



FUNDAMENTAL AND CLINICAL MEDICINE

2022 | TOM 7, № 3 | VOL. 7, № 3

# ФУНДАМЕНТАЛЬНАЯ И КЛИНИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА

РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

16+

DOI 10.23946/2500-0764-2022-7-3

Журнал зарегистрирован в Федеральной службе по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций (Роскомнадзор), свидетельство о регистрации ПИ №ФС77-65159 от 28 марта 2016 г.

Журнал основан в 2016 г.

**Учредитель:**

федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Кемеровский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 650056, Кемеровская область, г. Кемерово, ул. Ворошилова, д. 22а

ISSN 2500-0764 (Print)

ISSN 2542-0941 (Online)

**Адрес редакции и издателя:**  
650056, Кемеровская область, г. Кемерово, ул. Ворошилова, д. 22а,  
Тел./факс: (3842) 73-48-56,  
e-mail: journal\_author@kemsma.ru

**Адрес типографии:** 650024, Кемеровская область, г. Кемерово, ул. Сибирская, д.35а, ООО «Принт», тел. (3842) 35-21-19

Периодичность: 4 раза в год.

Подписано в печать 28.09.2022 г.  
Дата выхода в свет 30.09.2022 г.

Печать офсетная.  
Тираж 950 шт.  
Заказ № 985.

Решением Высшей аттестационной комиссии (ВАК) Министерства образования и науки РФ научно-практический рецензируемый журнал «Фундаментальная и клиническая медицина» включен в Перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий, выпускаемых в Российской Федерации, в которых рекомендована публикация основных результатов диссертационных исследований на соискание ученых степеней кандидата и доктора наук по следующим специальностям:

3.1.4. Акушерство и гинекология

3.1.18. Внутренние болезни

3.1.20. Кардиология

3.2.1. Гигиена

3.2.2. Эпидемиология

3.3.3. Патологическая физиология (медицинские науки).

Полная версия журнала в электронном виде доступна на сайте Российской электронной библиотеки ([www.elibrary.ru](http://www.elibrary.ru))

Распространяется по подписке.

Подписной индекс П3593 в каталоге «Почта России», 80843 в каталоге «Роспечать».

Свободная цена

## Журнал «Фундаментальная и клиническая медицина»

### Главный редактор

- **Брусина Елена Борисовна**, член-корреспондент РАН, д.м.н., профессор; ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заведующая кафедрой эпидемиологии, инфекционных болезней и дерматовенерологии, г. Кемерово, РФ

### Редакционная коллегия

- **Абу-Абдаллах Мишель**, доктор медицины; Ближневосточная клиника фертильности, директор, Ливан
- **Акимкин Василий Геннадьевич**, академик РАН, д.м.н., профессор; ФБун «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Роспотребнадзора, директор, г. Москва, РФ
- **Алешкин Андрей Владимирович**, член-корреспондент РАН, д.б.н., к.м.н., профессор РАН; ФБун «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Г.Н. Габричевского» Роспотребнадзора, зам. директора по медицинской биотехнологии, г. Москва, РФ
- **Артымук Наталья Владимировна**, д.м.н., профессор; ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заведующая кафедрой акушерства и гинекологии имени профессора Г.А. Ушаковой, г. Кемерово, РФ
- **Барбараш Леонид Семенович**, академик РАН, д.м.н., профессор; ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», главный научный сотрудник, г. Кемерово, РФ
- **Барбараш Ольга Леонидовна**, академик РАН, д.м.н., профессор; ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», директор, г. Кемерово, РФ
- **Белокриницкая Татьяна Евгеньевна**, д.м.н., профессор, ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заведующая кафедрой акушерства и гинекологии факультета повышения квалификации и постдипломной подготовки специалистов, г. Чита, РФ
- **Ботвинкин Александр Дмитриевич**, д.м.н., профессор; ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заведующий кафедрой эпидемиологии, г. Иркутск, РФ
- **Брико Николай Иванович**, заслуженный деятель науки РФ, академик РАН, д.м.н., профессор; ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский университет), директор института общественного здоровья, заведующий кафедрой эпидемиологии и доказательной медицины, г. Москва, РФ
- **Бухтияров Игорь Валентинович**, заслуженный деятель науки РФ, академик РАН, д.м.н., профессор; ФГБНУ «Научно-исследовательский институт медицины труда имени академика Н.Ф. Измерова», директор, г. Москва, РФ
- **Гончаров Артемий Евгеньевич**, д.м.н., доцент, ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», заведующий лабораторией функциональной геномики и протеомики микроорганизмов, г. Санкт-Петербург, РФ
- **Григорьев Евгений Валерьевич**, д.м.н., профессор; ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», заместитель директора по научной и лечебной работе, г. Кемерово, РФ
- **Злобин Владимир Игоревич**, заслуженный деятель науки РФ, академик РАН, д.м.н., профессор; ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заведующий кафедрой микробиологии, вирусологии и иммунологии, г. Иркутск, РФ
- **Занько Сергей Николаевич**, заслуженный деятель науки, д.м.н., профессор; УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», заведующий кафедрой акушерства и гинекологии, г. Витебск, Республика Беларусь
- **Ивойлов Валерий Михайлович**, д.м.н., профессор; ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, президент, г. Кемерово, РФ

- **Кира Евгений Федорович**, заслуженный деятель науки РФ, д.м.н., профессор; ФГБУ «Национальный медико-хирургический центр им. Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заведующий кафедрой женских болезней и репродуктивного здоровья, г. Москва, РФ
- **Коськина Елена Владимировна**, д.м.н., профессор; ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, проректор по учебной работе, заведующая кафедрой гигиены, г. Кемерово, РФ
- **Крамер Аксель**, профессор; медицинский университет Грайсвальда, институт гигиены и медицинской экологии, г. Грайсвальд, Германия
- **Кувшинов Дмитрий Юрьевич**, д.м.н., доцент; ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заведующий кафедрой нормальной физиологии имени профессора Н.А. Барбараш, г. Кемерово, РФ (**научный редактор**)
- **Куркин Владимир Александрович**, д.фарм.н., профессор; ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заведующий кафедрой фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии, г. Самара, РФ
- **Леванова Людмила Александровна**, д.м.н., доцент; ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заведующая кафедрой микробиологии, иммунологии, вирусологии, г. Кемерово, РФ (**ответственный секретарь**)
- **Лех Медард**, профессор; исследовательский центр фертильности и бесплодия, г. Варшава, Польша
- **Медведев Михаил Андреевич**, заслуженный деятель науки РФ, академик РАН, д.м.н., профессор; ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заведующий кафедрой нормальной физиологии, г. Томск, РФ
- **Начева Любовь Васильевна**, д.б.н., профессор, ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заведующая кафедрой биологии с основами генетики и паразитологии, г. Кемерово, РФ
- **Попонникова Татьяна Владимировна**, д.м.н., профессор; ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, ректор, г. Кемерово, РФ (**заместитель главного редактора**)
- **Потеряева Елена Леонидовна**, д.м.н., профессор; ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заведующая кафедрой неотложной терапии с эндокринологией и профпатологией факультета повышения квалификации и профессиональной переподготовки врачей, проректор по лечебной работе, г. Новосибирск, РФ
- **Радзинский Виктор Евсеевич**, член-корреспондент РАН, д.м.н., профессор; ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», заведующий кафедрой акушерства и гинекологии с курсом перинатологии, г. Москва, РФ
- **Рудаков Николай Викторович**, д.м.н., профессор; ФБУН «Омский НИИ природно-очаговых инфекций» Роспотребнадзора, директор, г. Омск, РФ
- **Салмина Алла Борисовна**, д.м.н., профессор; ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения Российской Федерации, главный научный сотрудник НИИ молекулярной медицины и патобиохимии, г. Красноярск, РФ; ФГБНУ «Научный центр неврологии мозга», главный научный сотрудник и заведующий лабораторией экспериментальной нейробиологии отдела исследований мозга, г. Москва, РФ
- **Сидоренко Сергей Владимирович**, член-корреспондент РАН, д.м.н., профессор; ФГБУ «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней Федерального медико-биологического агентства», заведующий научно-исследовательским отделом медицинской микробиологии и молекулярной эпидемиологии, г. Санкт-Петербург, РФ
- **Цубке Вольфганг**, приват-доцент, Университет Тюбингена, медицинский факультет, Тюбинген, Германия
- **Цуканов Владислав Владимирович**, д.м.н., профессор; ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук», Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера Министерства образования и науки Российской Федерации, заведующий клиническим отделением патологии пищеварительной системы у взрослых и детей, г. Красноярск, РФ
- **Шиндлер Адольф**, профессор; Университет Эссена, институт медицинских исследований и образования, отдел акушерства и гинекологии, директор, г. Эссен, Германия
- **Уразова Ольга Ивановна**, член-корреспондент РАН, д.м.н., профессор; ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заведующая кафедрой патологической физиологии, г. Томск, РФ
- **Эл-Джефут Моамар**, доцент; Университет Муты, доцент кафедры акушерства и гинекологии, Карак, Иордания
- **Эльнашар Абуабакр**, профессор, университет Бенхи, Бенха, Египет
- **Яковлев Сергей Владимирович**, д.м.н., профессор; ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский университет), профессор кафедры госпитальной терапии №2 лечебного факультета, г. Москва, РФ

DOI 10.23946/2500-0764-2022-7-3

The Journal is officially registered in the Federal Service for Supervision of Communications, Information Technology, and Mass Media (Roskomnadzor), registration certificate PO №FS77-65159 from 2016/03/28.

Journal was founded in 2016.

**Founder:** Kemerovo State Medical University, 22a, Voroshilova Street, Kemerovo, Kemerovo Region, 650056, Russian Federation

ISSN 2500-0764 (Print)  
ISSN 2542-0941 (Online)

**Editorial/Publisher Address:**

22a, Voroshilova Street, Kemerovo, Kemerovo Region, 650056, Russian Federation  
Phone: +7 (3842) 73-48-56, e-mail: journal\_author@kemsma.ru

**Printing House Address:**

35a, Sibirsкая Street, Kemerovo, Kemerovo Region, 650024, Russian Federation, LLC "Print", phone: (3842) 35-21-19

The Journal is published quarterly.

Signed and confirmed for publication on 2022/09/28  
Published on 2022/09/30

Offset printing, 950 copies.  
Order № 985.

The Journal is included in the List of peer-reviewed research journals recommended by Higher Education Committee of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation in the following research fields:

**3.1.4. Obstetrics and Gynecology****3.1.18. Internal Medicine****3.1.20. Cardiology****3.2.1. Hygiene****3.2.2. Epidemiology****3.3.3. Pathophysiology (Medical Sciences)**

The Journal is entirely available at the official site of Scientific Electronic Library (www.elibrary.ru)

Subscription-based distribution.

Subscription index  
P3593 (Russian Post catalogue),  
80843 («Rospechat» catalogue).

