Patients with Selected Chronic Diseases: A Quasi-Experimental Study. *Scientific reports.* 2020;10(1):9081. doi:10.1038/s41598-020-65528-6.

42. Peres B. U., Allen A. J., Danielle P. et al. Circulating levels of cell adhesion molecules and risk of cardiovascular events in obstructive sleep apnea. *PLoS One.* 2021;16(7):e0255306. doi:10.1371/journal.pone.0255306.

REFERENCES

1. Marzoog, B. A. Recent advances in molecular biology of metabolic syndrome pathophysiology: endothelial dysfunction as a potential therapeutic. *J Diabetes Metab.* 2022;21(2):1903-1911. doi:10.1007/s40200-022-01088-y
2. Jia G., Bai H., Mather B., et al. Diabetic Vasculopathy: Molecular Mechanisms and Clinical Insights. *International Journal of Molecular Science.* 2024;25(2):804. doi:10.3390/ijms25020804.
3. Gallo G., Savoia C. New Insights into Endothelial Dysfunction in Cardiometabolic Diseases. Potential Mechanisms and Clinical Implications: *Int J Mol Sci.* 2024; 25(2973):2973. doi:10.3390/ijms25052973.
4. Tran V., De Silva T. V., Sobey C. G., et al. The Vascular Consequences of Metabolic Syndrome. Rodent Models, Endothelial Dysfunction, and Current Therapies: *Front Pharmacol.* 2020;11(14):148. doi:10.3389/fphar.2020.00148.
5. Hu, L., Ma L., Xia X., et al. Efficacy of Bariatric Surgery in the Treatment of Women With Obesity and Polycystic Ovary Syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2022;107(8):3217-3229. doi:10.1210/clinem/dgac294.
6. Zhang, J. Biomarkers of endothelial activation and dysfunction in cardiovascular diseases. *Rev Cardiovasc.* 2022;23(2):73. doi:10.31083/j.rcm2302073.
7. Montemayor, S., Mascaró C. M., Ugarriza L., et al. Adherence to Mediterranean Diet and NAFLD in Patients with Metabolic Syndrome: The FLIPAN Study. *Nutrients.* 2022;14(15):3186. doi:10.3390/nu14153186.
8. Šmid V., Dvořák K., Šedivý P., et al. Effect of Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids on Lipid