Free Price

## Fundamental and Clinical Medicine

### Editor-in-Chief

- **Elena B. Brusina**, MD, DSc, Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences; Kemerovo State Medical University, Head of the Department of Epidemiology, Infectious diseases and Dermatovenerology, Kemerovo (Russian Federation)

### Editorial Board

- **Michel Abou Abdallah**, MD; Middle East Fertility Clinic, Medical Director, Beirut (Lebanon)
- **Vasiliy G. Akimkin**, MD, DSc, Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences; Central Research Institute of Epidemiology, Chief Executive Officer, Moscow (Russian Federation)
- **Andrey V. Aleshkin**, DSc, Professor of the Russian Academy of Sciences, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences; Moscow Research Institute of Epidemiology and Microbiology named after G.N. Gabrichevsky, Deputy Director for Medical Biotechnology, Moscow (Russian Federation)
- **Moamar Al-Jefout**, MD, PhD; University of Mutah, Department of Obstetrics and Gynecology, Associate Professor, Karak (Jordan)
- **Natalia V. Artymuk**, MD, DSc, Professor; Kemerovo State Medical University, Head of the Department of Obstetrics and Gynecology, Kemerovo (Russian Federation)
- **Leonid S. Barbarash**, MD, DSc, Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences; Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases, Chief Research Officer, Kemerovo (Russian Federation)
- **Olga L. Barbarash**, MD, DSc, Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences; Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases, Chief Executive Officer, Kemerovo (Russian Federation)
- **Tatiana E. Belokrinskaya**, MD, DSc, Professor; Chita State Medical Academy, Head of the Department of Obstetrics and Gynecology, Chita, (Russian Federation)
- **Alexandr D. Botvinkin**, MD, DSc, Professor; Irkutsk State Medical University, Head of the Department of Epidemiology, Irkutsk (Russian Federation)
- **Nikolay I. Briko**, MD, DSc, Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, Sechenov First Moscow State Medical University, Head of the Institute of Public Health and the Department of Epidemiology and Evidence-based Medicine, Moscow (Russian Federation)
- **Igor V. Bukhtiyarov**, MD, DSc, Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences; Izmerov Research Institute of Occupational Health, Chief Executive Officer, Moscow (Russian Federation)
- **Aboubakr M. Elnashar**, MD, PhD, Professor; Benha University, Department of Obstetrics and Gynecology, Benha (Egypt)
- **Artemy E. Goncharov**, MD, DSc, Associate Professor, Institute of experimental medicine, Head of Laboratory of Functional Genomics and Proteomics of Microorganisms, Saint-Petersburg, (Russian Federation)
- **Evgeniy V. Grigoriev**, MD, DSc, Professor; Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases, Deputy Chief Executive Officer, Kemerovo (Russian Federation)
- **Valeriy M. Ivoylov**, MD, DSc, Professor; Kemerovo State Medical University, President, Kemerovo (Russian Federation)
- **Evgeniy F. Kira**, MD, DSc, Professor; Pirogov National Medical and Surgical Center, Head of the Department of Women's Diseases and Reproductive Health, Moscow (Russian Federation)

- **Lyudmila A. Levanova**, MD, DSc; Kemerovo State Medical University, Head of the Department of Microbiology, Immunology and Virology, **Deputy Editor-in-Chief**, Kemerovo (Russian Federation)
- **Axel Kramer**, MD, PhD, Professor; Ernst Moritz Arndt University Institute of Hygiene and Environmental Medicine, Greifswald (Germany)
- **Elena V. Kos'kina**, MD, DSc, Professor; Kemerovo State Medical University, Deputy Chief Executive Officer, Kemerovo (Russian Federation)
- **Dmitriy Y. Kuvshinov**, MD, DSc; Kemerovo State Medical University, Head of the Professor N.A. Barbarash Department of Normal Physiology, **Deputy Editor-in-Chief**, Kemerovo (Russian Federation)
- **Vladimir A. Kurkin**, MD, DSc, Professor; Samara State Medical University, Head of the Department of Pharmacognosy, Botany and Phytotherapy, Samara (Russian Federation)
- **Medard Lech**, MD, PhD, Professor; Fertility and Sterility Research Center, Chief Executive Officer, Warsaw (Poland)
- **Mikhail A. Medvedev**, MD, DSc, Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences; Siberian State Medical University, Head of the Department of Physiology, Tomsk (Russian Federation)
- **Lyubov V. Nacheva**, MD, DSc, Professor; Kemerovo State Medical University, Head of the Department of Biology, Genetics and Parasitology, Kemerovo (Russian Federation)
- **Tatiana V. Poponnikova**, MD, DSc, Professor; Kemerovo State Medical University, Chief Executive Officer, **Deputy Editor-in-Chief**, Kemerovo (Russian Federation)
- **Elena L. Poteryaeva**, MD, DSc, Professor; Novosibirsk State Medical University, Head of the Department of Emergency Therapy, Endocrinology and Occupational Medicine, Deputy Chief Executive Officer, Novosibirsk (Russian Federation)
- **Viktor E. Radzinskiy**, MD, DSc, Professor; Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences; Peoples' Friendship University of Russia, Head of the Department of Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Moscow (Russian Federation)
- **Nikolay V. Rudakov**, MD, DSc, Professor; Research Institute of Zoonoses, Chief Executive Officer, Omsk (Russian Federation)
- **Alla B. Salmina**, MD, DSc, Professor, Voino-Yasenetskiy Krasnoyarsk State Medical University, Head of The Department of Biochemistry, Medical, Pharmaceutical, and Toxicological Chemistry, Research Institute of Molecular Medicine and Pathobiochemistry, Krasnoyarsk (Russian Federation); Research Center of Neurology, Brain Research Department, Laboratory of Experimental Neurocytology, Head and Chief Research Officer, Moscow (Russian Federation)
- **Sergey V. Sidorenko**, MD, DSc, Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences; Head of Medical Microbiology and Molecular Epidemiology Department of Children's Scientific and Clinical Center for Infectious Diseases of the Federal Medical-Biological Agency, Saint-Petersburg (Russian Federation)
- **Adolf Schindler**, MD, PhD, Professor; University of Essen, Institute for Medical Research and Education, Department of Obstetrics and Gynecology, Chief Executive Officer, Essen (Germany)
- **Olga I. Urazova**, MD, DSc, Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences; Siberian State Medical University, Head of the Department of Pathophysiology, Tomsk (Russian Federation)
- **Sergey V. Yakovlev**, MD, DSc, Professor; Sechenov First Moscow State Medical University, Department of Internal Diseases #2, Moscow (Russian Federation)
- **Sergey N. Zan'ko**, MD, DSc, Professor; Vitebsk State Medical University, Head of the Department of Obstetrics and Gynecology, Vitebsk (Republic of Belarus)
- **Vladimir I. Zlobin**, MD, DSc, Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences; Irkutsk State Medical University, Head of the Department of Microbiology, Virology and Immunology and the Department of Clinical Laboratory Diagnostics, Irkutsk (Russian Federation)
- **Wolfgang Zubke**, MD, PhD; University of Tübingen, University Clinic, Medical Faculty, Associate Professor, Tübingen, (Germany)
- **Vladislav V. Tsukanov**, MD, DSc, Professor; Research Institute for Medical Problems in The North, Head of the Digestive Diseases Unit, Krasnoyarsk (Russian Federation)

# СОДЕРЖАНИЕ

КОЛОНКА РЕДАКТОРА	с. 7
<b>ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ</b>	
<b>Шулепов А.В., Шперлинг М.И., Юркевич Ю.В., Шперлинг Н.В., Минаева Л.В.</b> СИСТЕМНАЯ ВОСПАЛИТЕЛЬНАЯ РЕАКЦИЯ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ВЗРЫВНОЙ РАНЕ (г. Санкт-Петербург, Россия)	с. 8
<b>Четверяков А.В., Цепелев В.Л.</b> ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ТРАНСФОРМИРУЮЩЕГО ФАКТОРА РОСТА $\beta 1$ У БОЛЬНЫХ КОЛОРЕКТАЛЬНЫМ РАКОМ (г. Чита, Россия)	с. 17
<b>Шабалдин Н.А., Шабалдин А.В., Попова Н.Е., Постникова А.В., Богданов Л.А., Цепокина А.В.</b> ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МОДЕЛЬ АСЕПТИЧЕСКОГО НЕКРОЗА ГОЛОВКИ БЕДРЕННОЙ КОСТИ ПРИ ИЗУЧЕНИИ БОЛЕЗНИ ЛЕГГА-КАЛЬВЕ-ПЕРТЕСА (г. Кемерово, Россия)	с. 23
<b>Кузнецова О.М., Марченко А.Н.</b> ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ ВНУТРИУТРОБНЫМИ ИНФЕКЦИЯМИ НОВОРОЖДЕННЫХ В ОТДЕЛЕНИИ РЕАНИМАЦИИ И ИНТЕНСИВНОЙ ТЕРАПИИ НОВОРОЖДЕННЫХ ЗА МНОГОЛЕТНИЙ ПЕРИОД (г. Тюмень, Россия)	с. 31
<b>Леванова Л.А., Захарова Ю.В., Марковская А.А., Отдушкина Л.Ю.</b> ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К БАКТЕРИОФАГАМ УСЛОВНО-ПАТОГЕННОЙ МИКРОБИОТЫ ПРИ МИКРОЭКОЛОГИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЯХ КИШЕЧНИКА У ДЕТЕЙ ГОРОДА КЕМЕРОВО (г. Кемерово, Россия)	с. 40
<b>Киселева Е.А., Махмутходжаев А.Ш., Михеенко Г.А.</b> АНТИОКСИДАНТЫ В КОМПЛЕКСНОЙ ТЕРАПИИ КРАУРОЗА ВУЛЬВЫ (г. Томск, Россия)	с. 46
<b>ОБЗОРНЫЕ СТАТЬИ</b>	
<b>Багандова К.М., Зулкарнеев Э.Р., Киселева И.А., Мизаева Т.Э., Воробьев А.М., Ефимова О.Г., Медведовская М.П., Пасивкина М.А., Алешкин А.В.</b> СОЗДАНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИ МОДИФИЦИРОВАННЫХ БАКТЕРИОФАГОВ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ИНФЕКЦИЙ, ВЫЗВАННЫХ ПОЛИРЕЗИСТЕНТНЫМИ БАКТЕРИЯМИ (ОБЗОР) (г. Москва, Россия)	с. 54
<b>Задворнов А.А., Григорьев Е. В.</b> ВНЕЦЕРЕБРАЛЬНЫЕ ПРОЯВЛЕНИЯ ОСТРОЙ ЦЕРЕБРАЛЬНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ У ПАЦИЕНТОВ В КРИТИЧЕСКОМ СОСТОЯНИИ (г. Кемерово, Россия)	с. 64
<b>Кобылянский В.И.</b> ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ИММУНОСУПРЕССОРОВ И ИХ АЭРОЗОЛЬНОЙ ДОСТАВКИ В ЛЕГКИЕ ПРИ ЛЕЧЕНИИ COVID-19 (АНАЛИТИЧЕСКИЙ ОБЗОР) (г. Москва, Россия)	с. 74
<b>ЛЕКЦИИ</b>	
<b>Волков А.Н., Рытенкова О.И.</b> ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ В ПРАКТИКЕ СОВРЕМЕННЫХ МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ. ЧАСТЬ III: ЧИСЛОВЫЕ АНОМАЛИИ КАРИОТИПА ЧЕЛОВЕКА (г. Кемерово, Россия)	с. 85
<b>КЛИНИЧЕСКИЕ СЛУЧАИ</b>	
<b>Подолужный В.И., Старцев А.Б., Радионов И.А.</b> КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ РЕЦИДИВНОЙ УЩЕМЛЕННОЙ ГРЫЖИ КУПОЛА ДИАФРАГМЫ СПРАВА (г. Кемерово, Россия)	с. 97

# TABLE OF CONTENTS

EDITORIAL	p. <b>7</b>
<b>ORIGINAL RESEARCH</b>	
<b>Alexander V. Shulepov, Maxim I. Shperling, Yuri V. Yurkevich, Natalia V. Shperling, Lyubov V. Minaeva</b> SYSTEMIC INFLAMMATORY RESPONSE IN RATS WITH EXPLOSIVE WOUND (St. Petersburg, Russian Federation)	p. <b>8</b>
<b>Andrey V. Chetveryakov, Viktor L. Tsepelev</b> PATHOGENETIC SIGNIFICANCE OF TRANSFORMING GROWTH FACTOR B1 IN PATIENTS WITH COLORECTAL CANCER (Chita, Russian Federation)	p. <b>17</b>
<b>Nikita A. Shabaldin, Andrey V. Shabaldin, Natalia E. Popova, Alyona V. Postnikova, Leo A. Bogdanov, Anna V. Tsepokina</b> MODELING OF FEMORAL HEAD ASEPTIC NECROSIS IN WISTAR RATS (Kemerovo, Russian Federation)	p. <b>23</b>
<b>Olga M. Kuznetsova, Alexander N. Marchenko</b> INCIDENCE OF INTRAUTERINE INFECTIONS IN NEONATAL INTENSIVE CARE UNIT: A LONG-TERM EPIDEMIOLOGICAL ANALYSIS (Tyumen, Russian Federation)	p. <b>31</b>
<b>Lyudmila A. Levanova, Yuliya V. Zakharova, Alina A. Markovskaya, Larisa Yu. Otdushkina</b> BACTERIOPHAGE SENSITIVITY OF OPPORTUNISTIC MICROBIOTA IN CHILDREN WITH GUT DYSBIOSIS (Kemerovo, Russian Federation)	p. <b>40</b>
<b>Ekaterina A. Kiseleva, Alisher Sh. Makhmutkhodzhaev, Galina A. Mikheenko</b> ANTIOXIDANTS IN TREATMENT OF KRAUROSIS VULVAE (Tomsk, Russian Federation)	p. <b>46</b>
<b>REVIEW ARTICLES</b>	
<b>Kalimat M. Bagandova, Eldar R. Zulkarnee, Toita E. Mizaeva, Alexey M. Vorobyov, Olga G. Efimova, Maria P. Medvedovskaya, Maria A. Pasivkina, Andrey V. Aleshkin</b> GENETICALLY MODIFIED BACTERIOPHAGES CREATING FOR THE TREATMENT OF INFECTIONS CAUSED BY MULTIDRUG RESISTANT BACTERIA (REVIEW) (Moscow, Russian Federation)	p. <b>54</b>
<b>Alexey A. Zadvornov, Evgeny V. Grigoriev</b> EXTRACEREBRAL MANIFESTATIONS OF ACUTE CEREBRAL INSUFFICIENCY IN PATIENTS IN CRITICAL CONDITION (Kemerovo, Russian Federation)	p. <b>64</b>
<b>Vyacheslav I. Kobylansky</b> IMMUNOSUPPRESSIVE DRUGS AND THEIR AEROSOL DELIVERY FOR COVID-19 TREATMENT (Moscow, Russian Federation)	p. <b>74</b>
<b>LECTURES</b>	
<b>Alexey N. Volkov, Oksana I. Rytenkova</b> CYTOGENETIC TECHNIQUES IN CURRENT BIOMEDICAL RESEARCH. PART III: NUMERICAL ALTERATIONS OF HUMAN KARYOTYPE (Kemerovo, Russian Federation)	p. <b>85</b>
<b>CASE REPORTS</b>	
<b>Valery I. Podoluzhnyi, Andrey B. Startsev, Igor A. Radionov</b> RECURRENT STRANGULATED HERNIA OF THE RIGHT HEMIDIAPHRAGM (Kemerovo, Russian Federation)	p. <b>97</b>

## Уважаемые коллеги!

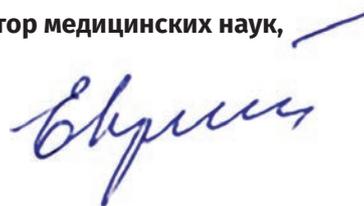
Исследования последних лет демонстрируют, что значимую роль в росте и развитии злокачественного новообразования играют не только контрольные иммунные точки, способствующие «ускользанию» опухоли от иммунного ответа, но и ряд белковых соединений, контролирующих процессы клеточного деления, дифференцировки клеток и апоптоза. Изучению уровня активной формы TGF- $\beta$ 1 в сыворотке крови, ткани опухоли и лимфатических узлов у больных с новообразованиями толстой кишки посвящено исследование авторов, публикующих результаты исследования на страницах журнала. Специалистам будут интересны и результаты изучения механизмов системной про- и противовоспалительной реакции в ответ на повреждение мягких тканей при взрывной ране. Авторы другого исследования успешно достигли цели разработать модель асептического некроза головки бедренной кости в соответствии с современными представлениями о патогенезе болезни Легга-Кальве-Пертеса, что безусловно важно для последующего изучения патогенеза этой болезни.

Микробиологические исследования посвящены бактериофагам. Проблема широкого распространения штаммов микроорганизмов с множественной лекарственной устойчивостью определяет необходимость поиска альтернативных способов лечения инфекционных заболеваний, вызванных бактериями. Фаготерапия – один из перспективных подходов, вызывающий значительный интерес. В обзорной статье подробно рассмотрены технологии создания лечебных бактериофагов. Тему продолжает оригинальное исследование, посвященное изучению литической активности специфических бактериофагов в отношении клебсиелл, протеев и золотистых стафилококков, выделенных из кишечника детей при нарушениях микробиоты, что важно для реализации персонализированного подхода при выборе лечебных бактериофагов.

Рядом научных исследований было доказано, что немалую роль в патогенезе, прогрессировании и злокачественной трансформации крауроза играет окислительный стресс. Авторы представляют результаты изучения влияния антиоксиданта этилметилгидроксипиридина сукцината на эффективность лечения крауроза вульвы методом фотодинамической терапии. Одна из статей посвящена одному из самых сложных аспектов эпидемиологической диагностики – дифференциации внутриутробных и внутрибольничных инфекций.

Безусловный интерес вызовут у читателей аналитические исследования внецеребральных проявлений острой церебральной недостаточности, использования иммуносупрессоров и их аэрозольной доставки в легкие при лечении COVID-19.

**Главный редактор –  
член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук,  
профессор Е.Б. Брусина**



УДК 616-001.45-002:612.08

<https://doi.org/10.23946/2500-0764-2022-7-3-8-16>

# СИСТЕМНАЯ ВОСПАЛИТЕЛЬНАЯ РЕАКЦИЯ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ВЗРЫВНОЙ РАНЕ

ШУЛЕПОВ А.В.<sup>1\*</sup>, ШПЕРЛИНГ М.И.<sup>2</sup>, ЮРКЕВИЧ Ю.В.<sup>1</sup>, ШПЕРЛИНГ Н.В.<sup>1</sup>, МИНАЕВА Л.В.<sup>2</sup><sup>1</sup>ФГБУ «Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины» Министерства обороны Российской Федерации, г. Санкт-Петербург, Россия<sup>2</sup>ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации, г. Санкт-Петербург, Россия

## Резюме

**Цель.** Оценить динамику уровня циркулирующих цитокинов с позиции системного воспалительного ответа в различные фазы раневого процесса при экспериментальной взрывной ране.

**Материал и методы.** Эксперименты выполнены на 60 крысах-самцах линии Вистар, разделенных на группы: основную (n = 50), которым наносили взрывную рану и интактную (n = 10). Моделирование взрывной раны мягких тканей проводили в условиях общего обезболивания с использованием терочных петард, начиненных пиротехнической смесью. Через 3, 7, 14 и 28 суток после повреждения оценивали внешний вид раны, характер раневого отделяемого, площадь раневого дефекта, выраженность локального отека тканей, концентрацию миоглобина и калия в сыворотке крови, содержание в сыворотке крови провоспалительных (IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-6) и противовоспалительных (IL-10) цитокинов.

**Результаты.** Через 3–7 суток после повреждения наблюдалось обильное серозно-гнойное раневое отделяемое, выраженный локальный отек тканей без изменений площади раневого дефекта. В сыворотке крови отмечалось повышение уровня миоглобина (в 2,2–2,6 раза,  $p < 0,05$ ) и калия (на 29,3%,  $p < 0,05$ ), существенное увеличение циркулирующих провоспалительных цитокинов преимущественно за счет IL-1 $\beta$ . Фаза регенерации и образования грануляционной ткани (14 сут.) характеризовалась сокращением площади раны (на 24%,  $p < 0,05$ ), снижением объема раневого отделяемого, оте-

ка мягких тканей зоны повреждения. Уровень сывороточного миоглобина снижался, оставаясь в 1,6–2,2 раза ( $p < 0,05$ ) выше значений у интактных крыс. Содержание провоспалительных цитокинов в сыворотке крови уменьшалось, оставаясь достоверно выше исходных значений. Наибольшее снижение отмечено при оценке уровня IL-6 (на 25%,  $p < 0,05$ ). В фазу эпителизации и реорганизации рубца (28 сут.) на поверхности раны располагался небольшой струп. Содержание сывороточного IL-1 $\beta$  оставалось на 34,2% ( $p < 0,05$ ) выше значений интактных животных на фоне нормализации уровня циркулирующих IL-6 и TNF- $\alpha$ . Концентрация IL-10 достигала максимальных значений относительно контроля (в 3,9 раза,  $p < 0,05$ ) к исходу 14 сут. после травмы с последующим снижением (в 2,3 раза,  $p < 0,05$ ) к периоду формирования рубца.

**Заключение.** При экспериментальной взрывной ране мягких тканей конечности у крыс происходит разрушение мягких тканей с формированием дисбаланса провоспалительных и противовоспалительных цитокинов на протяжении всех фаз раневого процесса.

**Ключевые слова:** взрывная рана, рабдомиолиз, цитокины, системный воспалительный ответ.

## Конфликт интересов

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

## Источник финансирования

Собственные средства.

## Для цитирования:

Шулепов А.В., Шперлинг М.И., Юркевич Ю.В., Шперлинг Н.В., Минаева Л.В. Системная воспалительная реакция при экспериментальной взрывной ране. *Фундаментальная и клиническая медицина*. 2022; 7(3): 8-16. <https://doi.org/10.23946/2500-0764-2022-7-3-8-16>

## \*Корреспонденцию адресовать:

Шулепов Александр Васильевич, 195043, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Лесопарковая, д. 4, E-mail: soash@mail.ru  
© Шулепов А.В. и др.

## ORIGINAL RESEARCH

# SYSTEMIC INFLAMMATORY RESPONSE IN RATS WITH BLAST INJURY

ALEXANDER V. SHULEPOV<sup>1\*</sup>, MAXIM I. SHPERLING<sup>2</sup>, YURI V. YURKEVICH<sup>1</sup>, NATALIA V. SHPERLING<sup>1</sup>, LYUBOV V. MINAEVA<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Research Institute for Military Medicine, St. Petersburg, Russian Federation

<sup>2</sup>Military Medical Academy, St. Petersburg, Russian Federation

## Abstract

**Aim.** To evaluate the temporal changes in circulating cytokines rallying systemic inflammatory response after a blast injury.

**Material and Methods.** Experiments were performed on 60 male Wistar rats (50 rats with blast-related soft tissue injury of the thigh and 10 intact rats). Blast injury was modeled under general anaesthesia using grater firecrackers stuffed with a pyrotechnic mixture. After 3, 7, 14 and 28 days post injury, we carried out a gross examination of the wound and its drainage, measured wound area, assessed local oedema severity, and evaluated serum potassium, myoglobin TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, and IL-10.

**Results.** Three to seven days post injury, there was abundant serous and purulent exudate and pronounced local edema without considerable changes in the wound area. Serum myoglobin and potassium were raised 2.2-2.6-fold and 1.3-fold, respectively ( $p < 0.05$ ); in addition, we documented the elevation of a major pro-inflammatory cytokine IL-1 $\beta$ . Fourteen days post injury, wound area reduced by 24%, ( $p < 0.05$ ) along with the decreased wound drainage and local edema of the in-

jured area. Although the levels of serum myoglobin and pro-inflammatory cytokines (in particular IL-6) lowered, they were still significantly higher as compared with the intact rats. Twenty eight days post injury, fibrosis has been completed, epithelialization occurred and only a small scab remained on the wound surface. Yet, serum IL-1 $\beta$  still was 1.3-fold higher than in the intact animals ( $p < 0.05$ ), albeit IL-6 and TNF- $\alpha$  returned to the reference values. The concentration of anti-inflammatory cytokine IL-10 reached its maximum values relative to the control (3.9-fold,  $p < 0.05$ ) to the 14<sup>th</sup> day post injury that was followed by a considerable reduction (though not reaching the reference values) by the period of scar formation.

**Conclusion.** Blast injury in rats is accompanied by a dysregulated balance between pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines throughout all regeneration phases.

**Keywords:** explosive wound, rhabdomyolysis, cytokines, systemic inflammatory response.

### Conflict of Interest

None declared.

### Funding

There was no funding for this project.

◀ English

### For citation:

Alexander V. Shulepov, Maxim I. Shperling, Yuri V. Yurkevich, Natalia V. Shperling, Lyubov V. Minaeva. Systemic inflammatory response in rats with explosive wound. *Fundamental and Clinical Medicine*. (In Russ.). 2022;7(3): 8-16. <https://doi.org/10.23946/2500-0764-2022-7-3-8-16>

### \*Corresponding author:

Dr. Alexander V. Shulepov, 4, Lesoparkovaya Street, Saint-Petersburg, 195043, Russian Federation, E-mail: soash@mail.ru  
© Alexander V. Shulepov, et al.

## Введение

Взрывная рана является проявлением взрывной травмы (МКБ-10: Y36.2, Y36.8), возникающей при воздействии на ткани различных факторов взрыва. В области взрывной раны возникают множественные разрывы сухожилий, мышц, фасций и кожи, повреждение сосудов различного диаметра с формированием очаговых кровоизлияний. Ситуацию отягощает воз-

никающий перифокальный отек мягких тканей, который приводит к сужению кровеносных сосудов, их тромбозу с последующим развитием ишемии и некроза тканей [1, 2].