- Metabolism in Patients With Metabolic Syndrome and NAFLD. *Hepatol Commun.* 2022;6(6):1336-1349. doi:10.1002/hep4.1906
9. Bayraktar Z., Şahin C., Yıldırım S., et al. Metabolic Syndrome is Associated with Prostate Cancer Diagnosed on Biopsy but not the Gleason Score and the Number of Cancer-Positive Cores. A Prospective Controlled Study: Arhivos Espanoles de Urologia. 2023;76(7):504-510. doi:10.56434/j.arch.esp.urol.20237607.62.
 10. Santofimia C. P., Torcal C. P., Verdú H. L., et al. Evaluation of the efficacy of an antioxidant combination for the modulation of metabolic, endocrine, and clinical parameters in patients with polycystic ovary syndrome. *Gynecological Endocrinology.* 2023;39(1):2227277. doi:10.1080/09513590.2023.2227277.
 11. Danilova M. V., Usoltseva E. N., Vereina N. K., et al. The role of the components of metabolic syndrome in women during menopausal transition and postmenopause. *Medical science and education of the Urals.* 2025;26(1):127-132. doi:10.36361/18148999_2025_26_1_127. (In Russ.).
 12. Filippov Yu. A., Stepanov A. V., Shpakov A. O., et al. Electrocardiographic changes in rats with metabolic syndrome and type 2 diabetes mellitus. *Siberian Scientific Medical.* 2025;45(1):129-138. doi:10.18699/SSMJ20250114. (In Russ.).
 13. Das D., Shruthi N. R., Banerjee A., et al. Endothelial dysfunction, platelet hyperactivity, hypertension, and the metabolic syndrome: molecular insights and combating strategies. *Nutrition.* 2023;10:1221438. doi:10.3389/fnut.2023.1221438.
 14. Ergasheva M. T., Khaidarov S. N. Assessment of endothelial dysfunction in patients with metabolic syndrome. *Economics and society.* 2021;10(89):1235-1240. (In Russ.).
 15. Gallo G., Savoia C. New Insights into Endothelial Dysfunction in Cardiometabolic Diseases. Potential Mechanisms and Clinical Implications: *Int J Mol Sci.* 2024;25(5):2973. doi:10.3390/ijms25052973.
 16. Furuta K., Tang X., Islam Sh., et al. Endotheliopathy in the metabolic syndrome: Mechanisms and clinical implications. *Pharmacol Ther.* 2023;244:108372. doi:10.1016/j.pharmthera.2023.108372.
 17. Poteryaeva O. N., Usynin I. F. Molecular mechanisms of regulatory action of high-density lipoproteins on endothelial functions. *Biomedical chemistry.* 2024;70(4):206-217. (In Russ.). doi:10.18097/PBMC20247004206.
 18. Ilha A. O. G., Nunes V. S., Afonso M. S., et al. Phytosterols Supplementation Reduces Endothelin-1 Plasma Concentration in Moderately Hypercholesterolemic Individuals Independently of Their Cholesterol-Lowering Properties. *Nutrients.* 2020;12(5):1507. doi:10.3390/nu12051507.
 19. Todieva A. M., Zvartau N. E., Nikitina I. L. Characteristics and assessment of endothelial dysfunction in obese adolescents with reduced vitamin D supply. *Pediatrics. Consilium Medicum.* 2022;1:46-52. (In Russ.). doi:10.26442/26586630.2022.1.201334.
 20. Sabe Sh. A., Feng J., Sellke F. V., et al. Mechanisms and clinical implications of endothelium-dependent vasomotor dysfunction in coronary microvasculature. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2022;322(5):819-841. doi:10.1152/ajpheart.00603.2021.
 21. Cai M., Zhao D., Han X., et al. The role of perivascular adipose tissue-secreted adipocytokines in cardiovascular disease. *Front Immunol.* 2023;26(14):1271051. doi:10.3389/fimmu.2023.1271051.
 22. Kopyeva K. V., Maltseva A. N., Machula A. V., et al. The role of markers of endothelial dysfunction in the pathogenesis of coronary microvascular dysfunction in patients with non-obstructive coronary artery disease. *Bulletin of Siberian Medicine.* 2024;23(3):49-58. (In Russ.). doi:10.20538/1682-0363-2024-3-49-58.
 23. Ahmed A., Bibi A., Valoti M., et al. Perivascular Adipose Tissue and Vascular Smooth Muscle Tone: Friends or Foes? *Cells.* 2023;12(8):1196. doi:10.3390/cells12081196.
 24. Khidirova L. D., Kovalenko V. V., Kazakova A. V. Perivascular adipose tissue and its role in the development of cardiovascular diseases. Systemic hypertension. 2025;22(1):13-17. (In Russ.). doi:10.38109/2075-082X-2025-1-13-17.
 25. Mashayekhi M., Beckman J. A., Nian H., et al. Comparative effects of weight loss and incretin-based therapies on vascular endothelial function, fibrinolysis and inflammation in individuals with obesity and prediabetes: A randomized controlled trial. *Diabetes Obes Metab.* 2023;25(2):570-580. doi:10.1111/dom.14903.
 26. Boumiza S., Chahed K., Tabka Z., et al. MMPs and TIMPs levels are correlated with anthropometric parameters, blood pressure, and endothelial function in obesity. *Sci Rep.* 2021;11(1):20052. doi:10.1038/s41598-021-99577-2.
 27. Schroder J., Michelsen M. M., Mygind N. D., et al. Coronary flow velocity reserve predicts adverse prognosis in women with angina and no obstructive coronary artery disease: results from the iPOWER study. *Eur Heart J.* 2021;42(3):228-239. doi:10.1093/euroheartj/ehaa944.
 28. Sofronov E. A., Tapirov D. A., Gurinkel Yu. I., et al. Features of microcirculation and endothelial function in healthy people and patients with cardiac