При любых повреждениях, в том числе взрывных, в ране развивается комплекс биохимических, морфологических и физиологических процессов, которые приводят к локальному изменению клеточного состава раны, на-

рушению микроциркуляции и обмена веществ. Высвобождение химических медиаторов воспаления усиливает локальную вазоконстрикцию, тромбообразование, что приводит к снижению перфузии тканей и развитию гипоксии с формированием ишемического некроза [3]. Молекулярные паттерны, высвобождаемые из поврежденных клеток, вызывают развитие синдрома раннего системного воспалительного ответа (SIRS), который характеризуется значительным увеличением в крови провоспалительных цитокинов [4, 5]. Цитокины поступают в системный кровоток из первичного очага воспаления, а при развитии SIRS и генерализации процесса – из органов, удаленных от первичного очага [6, 7]. Несмотря на ряд исследований, посвященных данной проблематике [8, 9], механизмы системной про- и противовоспалительной реакции в ответ на повреждение мягких тканей при взрывной ране остаются малоизученными, особенно в аспекте взаимосвязи с фазами раневого процесса. Четкое понимание причин формирования провоспалительного ответа на системном уровне при взрывной ране позволит производить их своевременную коррекцию в аспекте саногенеза путем широкого применения методов локального (местного) лечения.

### Цель исследования

Оценить динамику уровня циркулирующих цитокинов с позиции системного воспалительного ответа в различные фазы раневого процесса при экспериментальной взрывной ране.

### Материал и методы

Исследование выполнено на 60 половозрелых крысах-самцах линии Вистар возрастом 4-4,5 мес. и массой  $320 \pm 20$  г, полученных из питомника «Рапполово» (Ленинградская область, Россия). Животные находились в карантине 14 сут. со свободным доступом к пище и воде. Исследование одобрено локальным Комитетом по этике ФГБУ «ГНИИИ ВМ» МО РФ (протокол № 13 от 22.06.2020 г.). Все животные были разделены на 2 группы: основную ( $n = 50$ ), которым наносили взрывную рану, и интактную ( $n = 10$ ) – без травмы. Моделирование взрывной раны без перелома костей проводили по авторской методике с использованием терочных петард, начиненных пиротехнической смесью (патент РФ на изобретение № 2741238 от 22.01.2021). Перед нанесением взрывной раны

для общего обезболивания крысам внутримышечно вводили смесь золетила и ксилазина по 10 мг/кг массы животного каждого препарата.

Динамическое наблюдение и оценку изучаемых показателей проводили через 3, 7, 14 и 28 сут после травмы и на момент заживления раны, что соответствовало фазам течения раневого процесса [10]: фаза воспаления (период сосудистых изменений и период очищения раны от некротических тканей – 3–7 сут), фаза регенерации, образования и созревания грануляционной ткани (7–14 сут), фаза реорганизации рубца и эпителизации (14–28 сут). В ходе исследования проводили оценку внешнего вида раны, характера отделяемого из нее. Площадь раны рассчитывали по формуле, предложенной J.I. Kundin [11]:

$$S = L \times W \times 0,785, \quad (1)$$

где  $S$  ( $\text{см}^2$ ) – площадь раневого дефекта;  $L$  (см),  $W$  (см) – два перпендикулярных максимальных размеры раны.

Выраженность локального отека тканей определяли по длине окружности бедра в проекции его средней трети [12]. Значения выражали индексом отек/атрофия (усл. ед.) в виде соотношения длины окружности средней трети бедра поврежденной и контралатеральной конечности. Повышение индекса указывает на формирование отека мягких тканей в области повреждения, снижение – на их атрофию.

Для оценки выраженности деструкции скелетных мышц в сыворотке крови определяли: концентрацию миоглобина (нг/мл) методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) с применением моноклональных антител (АО «Вектор-Бест», Россия) на автоматическом анализаторе ChemWell 2910 (Awareness Technology, США) [13]; концентрацию калия (ммоль/л) турбодиметрическим методом с использованием набора Калий-Ольвекс (ООО «Ольвекс Диагностикум», Россия).

Выраженность системной воспалительной реакции оценивали по динамике в сыворотке крови уровня: провоспалительных цитокинов, в том числе фактора некроза опухоли альфа (TNF- $\alpha$ ), интерлейкина-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), интерлейкина-6 (IL-6); противовоспалительного цитокина – интерлейкина-10 (IL-10). Цитокины измеряли методом мультиплексного иммунного анализа на установке Bio-Plex (Bio-Rad Laboratories, USA, CA) с соответствующими наборами реагентов Bio-Plex Pro™ Rat Cytokine Th1/Th2 Assay [14]

Статистический анализ результатов исследования осуществляли с помощью пакета прикладных программ Microsoft Excel 2013 с последующей обработкой в среде программы Statistica 10.0 (StatSoft Inc., США). Определение типа распределения данных проводили по критерию Шапиро-Уилка и Колмогорова-Смирнова. Переменные в исследуемых выборках представлены в виде медианы (Me), с 1-м и 3-м квартилями [ $Q_{25}$ ;  $Q_{75}$ ]. Для определения статистической значимости различий между двумя сравниваемыми выборками использовали критерий Манна-Уитни, различия считали достоверными, если вероятность их тождества была менее 5% ( $p < 0,05$ ).

## Результаты

В течение всего эксперимента гибели животных не зарегистрировано.

**Динамика заживления взрывной раны.** Экспериментальная взрывная рана характеризовалась повреждением мягких тканей с формированием кожной раны площадью в среднем 6,6 [5,8; 7,6] см<sup>2</sup>, которая в процессе заживления проходила все фазы раневого процесса. В ходе исследования имело место незначительное уменьшение площади раны к 3-м сут, что является результатом контракции кожи крысы за счет внутрикожных мышц, в ране наблюдалось скудное фибринозно-гнойное отделяемое. Через 7 сут отмечалось обильное гнойное раневое отделяемое серо-

го цвета с характерным запахом, площадь раны относительно исходных данных уменьшилась в среднем на 18% ( $p=0,07$ ). На 14-е сут наблюдения раны очищались с формированием струпа, при этом площадь раны уменьшалась в среднем на 24% ( $p=0,02$ ) относительно предыдущего срока наблюдения и на 42% ( $p=0,009$ ) по сравнению с исходными значениями. К исходу 28-х сут в области повреждения сохранялся небольшой струп. Полное закрытие раневого дефекта наблюдалось на 30–32 сут наблюдения (таблица 1).

**Динамика выраженности локального отёка тканей.** Отёк тканей бедра у животных с взрывной раной развивался в ранние сроки после травмы. Длина окружности поврежденного бедра была увеличена на 25% ( $p=0,02$ ) относительно значений контралатеральной (неповрежденной) конечности и имела максимальное значение на 3 сут эксперимента. К 7 сут длина окружности бедра несколько снижалась, оставаясь на 20% ( $p=0,03$ ) выше значений окружности бедра до нанесения травмы. На 14-е сут длина окружности поврежденной конечности была сопоставима с её значением на контралатеральной конечности и не имела достоверных различий со значением у животных до нанесения взрывной раны. К исходу 28 сут отёка мягких тканей не было, более того длина окружности бедра в средней трети была на 33% ( $p=0,02$ ) меньше длины бедра интактных особей, что косвенно свидетельствовало о развитии посттравматической атрофии (таблица 1).

Показатели Parameters	Сроки наблюдения, сут Observation, days				
	Исходно Baseline	3	7	14	28
$I_e$ , усл. ед. $I_e$ , arb. units	1,01 [0,97; 1,04]	1,26* [1,23; 1,28]	1,21*. <sup>**</sup> [1,19; 1,22]	1,03 <sup>**</sup> [1,02; 1,05]	0,68*. <sup>**</sup> [0,66; 0,71]
$S$ , см <sup>2</sup> $S$ , cm <sup>2</sup>	6,6 [5,8; 7,6]	5,7 [5,3; 6,6]	5,4 [5,0; 6,1]	3,8*. <sup>**</sup> [3,5; 4,3]	1,1*. <sup>**</sup> [0,8; 1,5]
	100%	86,4%	81,8%	57,6%	16,7%
Характер поверхности раны Wound drainage	–	Гнойное отделяемое Purulent exudate	Гнойное отделяемое Purulent exudate	Фибриновое отделяемое Fibrinous exudate	Струп Scab
n = 18					

**Таблица 1.** Динамика показателей заживления экспериментальной взрывной раны мягких тканей бедра у крыс, Me [ $Q_{25}$ ;  $Q_{75}$ ]

**Table 1.** Temporal changes in healing parameters upon the blast-related soft tissue (thigh) injury in rats, median and interquartile range

Примечание. \* $p < 0,05$  – различия достоверны по сравнению с исходными значениями; \*\* $p < 0,05$  – различия достоверны по сравнению с предыдущим сроком наблюдения;  $I_e$  – индекс отек/атрофия, усл. ед.;  $S$  – площадь раны, см<sup>2</sup>;  $n$  – количество животных; Me – медиана;  $Q_{25}$ ;  $Q_{75}$  – 1-й и 3-й квартили.

\* $p < 0.05$  compared to baseline values; \*\* $p < 0.05$  compared to the previous time frame;  $I_e$  – edema/atrophy index, arb. units;  $S$  – wound area, cm<sup>2</sup>.

Таблица 2.

Динамика уровня продуктов рабдомиолиза в сыворотке крови у крыс с экспериментальной взрывной раной мягких тканей бедра, Me [Q<sub>25</sub>; Q<sub>75</sub>]

Table 2.

Temporal changes in serum rhabdomyolysis products in rats upon the blast-related soft tissue (thigh) injury, median and interquartile range

Группы исследования <i>Study groups</i>	Сроки наблюдения, сут <i>Observation, days</i>	n	Показатели <i>Parameters</i>	
			Миоглобин, нг/мл <i>Myoglobin, ng/mL</i>	Калий, ммоль/л <i>Potassium, mmol/L</i>
Интактные животные <i>Intact animals</i>		110	77,5 [69,0; 90,0]	4,1 [3,8; 4,3]
Основная (взрывная рана) <i>Animals with blast injury</i> n = 32	3	88	198,7* [165,5; 231,3]	5,3* [4,9; 5,8]
	7	88	170,4* [142,4; 198,6]	4,1 [3,8; 4,4]
	14	88	125,5* [108,7; 143,4]	4,0 [3,6; 4,3]
	28	88	85,4** [69,5; 95,7]	3,9 [3,6; 4,3]

Примечание: \* $p < 0,05$  – различия достоверны по сравнению с животными группы сравнения; \*\* $p < 0,05$  – различия достоверны по сравнению с предыдущим сроком наблюдения; n – количество животных; Me – медиана; Q<sub>25</sub>; Q<sub>75</sub> – 1-й и 3-й квартили.

\* $p < 0.05$  compared to baseline values; \*\* $p < 0.05$  compared to the previous time frame

Динамика уровня продуктов рабдомиолиза (миоглобин, калий) в сыворотке крови. У животных с взрывной раной наблюдалось повышение уровня миоглобина крови в 2,2–2,6 раза ( $p < 0,05$ ) в фазу воспаления (3–7 сут) относительно интактных особей. Максимальное значение сывороточного миоглобина составляло 198,7 [165,5; 231,3] нг/мл спустя 3 сут после травмы. К окончанию периода активной воспалительной фазы (7 сут) и в фазу регенерации, образования и созревания грануляционной ткани (14 сут) уровень миоглобина у крыс снижался, оставаясь повышенным в 1,6–2,2 раза ( $p < 0,05$ ) по сравнению с аналогичным показателем у интактных животных. К исходу периода наблюдения (28 сут) содержание миоглобина в сыворотке крови восстанавливалось до значений у интактных крыс.

Однонаправленные изменения наблюдались в динамике концентрации калия в сыворотке крови. К 3-м сут эксперимента регистрировалось повышение концентрации калия на 29,3% ( $p = 0,02$ ) по сравнению с его уровнем у интактных особей. В последующие сроки (7–28 сут) содержание калия в крови не имело различий с интактной группой (таблица 2).

Динамика концентрации цитокинов в сыворотке крови. Взрывная рана бедра с дефектом мягких тканей сопровождалась изменениями уровня циркулирующих провоспалительных и противовоспалительных цитокинов (таблица 3).

В фазу воспаления (3–7 сут после нанесения взрывной раны) наблюдалось существенное повышение уровня провоспалительных цитокинов (IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-6). Наиболее выраженный прирост отмечался у провоспалительного медиатора IL-1 $\beta$ : содержание в крови в 3,5 и 3,2 раза ( $p < 0,05$ ) превышало значения у интактных животных. Изучение динамики уровня IL-6 показало выраженный рост его концентрации в крови в 1,8–2,2 раза ( $p < 0,05$ ) на 3–7 сут по сравнению с контролем. Пиковые значения уровня TNF- $\alpha$  в сыворотке крови в эти сроки были менее выраженными по сравнению с содержанием в крови IL-1 $\beta$  и IL-6, однако в 2,6–2,8 раза ( $p < 0,05$ ) превышали показатель у животных группы сравнения.

В фазу регенерации, образования и созревания грануляционной ткани (спустя 14 сут после нанесения травмы) отмечалось снижение уровня сывороточных провоспалительных цитокинов по сравнению с его содержанием в фазу воспаления. Наибольшее снижение наблюдалось у IL-6 (на 24,7%,  $p = 0,02$ ) по сравнению с предыдущим сроком наблюдения (7 сут). В дальнейшем, к 28 сут концентрация провоспалительных цитокинов крови снижалась и для IL-6 и TNF- $\alpha$  достигала уровня значений интактных животных. Содержание IL-1 $\beta$ , несмотря на его снижение относительно предыдущего периода, оставалось на 34,2% ( $p = 0,01$ ) выше относительно значений у крыс в группе сравнения.

Группы исследования <i>Study groups</i>	Сроки наблюдения, сут <i>Observation, days</i>	n	Концентрация цитокинов в сыворотке крови, пг/мл/ <i>Serum cytokine levels, pg/mL</i>			
			IL-1 $\beta$	TNF- $\alpha$	IL-6	IL-10
Интактные животные <i>Intact animals</i>		10	7,6 [7,2; 8,2]	6,5 [6,1; 6,8]	4,7 [4,2; 5,1]	3,3 [2,2; 4,1]
Основная (взрывная рана) <i>Animals with blast injury</i> n=32	3	8	26,5* [24,8; 29,2]	17,9* [16,3; 19,1]	10,4* [9,5; 11,2]	2,7 [2,2; 3,1]
	7	8	24,0* [21,9; 26,3]	16,7* (15,5; 18,2)	8,5*,** [7,6; 9,1]	4,5** [4,1; 5,0]
	14	8	19,5*,** [17,9; 21,5]	9,1*,** [8,5; 9,9]	6,4*,** [5,9; 6,9]	10,8*,** [9,6; 12,6]
	28	8	10,2*,** [9,1; 11,3]	6,6** [6,1; 7,3]	5,3 [4,9; 5,8]	7,5*,** [6,9; 8,8]

Примечание: \* $p < 0,05$  – различия достоверны по сравнению с животными группы сравнения; \*\* $p < 0,05$  – различия достоверны по сравнению с предыдущим сроком наблюдения; IL-1 $\beta$  – интерлейкин-1 бета; TNF- $\alpha$  – фактор некроза опухоли альфа; IL-6 – интерлейкин-6; IL-10 – интерлейкин-10; n – количество животных; Me – медиана; Q25; Q75 – 1-й и 3-й квартили.

\* $p < 0.05$  compared to baseline values; \*\* $p < 0.05$  compared to the previous time frame; IL-1 $\beta$  – interleukin-1 $\beta$ ; TNF- $\alpha$  – tumor necrosis factor alpha; IL-6 – interleukin-6; IL-10 – interleukin-10.

**Таблица 3.** Динамика концентрации цитокинов в сыворотке крови у крыс с экспериментальной взрывной раной мягких тканей бедра, Me [Q<sub>25</sub>; Q<sub>75</sub>]

**Table 3.** Temporal changes in serum cytokines in rats upon the blast-related soft tissue (thigh) injury, median and interquartile range

Уровень противовоспалительного цитокина IL-10 в фазу воспаления (3–7 сут) оставался в пределах диапазона значений у интактных животных. Повышение IL-10 регистрировалось только в фазу регенерации (14 сут), превышая в 3,9 раза ( $p = 0,004$ ) значения у нетравмированных крыс. Спустя 28 сут после травмы содержание IL-10 снижалось, оставаясь в 2,3 раза ( $p = 0,007$ ) выше значений у интактных особей.

## Обсуждение

Согласно современным представлениям, для раневого процесса характерно фазовое течение, последовательный переход одной фазы в другую, что в естественных условиях приводит к полному закрытию раневого дефекта с образованием рубца [15]. После нанесения взрывной раны наблюдались значительные разрушения мягких тканей, преимущественно скелетных мышц, которые на системном уровне проявлялись повышением в сыворотке крови миоглобина и калия, максимальные значения которых регистрировались на 3 сут после травмы. В ответ на повреждение формировался отек тканей преимущественно в фазу воспаления (3–7 сут), который был обусловлен экссудацией плазмы в перифокальные ткани, а также очаговыми кровоизлияниями. Биологическая роль экссудации заключается в доставке в ткань плазменных медиаторов (активных компонентов комплемента, кининов, факторов свертывающей

системы, ферментов плазмы), которые участвуют в лизисе микроорганизмов, привлечении лейкоцитов крови, стимуляции фагоцитоза, очищению раны и процессах репаративной регенерации [16]. Из поврежденных сосудов в область раны поступают клеточные элементы крови (тромбоциты, лейкоциты, эритроциты). Взаимодействуя с белками плазмы, они образуют тромбоцитарно-фибрилярный матрикс, а из  $\alpha$ -гранул тромбоцитов высвобождаются ростовые факторы, в первую очередь тромбоцитарный фактор роста [17]. Гранулярные лейкоциты (гранулоциты) выделяют в поврежденные ткани биологические медиаторы, способствующие миграции в область раны моноцитов, макрофагов, Т-лимфоцитов, продуцирующих провоспалительные цитокины и хемокины [18]. При взрывной ране наблюдалось изменение баланса провоспалительных и противовоспалительных цитокинов с преобладанием провоспалительного профиля. Увеличение содержания циркулирующих цитокинов (IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-6), преимущественно провоспалительного IL-1 $\beta$ , в разгар фазы воспаления свидетельствовало о развитии системного воспалительного процесса. Высокое содержание TNF- $\alpha$  отражает выраженную неспецифическую воспалительную реакцию организма на травматическое повреждение мягких тканей и коррелирует с увеличением концентрации IL-6 в сыворотке крови. Несмотря на возникающий каскад патофизиологиче-

ских процессов в области повреждения, площадь взрывной раны существенно не изменялась.

По данным большинства исследователей, восстановление поврежденной ткани невозможно без взаимодействия процессов пролиферации, дифференцировки, миграции и синтетической активности клеток [19, 20]. По мере стихания воспалительного процесса в области взрывной раны (14 сут) регистрировалось уменьшение локального отека мягких тканей с восстановлением объема бедра к значениям у интактных животных, сокращалась площадь раневого дефекта в 1,7 раза ( $p=0,009$ ) по сравнению с исходными размерами и формированием на поверхности раны плотного струпа. Содержание миоглобина и калия в фазу регенерации и образования грануляционной ткани (14 сут) снижалось и к началу фазы реорганизации рубца (28 сут) не имело достоверных различий с его значениями у интактных животных, что свидетельствовало о преобладании анаболических процессов в области взрывной раны над катаболическими. Концентрация провоспалительных цитокинов (IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-6) в сыворотке крови в фазу регенерации снижалась, а противовоспалительных (IL-10), наоборот, повышалась по сравнению с их уровнем в разгар воспалительного процесса. Эффекты противовоспалительных цитокинов были обусловлены, в основном, их способностью подавлять функциональную активность макрофагов, ингибировать продукцию провоспалительных цитокинов моноцитами и макрофагами, повышать пролиферативную и секреторную активность лимфоцитов [21]. Отмечено, что компенсаторный противовоспалительный ответ осуществляется IL-4 и IL-10, способными подавлять продукцию IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-8 [22]. Смещение баланса циркулирующих цитокинов в сторону повышения IL-10 при заживлении ВР может рассматриваться как супрессорная реакция иммунной системы, характеризующаяся развитием тормозящих влияний на процесс регенерации поврежденной скелетной мышечной ткани [23].

Весь спектр исследуемых показателей при взрывной ране имел умеренные отклонения от

нормальных значений, в то время как при продолжительной ишемии конечности эти значения были выше в 4–5 раз [12]. Повреждения ишемического генеза приводят к более выраженной и продолжительной воспалительной реакции в очаге повреждения с пиком основных маркеров воспаления на 7 сут, что обусловлено значительной цитокинемией и большой площадью разрушения скелетных мышц [24]. Полного восстановления профиля циркулирующих цитокинов при ишемических повреждениях, в отличие от взрывной раны к началу фазы реорганизации рубца не наблюдалось, что свидетельствует о хроническом течении воспалительного процесса [25].

Таким образом, особенностями взрывной раны являются: во-первых, умеренная деструкция мягких тканей, проявляющаяся невыраженным увеличением концентрации миоглобина и калия в сыворотке крови, повышением профиля провоспалительных цитокинов преимущественно в ранние сроки после травмы (3 сут); во-вторых, полное восстановление уровня сывороточного миоглобина и провоспалительных цитокинов (IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-6) к значениям у интактных животных уже к 28 сут; в-третьих, слабо выраженным противовоспалительным иммунным ответом (IL-10).

## Заключение

При экспериментальной взрывной ране мягких тканей конечности у крыс происходит разрушение мягких тканей с формированием дисбаланса провоспалительных и противовоспалительных цитокинов на протяжении всех фаз раневого процесса. В фазу воспаления (до 7 сут) регистрируется повышение содержания циркулирующих провоспалительных цитокинов (IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-6) с высоким уровнем IL-1 $\beta$ . В фазы регенерации, образования и созревания грануляционной ткани (7–14 сут) и реорганизации рубца и эпителизации (14–28 сут) баланс циркулирующих цитокинов смещается в сторону повышения противовоспалительного цитокина IL-10, что отражает формирование супрессорного компенсаторно-противовоспалительного ответа, способствующего замедлению регенерации.

## Литература :

1. Попов В.Л. Некоторые теоретические проблемы судебно-медицинской экспертизы взрывной травмы. *Судебно-медицинская экспертиза*. 2015;58(4):4-10.
2. Айдаров В.И., Малеев М.В., Красильников В.И., Хасанов Э.Р. Экстренная неотложная помощь пострадавшим от взрывных поражений. *Практическая медицина*. 2019;17(6):6-9 <https://doi.org/10.32000/2072-1757-2019-6-6-9>
3. Козлов В.И., Азизов Г.А., Гурова О.А. Клинико-морфологические аспекты изучения расстройств микроциркуляции. *Морфология*. 2014;145(3):95-96.
4. Relja B, Mörs K, Marzi I. Danger signals in trauma. *Eur J Trauma Emerg Surg*. 2018;44(3):301-316. <https://doi.org/10.1007/s00068-018-0962-3>
5. Xu P, Wang F, Zhou XL, Li L, Xiong D, Yong YQ, Zhao Y, Jiang WX.