- pathology. Smolensk Medical Almanac. 2024;4:140-143. (In Russ.). doi:10.37903/SMA.2024.4.39.
29. Revenko N. A., Kaladze N. N., Revenko O. A., et al. The relationship of the level of asymmetric dimethylarginine with metabolic disorders and the stage of arterial hypertension in children. Bulletin of modern Clinical Medicine. 2025;18(1):63-70. (In Russ.). doi:10.20969/VSKM.
30. Babcock M. C., DuBose L. E., Witten T. L., et al. Oxidative Stress and Inflammation Are Associated With Age-Related Endothelial Dysfunction in Men With Low Testosterone.. J Clin Endocrinol Metabol. 2022;107(2):500-514. doi:10.1210/clinem/dgab715.
31. Bui T. M., Wiesolek H. L., Sumagin R. ICAM-1: A master regulator of cellular responses in inflammation, injury resolution, and tumorigenesis: J Leukoc Biol. 2020;108(3):787-799. doi:10.1002/JLB.2MR0220-549R.
32. Farrah E. T., Melville V., Czopek A., et al. Arterial stiffness, endothelial dysfunction and impaired fibrinolysis are pathogenic mechanisms contributing to cardiovascular risk in ANCA-associated vasculitis. Kidney Int. 2022;102(5):1115-1126. doi:10.1016/j.kint.2022.07.026.
33. Tservadze L. K., Avdeeva M. V., Shcheglova L. V., et al. Indicators of carbohydrate metabolism and their relationship to pro-inflammatory changes, structural and functional state of the vascular wall and biomarkers of endothelial dysfunction in 18-21 year old boys with abdominal obesity. Medicine: theory and practice. 2023;8(1):28-34. (In Russ.). doi:10.56871/MTP.2023.31.62.003.
34. Dural I. E., Onrat E., Çelik S., et al. The Relationships Between Chocolate Consumption and Endothelial Dysfunction in Patients with Heart Failure. Turk Kardiyol Dern Ars. 2022;50(5):334-339. doi:10.5543/tkda.2022.21249.
35. Cherednichenko V. R., Khovantseva U. S., Kuzmin V. V., et al. Modeling of the processes of transendothelial LDL transport and macrophage migration. Russian Journal of Immunology.
- 2024;27(3):499-504. (In Russ.). doi:10.46235/1028-7221-16678-MTP.
36. Timofeev Yu. S., Mikhailova M. A., Dzhioeva O. N. The importance of biological markers in the assessment of endothelial dysfunction. Cardiovascular therapy and prevention. 2024;23(9):113-119. (In Russ.). doi:10.15829/1728-8800-2024-4061.
37. Masenga S. K., Kabwe L. S., Chakulya M., et al. Mechanisms of Oxidative Stress in Metabolic Syndrome. Int J Mol Sci. 2023;24(9):7898. doi:10.3390/ijms24097898.
38. Hagemann A., Watanabe M. T., Hueb J. C., et al. Assessment of atherosclerosis and endothelial dysfunction risk factors in patients with primary glomerulonephritis. Brazilian Journal of Nephrology. 2024;46(1):29-38. doi:10.1590/2175-8239-JBN-2022-0116enlinkcopy.
39. Prosekin G. A., Kim V. N. Endothelial dysfunction and microcirculation disorders in young athletes as a manifestation of overexertion syndrome: assessment methods and correction with specialized products based on apicomponents. Regional blood circulation and microcirculation. 2025;24(1):14-23. (In Russ.). doi:10.24884/1682-6655-2025-24-1-14-23.
40. García-Sáenz M. R., Ferreira-Hermosillo A., Lobaton-Ginsberg M. Proinflammatory cytokines in polycystic ovarian syndrome. Rev Med Inst Mex Seguro Soc. 2022;60(5):569-576.
41. Yilmaz M. I. Romano M., Basarali M. K., et al. The Effect of Corrected Inflammation, Oxidative Stress and Endothelial Dysfunction on FMD Levels in Patients with Selected Chronic Diseases. A Quasi-Experimental Study: Scientific reports. 2020;10(1):9081. doi:10.1038/s41598-020-65528-6.
42. Peres B. U., Allen A. J., Danielle P., et al. Circulating levels of cell adhesion molecules and risk of cardiovascular events in obstructive sleep apnea. PLoS One. 2021;16(7):e0255306. doi:10.1371/journal.pone.0255306.

Подписано в печать: 28.10.2025 г.

Дата выхода в свет:

Формат 60x84/8. Печать офсетная.

Усл. печ. л. 8,5. Тираж 27 экземпляров.

Распространяется бесплатно.

Отпечатано в Издательском доме

ФГАОУ ВО «КФУ им. В. И. Вернадского»

Адрес типографии: 295051, г. Симферополь, бульвар Ленина 5/7