- Systemic Inflammatory Response and Multiple Organ Dysfunctions Following Crush Injury: a New Experimental Model in Rabbits. *Inflammation*. 2018;41(1):240-248. <https://doi.org/10.1007/s10753-017-0683-5>
6. Гусев Е.Ю., Зотова Н.В. Патогенез и прогноз критических осложнений политравмы с позиции общепатологических процессов. *Политравма*. 2021;1:97-116. <https://doi.org/10.24411/1819-1495-2021-10014>
  7. Gaballah MH, Horita T, Takamiya M, Yokoji K, Fukuta M, Kato H, Aoki Y. Time-Dependent Changes in Local and Serum Levels of Inflammatory Cytokines as Markers for Incised Wound Aging of Skeletal Muscles. *Tohoku J Exp Med*. 2018;245(1):29-35. <https://doi.org/10.1620/tjem.245.29>
  8. Manson J, Thiemermann C, Brohi K. Trauma alarmins as activators of damage-induced inflammation. *Br J Surg*. 2012;99(1):12-20. <https://doi.org/10.1002/bjs.7717>
  9. Gupta AK, Ansari A, Gupta N, Agrawal H, B M, Bansal LK, Durga C. Evaluation of risk factors for prognosticating blunt trauma chest. *Pol Przegl Chir*. 2021;94(1):12-19. <https://doi.org/10.5604/01.3001.0015.0427>
  10. *Раны и раневая инфекция*. Под ред. М.И. Кузин, Б.М. Костюченко. 2-е изд., перераб. и доп. Москва : Медицина, 1990. 591 с.
  11. Савченко Ю.П., Федосов С.Р. Методы определения размеров раневой поверхности. *Вестник хирургии*. 2007;166(1):102-104.
  12. Шулепов А.В., Шперлинг И.А., Юркевич Ю.В., Шперлинг Н.В., Васильев С.Б. Профиль циркулирующих цитокинов в аспекте системного воспаления при продолжительной статической компрессии мягких тканей в эксперименте. *Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины*. 2022;12(1):61-68. <https://doi.org/10.37279/2224-6444-2022-12-1-61-68>
  13. Lindsay A, Healy J, Mills W, Lewis J, Gill N, Draper N, Gieseg SP. Impact-induced muscle damage and urinary pterins in professional rugby: 7,8-dihydroneopterin oxidation by myoglobin. *Scand J Med Sci Sports*. 2016;26(3):329-337. <https://doi.org/10.1111/sms.12436>
  14. Riteau N, Gombault A, Couillin I. Assessment of inflammasome activation by cytokine and danger signal detection. *Methods Mol Biol*. 2016;1417:63-74. [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-3566-6\\_3](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-3566-6_3)
  15. Rodrigues M, Kosaric N, Bonham CA, Gurtner GC. Wound Healing: A Cellular Perspective. *Physiol Rev*. 2019;99(1):665-706. <https://doi.org/10.1152/physrev.00067.2017>
  16. Чеснокова Н.П., Моррисон В.В., Афанасьева Г.А., Полутова Н.В. Местные отеки. Этиология, патогенез процессов экссудации и трансудации. *Научное обозрение. Медицинские науки*. 2016;1:69-73. <https://science-medicine.ru/ru/article/view?id=874>
  17. Qiu Y, Brown AC, Myers DR, Sakurai Y, Mannino RG, Tran R, Ahn B, Hardy ET, Kee MF, Kumar S, Bao G, Barker TH, Lam WA. Platelet mechanosensing of substrate stiffness during clot formation mediates adhesion, spreading, and activation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2014;111(40):14430-14435. <https://doi.org/10.1073/pnas.1322917111>
  18. Wu X, Zhang G, Wang X, Zhang P, Tan Y. Endotoxin tolerance induction in human periodontal ligament fibroblasts stimulated with different bacterial lipopolysaccharides. *Arch Oral Biol*. 2015;60(3):463-470. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2014.10.005>
  19. Walmsley GG, Maan ZN, Wong VW, Duscher D, Hu MS, Zielins ER, Wearda T, Muhonen E, McArdle A, Tevlin R, Atashroo DA, Senarath-Yapa K, Lorenz HP, Gurtner GC, Longaker MT. Scarless wound healing: chasing the holy grail. *Plast Reconstr Surg*. 2015;135(3):907-917. <https://doi.org/10.1097/PRS.0000000000000972>
  20. Kosaraju R, Rennert RC, Maan ZN, Duscher D, Barrera J, Whittam AJ, Januszyc M, Rajadas J, Rodrigues M, Gurtner GC. Adipose-Derived Stem Cell-Seeded Hydrogels Increase Endogenous Progenitor Cell Recruitment and Neovascularization in Wounds. *Tissue Eng Part A*. 2016;22(3-4):295-305. <https://doi.org/10.1089/ten.tea.2015.0277>
  21. Islam H, Jackson GS, Yoon JSJ, Cabral-Santos C, Lira FS, Mui AL, Little JP. Sex differences in IL-10's anti-inflammatory function: greater STAT3 activation and stronger inhibition of TNF- $\alpha$  production in male blood leukocytes ex vivo. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2022;322(6):1095-C1104. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00091.2022>
  22. Zhou X, Zhang Z, Jiang W, Hu M, Meng Y, Li W, Zhou X, Wang C. Naringenin is a Potential Anabolic Treatment for Bone Loss by Modulating Osteogenesis, Osteoclastogenesis, and Macrophage Polarization. *Front Pharmacol*. 2022;13:872188. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.872188>
  23. Fujioka K, Kishida T, Ejima A, Yamamoto K, Fujii W, Murakami K, Seno T, Yamamoto A, Kohno M, Oda R, Yamamoto T, Fujiwara H, Kawahito Y, Mazda O. Inhibition of osteoclastogenesis by osteoblast-like cells genetically engineered to produce interleukin-10. *Biochem Biophys Res Commun*. 2015;456(3):785-791. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2014.12.040>
  24. Tekşen Y, Kadioğlu E, Koçak C, Koçak H. Effect of Hydrogen Sulfide on Kidney Injury in Rat Model of Crush Syndrome. *J Surg Res*. 2019;235:470-478. <https://doi.org/10.1016/j.jss.2018.10.033>
  25. Шперлинг И.А., Шулепов А.В., Шперлинг Н.В., Юркевич Ю.В., Кузьмина О.Ю., Арутюнян А.А., Заргарова Н.И. Санагенетические и фармакологические эффекты локального применения гиалуроновой кислоты при экспериментальной компрессионной травме мягких тканей. *Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины*. 2020;10(2):53-60.

## References:

1. Popov VL. Certain theoretical-methodological problems of forensic medical expertise of the blast injury. *Forensic medical expertise / Sudebno-meditsinskaya ekspertiza*. 2015;58(4):4-10. (In Russ). <https://doi.org/10.17116/sudmed2015.5844-10>
2. Aydarov VI, Maleev MV, Krasnikov VI, Khasanov ER. Emergency care for victims of explosions. *Practical Medicine*. 2019;17(6):6-9. (In Russ). <https://doi.org/10.32000/2072-1757-2019-6-6-9>
3. Kozlov VI, Azizov GA, Gurova OA. Clinical and morphological aspects of the study blood microcirculation disturbances. *Morphology*. 2014;145(3):95-96. (In Russ).
4. Relja B, Mörs K, Marzi I. Danger signals in trauma. *Eur J Trauma Emerg Surg*. 2018;44(3):301-316. <https://doi.org/10.1007/s00068-018-0962-3>
5. Xu P, Wang F, Zhou XL, Li L, Xiong D, Yong YQ, Zhao Y, Jiang WX. Systemic Inflammatory Response and Multiple Organ Dysfunctions Following Crush Injury: a New Experimental Model in Rabbits. *Inflammation*. 2018;41(1):240-248. <https://doi.org/10.1007/s10753-017-0683-5>
6. Gusev EYu, Zotova NV. Pathogenesis and prediction of critical complications of polytrauma from the position of common pathological processes. *Polytrauma*. 2021;1:97-116. (In Russ). <https://doi.org/10.24411/1819-1495-2021-10014>
7. Gaballah MH, Horita T, Takamiya M, Yokoji K, Fukuta M, Kato H, Aoki Y. Time-Dependent Changes in Local and Serum Levels of Inflammatory Cytokines as Markers for Incised Wound Aging of Skeletal Muscles. *Tohoku J Exp Med*. 2018;245(1):29-35. <https://doi.org/10.1620/tjem.245.29>
8. Manson J, Thiemermann C, Brohi K. Trauma alarmins as activators of damage-induced inflammation. *Br J Surg*. 2012;99(1):12-20. <https://doi.org/10.1002/bjs.7717>
9. Gupta AK, Ansari A, Gupta N, Agrawal H, B M, Bansal LK, Durga C. Evaluation of risk factors for prognosticating blunt trauma chest. *Pol Przegl Chir*. 2021;94(1):12-19. <https://doi.org/10.5604/01.3001.0015.0427>
10. Kuzin MI, Kostyuchenok BM. *Rany i ranevaya infektsiya*. 2-е изд., перераб. и доп. Москва : Медицина; 1990. 591 с. (In Russ.)
11. Savchenko YuP, Fedosov SR. Methods of determination of sizes of the wound surface. *Grekov's bulletin of surgery*. 2007;66(1):102-104. (In Russ).
12. Shulepov AV, Shperling IA, Yurkevich YuV, Shperling NV, Vasil'ev SB. Profile of circulating cytokines in the aspect of systemic inflammation with a prolonged static compression of soft tissue in the experiment. *Crimean journal of experimental and clinical medicine*. 2022;12(1):61-68. (In Russ). <https://doi.org/10.37279/2224-6444-2022-12-1-61-68>
13. Lindsay A, Healy J, Mills W, Lewis J, Gill N, Draper N, Gieseg SP. Impact-induced muscle damage and urinary pterins in professional rugby: 7,8-dihydroneopterin oxidation by myoglobin. *Scand J Med Sci Sports*. 2016;26(3):329-337. <https://doi.org/10.1111/sms.12436>
14. Riteau N, Gombault A, Couillin I. Assessment of inflammasome activation by cytokine and danger signal detection. *Methods Mol Biol*. 2016;1417:63-74. [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-3566-6\\_3](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-3566-6_3)
15. Rodrigues M, Kosaric N, Bonham CA, Gurtner GC. Wound Healing: A Cellular Perspective. *Physiol Rev*. 2019;99(1):665-706. <https://doi.org/10.1152/physrev.00067.2017>

16. Chesnokova NP, Morrison VV, Afanas'yeva GA, Polutova NV. Mestnyye oteki. Etiologiya, patogenez protsessov eksudatsii i trassudatsii. *Scientific review Medical sciences*. 2016;1:69-73. (In Russ). <https://science-medicine.ru/ru/article/view?id=874>
17. Qiu Y, Brown AC, Myers DR, Sakurai Y, Mannino RG, Tran R, Ahn B, Hardy ET, Kee MF, Kumar S, Bao G, Barker TH, Lam WA. Platelet mechanosensing of substrate stiffness during clot formation mediates adhesion, spreading, and activation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2014;111(40):14430-14435. <https://doi.org/10.1073/pnas.1322917111>
18. Wu X, Zhang G, Wang X, Zhang P, Tan Y. Endotoxin tolerance induction in human periodontal ligament fibroblasts stimulated with different bacterial lipopolysaccharides. *Arch Oral Biol*. 2015;60(3):463-470. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2014.10.005>
19. Walmsley GG, Maan ZN, Wong VW, Duscher D, Hu MS, Zielins ER, Wearda T, Muhonen E, McArdle A, Tevlin R, Atashroo DA, Senarath-Yapa K, Lorenz HP, Gurtner GC, Longaker MT. Scarless wound healing: chasing the holy grail. *Plast Reconstr Surg*. 2015;135(3):907-917. <https://doi.org/10.1097/PRS.0000000000000972>
20. Kosaraju R, Rennert RC, Maan ZN, Duscher D, Barrera J, Whittam AJ, Janusz M, Rajadas J, Rodrigues M, Gurtner GC. Adipose-Derived Stem Cell-Seeded Hydrogels Increase Endogenous Progenitor Cell Recruitment and Neovascularization in Wounds. *Tissue Eng Part A*. 2016;22(3-4):295-305. <https://doi.org/10.1089/ten.tea.2015.0277>
21. Islam H, Jackson GS, Yoon JSJ, Cabral-Santos C, Lira FS, Mui AL, Little JP. Sex differences in IL-10's anti-inflammatory function: greater STAT3 activation and stronger inhibition of TNF- $\alpha$  production in male blood leukocytes ex vivo. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2022;322(6):1095-C1104. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00091.2022>
22. Zhou X, Zhang Z, Jiang W, Hu M, Meng Y, Li W, Zhou X, Wang C. Naringenin is a Potential Anabolic Treatment for Bone Loss by Modulating Osteogenesis, Osteoclastogenesis, and Macrophage Polarization. *Front Pharmacol*. 2022;13:872188. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.872188>
23. Fujioka K, Kishida T, Ejima A, Yamamoto K, Fujii W, Murakami K, Seno T, Yamamoto A, Kohno M, Oda R, Yamamoto T, Fujiwara H, Kawahito Y, Mazda O. Inhibition of osteoclastogenesis by osteoblast-like cells genetically engineered to produce interleukin-10. *Biochem Biophys Res Commun*. 2015;456(3):785-791. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2014.12.040>
24. Tekşen Y, Kadiođlu E, Koçak C, Koçak H. Effect of Hydrogen Sulfide on Kidney Injury in Rat Model of Crush Syndrome. *J Surg Res*. 2019;235:470-478. <https://doi.org/10.1016/j.jss.2018.10.033>
25. Shperling IA, Shulepov AV, Shperling NV, Yurkevich YV, Zargorova NI, Kuzmina OYu, Arutyunyan AA. Sanogenetic and pharmacological effects of local application of hyaluronic acid in experimental soft tissue compression trauma. *Krymskiy zhurnal eksperimental'noy i klinicheskoy meditsiny*. 2020;10(2):53-60. (In Russ). <https://doi.org/10.37279/2224-6444-2020-10-2-53-60>

## Сведения об авторах

**Шулепов Александр Васильевич**, кандидат медицинских наук, научный сотрудник ФГБУ «Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины» Министерства обороны Российской Федерации (195043, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Лесопарковая, д. 4).

**Вклад в статью:** подготовка и редактирование текста.

**ORCID:** 0000-0002-6134-809X

**Шперлинг Максим Игоревич**, клинический ординатор первой кафедры терапии усовершенствования врачей ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации (194044, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Лебедева, д. 6, лит. Ж).

**Вклад в статью:** проведение исследования.

**ORCID:** 0000-0002-3274-2290

**Юркевич Юрий Васильевич**, доктор медицинских наук, профессор, старший научный сотрудник ФГБУ «Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины» Министерства обороны Российской Федерации (195043, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Лесопарковая, д. 4).

**Вклад в статью:** разработка концепции статьи.

**ORCID:** 0000-0002-9385-7104

**Шперлинг Наталья Владимировна**, доктор медицинских наук, доцент, старший научный сотрудник ФГБУ «Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины» Министерства обороны Российской Федерации (195043, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Лесопарковая, д. 4).

**Вклад в статью:** утверждение окончательного варианта статьи.

**ORCID:** 0000-0002-7865-486X

**Минаева Любовь Валерьевна**, кандидат медицинских наук, старший преподаватель кафедры клинической биохимии и лабораторной диагностики ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации (194044, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Лебедева, д. 6, лит. Ж).

**Вклад в статью:** проведение исследования.

**ORCID:** 0000-0001-8049-7341

Статья поступила: 06.07.2022г.

Принята в печать: 31.08.2022г

Контент доступен под лицензией CC BY 4.0.

## Authors

**Dr. Alexander V. Shulepov**, MD, PhD, Research Fellow, Research Institute for Military Medicine (4, Lesoparkovaya Street, St. Petersburg, 195043, Russian Federation).

**Contribution:** wrote the manuscript.

**ORCID:** 0000-0002-6134-809X

**Dr. Maxim I. Shperling**, MD, Resident, First Department (Advanced Medical Training Therapy), Military Medical Academy (6, lit. G, Lebedeva Street, St. Petersburg, 194044, Russian Federation).

**Contribution:** conducted the experiments.

**ORCID:** 0000-0002-3274-2290

**Prof. Yuri V. Yurkevich**, MD, DSc, Professor, Senior Research Fellow, Research Institute for Military Medicine (4, Lesoparkovaya Street, St. Petersburg, 195043, Russian Federation).

**Contribution:** conceived and designed the study.

**ORCID:** 0000-0002-9385-7104

**Dr. Natalia V. Shperling**, MD, DSc, Senior Research Fellow, Research Institute for Military Medicine (4, Lesoparkovaya Street, St. Petersburg, 195043, Russian Federation).

**Contribution:** wrote the manuscript.

**ORCID:** 0000-0002-7865-486X

**Dr. Lyubov V. Minaeva**, MD, PhD, Senior Lecturer, Department of Clinical Biochemistry and Laboratory Diagnostics, Military Medical Academy (6, lit. G, Lebedeva Street, St. Petersburg, 194044, Russian Federation).

**Contribution:** conducted the experiments.

**ORCID:** 0000-0002-8049-7341

Received: 06.07.2022

Accepted: 31.08.2022

Creative Commons Attribution CC BY 4.0.

УДК 616-092:616.345-006-052  
<https://doi.org/10.23946/2500-0764-2022-7-3-17-22>

# ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ТРАНСФОРМИРУЮЩЕГО ФАКТОРА РОСТА $\beta$ 1 У БОЛЬНЫХ КОЛОРЕКТАЛЬНЫМ РАКОМ

ЧЕТВЕРЯКОВ А.В.<sup>1\*</sup>, ЦЕПЕЛЕВ В.Л.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Чита, Россия

## Резюме

**Цель.** Оценка уровня TGF- $\beta$ 1 в сыворотке крови, ткани опухоли и лимфатических узлов у пациентов с новообразованиями толстого кишечника.

**Материалы и методы.** Исследование выполнено на базе ГУЗ «Забайкальский краевой онкологический диспансер», г. Чита, включало 44 пациента с колоректальным раком, а также 25 больных с доброкачественными новообразованиями толстой кишки, проходивших лечение в период с 2019 по 2020 гг. Контрольная группа включала 25 пациентов, проходивших лечение (пластика колостомы) в ГУЗ «Краевая клиническая больница» г. Чита. Концентрацию TGF- $\beta$ 1 определяли в сыворотке крови, в супернатанте гомогената ткани опухоли и лимфатических узлов с помощью метода проточной цитофлуометрии на анализаторе CytoFlex LX (Beckman Coulter, США), используя набор для мультиплексного анализа LEGENDplex™ HU (Immune Checkpoint, США).

**Результаты.** Установлено, что уровень TGF- $\beta$ 1 в сыворотке крови у пациентов с раком толстой кишки был меньше в 1,38 [1,38; 1,50] раза по сравнению с группой контроля. Концентрация TGF- $\beta$ 1 в сыворотке крови у

больных с раком толстой кишки ниже по отношению к группе пациентов с доброкачественными новообразованиями толстого кишечника в 1,58 [1,23; 2,01] раза. Показано, что уровень TGF- $\beta$ 1 в опухолевой ткани у пациентов с раком толстой кишки больше в 5,91 [3,86; 7,81] раза, чем в группе контроля. При сравнении концентрации TGF- $\beta$ 1 у пациентов с раком толстой кишки и больными с доброкачественными новообразованиями толстого кишечника, статистических различий выявлено не было.

**Заключение.** Полученные данные демонстрируют увеличение уровня TGF- $\beta$ 1 в ткани опухоли у пациентов с колоректальным раком. В то же время концентрация TGF- $\beta$ 1 в сыворотке крови у больных с раком толстой кишки ниже чем в контрольной группе.

**Ключевые слова:** колоректальный рак, TGF- $\beta$ 1, иммунитет

## Конфликт интересов

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

## Источник финансирования

Исследование не имеет спонсорской поддержки.

## Для цитирования:

Четверяков А.В., Цепелев В.Л. Патогенетическое значение трансформирующего фактора роста  $\beta$ 1 у больных колоректальным раком. *Фундаментальная и клиническая медицина*. 2022; 7(3): 17-22. <https://doi.org/10.23946/2500-0764-2022-7-3-17-22>

## \*Корреспонденцию адресовать:

Четверяков Андрей Валерьевич, 672000, Россия, г. Чита, ул. Горького, д. 39а, E-mail: [yasnogorsk94@gmail.com](mailto:yasnogorsk94@gmail.com)  
© Четверяков А.В. и др.

## ORIGINAL RESEARCH

# PATHOGENETIC SIGNIFICANCE OF TRANSFORMING GROWTH FACTOR $\beta$ 1 IN PATIENTS WITH COLORECTAL CANCER

Andrey V. Chetveryakov<sup>1</sup> \*, Viktor L. Tsepelev<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Chita State Medical Academy, Chita, Russian Federation

## English ►

## Abstract

**Aim.** We aimed to evaluate levels of transforming growth factor  $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1) in the serum, lymph nodes, and primary tumour in patients with colorectal cancer.

**Materials and Methods.** Here we enrolled 44 patients with colorectal cancer and 25 patients with benign tumours of the colon admitted to Chita Regional Cancer Centre in 2019-2020. The control group included 25 patients with colon injury. The concentration of TGF- $\beta$ 1 in the serum, lymph nodes, and tumour homogenate was measured by flow cytometry (CytoFlex LX analyzer and LEG-ENDDplex HU multiplex analysis kit).

**Results.** Serum level of TGF- $\beta$ 1 in patients with colorectal cancer was 1.58-fold lower than in those

with benign colon tumours and 1.38-fold lower than in the control group. In contrast, TGF- $\beta$ 1 level in tumor tissue was 5.91 (3.86; 7.81) fold higher than in the injured colonic tissue from the control group, although there were no statistically significant differences between the cancerous tissue and benign neoplasms.

**Conclusion.** TGF- $\beta$ 1 is increased in tumour tissue but reduced in the serum of patients with colorectal cancer.

**Keywords:** colorectal cancer, TGF- $\beta$ 1, immunity

### Conflict of Interest

None declared.

### Funding

There was no funding for this project.

### For citation:

Andrey V. Chetveryakov, Viktor L. Tsepelev. Pathogenetic significance of transforming growth factor  $\beta$ 1 in patients with colorectal cancer. *Fundamental and Clinical Medicine*. (In Russ.). 2022;2(3): 17-22. <https://doi.org/10.23946/2500-0764-2022-7-3-17-22>

### \*Corresponding author:

Dr. Andrey V. Chetveryakov, 39a, Gor'kogo Street, Chita, 672000, Russian Federation, E-mail: yasnogorsk94@gmail.com

© Andrey V. Chetveryakov, et al.

## Введение

Исследования последних лет демонстрируют, что значимую роль в росте и развитии злокачественного новообразования играют не только контрольные иммунные точки, способствующие «ускользанию» опухоли от иммунного ответа, но и ряд белковых соединений, контролирующих процессы клеточного деления, дифференцировки клеток и апоптоза. К таким соединениям относится трансформирующий фактор роста- $\beta$ 1 (Transforming growth factor  $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 1), который является основной изоформой TGF- $\beta$ . Белок TGF- $\beta$ 1 продуцируется активированными Т-лимфоцитами, макрофагами и тромбоцитами. По отношению к иммунной системе TGF- $\beta$ 1 оказывает ингибирующее действие, в частности подавляет гемопоэз, синтез провос-

палительных цитокинов, ответ лимфоцитов на IL-2, IL-4 и IL-7, дифференцировку цитотоксических NK- и Т-клеток. В то же время данный цитокин усиливает синтез белков межклеточного матрикса [1]. Показано, что выключение гена TGF- $\beta$ 1 приводит к развитию генерализованной воспалительной патологии, в основе которой лежат аутоиммунные процессы. Таким образом, TGF- $\beta$ 1 является элементом обратной регуляции иммунного ответа [2]. В организме TGF- $\beta$ 1 секретируется в инактивированной форме, после активации (Free active transforming growth factor  $\beta$ 1, FA TGF- $\beta$ 1) способен запускать различные сигнальные пути (Smad, MAPK, PI3K, JNK и другие). Именно возможность принимать участие в нескольких сигнальных путях определяет двойную роль TGF- $\beta$ 1 в канцерогенезе. С одной

стороны, TGF- $\beta$ 1 может выступать как опухолевый супрессор, с другой – способствовать росту, инвазии и метастазированию злокачественных клеток путём подавления Т-клеточного иммунного ответа [3, 4].

Увеличение концентрации TGF- $\beta$ 1 зарегистрировано у больных с колоректальным раком, немелкоклеточным раком легкого, раком предстательной железы [5, 6, 7]. Более того, повышенный уровень трансформирующего фактора роста- $\beta$ 1 коррелировал с неблагоприятным прогнозом течения заболевания у пациентов с вышеуказанными локализациями. В то же время в исследовании Zivancevic-Simonovic (2016) показано, что у пациентов с раком щитовидной железы концентрация TGF- $\beta$ 1 в сыворотке крови была ниже, чем в контрольной группе [8]. Противоречивые данные требуют дальнейшего изучения роли TGF- $\beta$ 1 в канцерогенезе.

## Цель исследования

Изучение уровня активной формы TGF- $\beta$ 1 в сыворотке крови, ткани опухоли и лимфатических узлов у больных с новообразованиями толстой кишки.

## Материалы и методы

Исследование выполнено на базе ГУЗ «Забайкальский краевой онкологический диспансер» г. Чита, включало 44 пациента с колоректальным раком, а также 25 больных с доброкачественными новообразованиями толстой кишки, проходившие лечение в период с 2019 по 2020 гг. Контрольная группа включала 25 пациентов, проходивших лечение (пластика колостомы, сформированной ранее по поводу травм толстой кишки), в ГУЗ «Краевая клиническая больница» г. Чита. Пациенты были обследованы в соответствии с клиническими рекомендациями, утвержденными Минздравом России [9]. Каждый больной выразил согласие на участие и подписал информированное добровольное согласие. Исследование выполнено согласно требованиям комиссии по этике ФГБОУ ВО Читинской государственной медицинской академии Минздрава России, а также в соответствии с требованиями Хельсинкской декларации всемирной медицинской ассоциации (2013). Критерии включения в исследование: согласие пациента на участие в исследовании, наличие опухоли толстого кишечника. Критерии исключения: пациенты с положительным ВИЧ-статусом, аутоиммунными заболеваниями, вирусными и бактериальными

инфекциями, больные проходившие курс химиотерапевтического или лучевого лечения перед оперативным пособием.

При гистологическом исследовании в 39 случаях (88,6%) ткань опухоли была представлена умеренно дифференцированной аденокарциномой (G2). В 3 случаях (6,8%) – высокодифференцированной аденокарциномой (G1). В 2 случаях (4,6%) – низкодифференцированной аденокарциномой (G3). У 6 пациентов диагностирована I стадия процесса, у 24 – II стадия, у 8 – III стадия и у 6 – IV стадия рака.

Забор крови проводили за 2 часа до начала оперативного вмешательства. Биоптаты ткани опухоли и ткани лимфатических узлов массой до 1 грамма гомогенизировали при помощи гомогенизатора Ultra-Turrax T 10 basic (IKA, Германия) в фосфатно-солевом буфере (pH 7,4), далее центрифугировали при 5000 обр./мин в течении 10 минут и отбирали супернатант. Концентрацию TGF- $\beta$ 1 в сыворотке крови и супернатанте тканей определяли методом проточной цитофлуориметрии на анализаторе CytoFlex LX (Beckman Coulter, США), используя набор для мультиплексного анализа LEGENDplex™ HU (Immune Checkpoint, США) в соответствии с инструкциями производителя.

При проведении статистического анализа руководствовались принципами Международного комитета редакторов медицинских журналов (ICMJE) и рекомендациями «Статистический анализ и методы в публикуемой литературе» (SAMPL) [10, 11]. Номинальные данные описывали с указанием абсолютных значений и процентных долей. Сравнение номинальных данных исследования проводили при помощи критерия  $\chi^2$  Пирсона, позволяющего оценить значимость различий между фактическим количеством исходов или качественных характеристик выборки, попадающих в каждую категорию, и теоретическим количеством, которое можно ожидать в изучаемых группах при справедливости нулевой гипотезы [12]. Нормальность распределения количественных признаков при численности исследуемых групп менее 50 человек оценивали с помощью критерия Шапиро-Уилка. Учитывая распределение признаков, отличное от нормального во всех исследуемых группах, полученные данные представляли в виде медианы, первого и третьего квартилей: Me [Q<sub>1</sub>; Q<sub>3</sub>]. Ранговый анализ вариаций по Краскелу-Уоллису (H) выполняли для сравнения трех независимых групп по одному количественному признаку. Затем, при на-

**Таблица 1.**  
Уровень TGF- $\beta$ 1 у  
больных с новообра-  
зованиями толстого  
кишечника.

**Table 1.**  
TGF- $\beta$ 1 level in  
patients with  
colorectal cancer,  
benign colon  
tumours, and controls  
with colon injury.

Концентрация TGF- $\beta$ 1 (пг/мл) TGF- $\beta$ 1 level (pg/mL)	Группы исследуемых пациентов Patient groups			P
	Контрольная группа Colon injury n = 25	Доброкачественная опухоль Benign colon tumours n = 25	Колоректальный рак Colorectal cancer n = 44	
Сыворотка крови Serum	6,9 [6,8; 9,8]	7,9 [7,7; 10,1]	5,7 [5,7; 8,0]	< 0,001
Ткань опухоли Tumour tissue homogenate	5,7 [5,7; 8,0]	15,3 [14,5; 22,2]	25,7 [20,9; 44,5]	< 0,001

личии статистически значимых различий, с учетом поправки Бонферрони, проводили попарное сравнение с помощью критерия Манна-Уитни [13]. Для определения фактической степени параллелизма между исследуемыми параметрами использовали коэффициент корреляции Спирмена. Силу связи между исследуемыми параметрами определяли по шкале Чеддока [14]. Статистическую обработку результатов исследования осуществляли с помощью пакета программ IBM SPSS Statistics Version 25.0 (International Business Machines Corporation, США).

## Результаты

Нами установлено, что уровень TGF- $\beta$ 1 в сыворотке крови у пациентов с раком толстой кишки был меньше в 1,38 [1,38; 1,50] раза по сравнению с группой контроля ( $U=237,0$ ,  $p=0,003$ ). Концентрация TGF- $\beta$ 1 в сыворотке крови у больных с раком толстой кишки ниже по отношению к группе пациентов с доброкачественными новообразованиями толстого кишечника в 1,58 [1,23; 2,01] раза ( $U=192,5$ ,  $p<0,001$ ), **таблица 1**.

Обратная динамика наблюдалась при исследовании данного белка в ткани новообразования. Так, концентрация TGF- $\beta$ 1 в опухолевой ткани у пациентов с раком толстой кишки выше в 5,91 [3,86; 7,81] раза по отношению к группе контроля ( $U=99,5$ ,  $p<0,001$ ). При сравнении значений уровня TGF- $\beta$ 1 в ткани между пациентами с раком толстой кишки и больными с доброкачественными новообразованиями толстого кишечника, статистически значимых различий выявлено не было ( $U=336,5$ ,  $p=0,13$ ). У пациентов с колоректальным раком дополнительно определяли концентрацию TGF- $\beta$ 1 в ткани регионарных лимфатических узлов, которая составила 157,8 [153,3; 236,9] пг/мл.

## Обсуждение

Нами установлено, что у больных с раком толстой кишки значительно увеличивается кон-

центрация TGF- $\beta$ 1 в опухолевой ткани, причем отмечен рост уровня TGF- $\beta$ 1 не только в ткани злокачественного, но и доброкачественного новообразования. Аналогичные данные были получены в клеточных культурах у пациенток с раком шейки матки [15]. Также высокий уровень экспрессии TGF- $\beta$ 1 в ткани опухоли наблюдался у больных с раком предстательной железы, холангиокарциномой [16]. Значение трансформирующего фактора роста- $\beta$ 1 в канцерогенезе определяется способностью данного белка угнетать Т-клеточный иммунный ответ, подавлять цитотоксическую активность NK-клеток, стимулировать рост новых кровеносных и лимфатических сосудов. Показана корреляция высокого уровня TGF- $\beta$ 1 в ткани опухоли со стадией заболевания, поражением лимфатических узлов и наличием отдаленных метастазов [17].

В то же время на ранних стадиях заболевания TGF- $\beta$ 1 принимает участие в сдерживании пролиферации опухолевых клеток. Основными механизмами угнетения роста опухоли, в которых участвует TGF- $\beta$ 1, являются: активация апоптоза, снижение пролиферации клеток и ингибирование активности теломеразы [18, 19]. Индукция апоптоза эпителиальных и эндотелиальных клеток осуществляется при помощи транскрипционного фактора p53. Также возможно использование и p53-независимого пути, например, JNK (с-Jun-N-терминальные киназы) [20]. Остановка клеточного цикла осуществляется при взаимодействии TGF- $\beta$ 1 со своими рецепторами, что приводит к образованию комплексов Smad-белков. Перемещение этих белков из цитоплазмы в ядро активирует подавление пролиферации клеток. Ингибирование теломеразы осуществляется TGF- $\beta$ 1 путём воздействия на ген hTERT, уровень которого определяет активность теломеразы [21].

С другой стороны, доказано участие TGF- $\beta$ 1 в прогрессировании злокачественного новообразования. Так, показано, что TGF- $\beta$ 1 спо-

способствует экспрессии сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF), который отвечает за регулирование роста новых кровеносных и лимфатических сосудов опухоли и способствует ее прогрессии [22, 23]. TGF- $\beta$ 1 снижает продукцию интерлейкина-2, что приводит к ингибированию активности эффекторных Т-клеток [22]. Белок TGF- $\beta$ 1 способен блокировать рецептор NKG2D на поверхности НК-клеток, что препятствует их цитотоксической функции и снижает противоопухолевый иммунный ответ [24, 25]. Описанные в литературе эффекты TGF- $\beta$ 1 способствуют росту опухоли.

В связи с вышесказанным возникает вопрос: в какой же момент TGF- $\beta$ 1 становится опухолем промотером? Мы считаем, что наличие

мутации в гене, кодирующем TGF- $\beta$ 1, может являться одной из причин высокой способности опухоли к инвазии и метастазированию. Также мы полагаем, что определение уровня данного белка в ткани новообразования может быть использовано как прогностический маркер для определения тактики лечения пациента и выбора линии химиотерапевтического лечения.

## Заключение

Результаты наших исследований показывают увеличение уровня TGF- $\beta$ 1 в ткани опухоли у больных с новообразованиями толстого кишечника в сравнении с контрольной группой. В то же время уровень TGF- $\beta$ 1 в сыворотке крови у пациентов со злокачественной опухолью ниже, чем в контрольной группе.

## Литература:

- Pawlak J, Blobe C. TGF- $\beta$  superfamily co-receptors in cancer. *Dev Dyn*. 2022;251(1):137-163. <https://doi.org/10.1002/dvdy.338>
- Yadav ML, Bhaskera AN, Kumar B, Mohapatra B. Identification and characterization of genetic variants of TGF $\beta$ 1 in patients with congenital heart disease. *Meta Gene*. 2022;31:100987. <https://doi.org/10.1016/j.mgene.2021.100987>
- Sulaiman A, McGarry S, Chilumula SC, Kandunuri R, Vinod V. Clinically Translatable Approaches of Inhibiting TGF- $\beta$  to Target Cancer Stem Cells in TNBC. *Biomedicines*. 2021;9(10):1386. <https://doi.org/10.3390/biomedicines9101386>
- Zhang C, Xu X, Trotter TN, Gowda PS, Lu Y, Suto MJ, Javed A, Murphy-Ullrich JE, Li J, Yang Y. Deficiency in osteoblasts promotes myeloma resistance to bortezomib by increasing tsp-1-dependent TGF- $\beta$ 1 activation and suppressing immunity in bone marrow. *Mol Cancer Ther*. 2022;21(2):347-358. <https://doi.org/10.1158/1535-7163.MCT-21-0310>
- Liu Y, Cao J, Zhu Y-N, Ma Y, Murtaza G, Li Y, Wang JH, Pu YS. C1222c deletion in exon 8 of *abl1* is involved in carcinogenesis and cell cycle control of colorectal cancer through *irs1/pi3k/akt* pathway. *Front Oncol*. 2020;10:1385. <https://doi.org/10.3389/fonc.2020.01385>
- Sun CP, Bai Y, Jiang JQ, Wu JL. Effects of laparoscopic radical surgery in the treatment of colorectal cancer and correlations of VEGF and TGF- $\beta$ 1 with prognosis. *Am J Transl Res*. 2021;13(11):12887-12896.
- Jakubowska K, Naumnik W, Niklińska W, Chyczewska E. Clinical Significance of HMGB-1 and TGF- $\beta$  Level in Serum and BALF of Advanced Non-Small Cell Lung Cancer. *Adv Exp Med Biol*. 2015;852:49-58. [https://doi.org/10.1007/5584\\_2015\\_115](https://doi.org/10.1007/5584_2015_115)
- Zivancevic-Simonovic S, Mihaljevic O, Mihaljevic D, Milosevic-Djordjevic O, Jovanovic Z, Mijatovic-Teodorovic L, Colic M. Transforming Growth Factor Beta 1 (TGF- $\beta$ 1) in Thyroid Cancer Patients: a View from the Peripheral Blood. *Ann Clin Lab Sci*. 2016;46(4):401-406.
- Злокачественные новообразования ободочной кишки и ректосигмоидного отдела. Клинические рекомендации. 2020. Ссылка активна на 27.07.2022. [https://oncology-association.ru/wp-content/uploads/2020/09/zno\\_obodochnoj\\_kishki.pdf](https://oncology-association.ru/wp-content/uploads/2020/09/zno_obodochnoj_kishki.pdf).
- Alshogran OY, Al-Delaimy WK. Understanding of international committee of medical journal editor's authorship criteria among faculty members of pharmacy and other health sciences in Jordan. *J Empir Res Hum Res Ethics*. 2018;13(3):276-284. <https://doi.org/10.1177/1556264618764575>
- Lang TA, Altman DG. Basic statistical reporting for articles published in biomedical journals: Statistical analyses and methods in the published literature or the SAMPL guidelines. *Int J Nurs Stud*. 2015;52(1):5-9. <https://doi.org/10.1016/j.ijnurstu.2014.09.006>
- Мудров В.А. Алгоритмы статистического анализа количественных признаков в биомедицинских исследованиях с помощью пакета программ SPSS. *Забайкальский медицинский вестник*. 2020;1:140-150. [https://doi.org/10.52485/19986173\\_2020\\_1\\_140](https://doi.org/10.52485/19986173_2020_1_140)
- Мудров В.А. Алгоритмы статистического анализа качественных признаков в биомедицинских исследованиях с помощью пакета программ SPSS. *Забайкальский медицинский вестник*. 2020;1:151-163. [https://doi.org/10.52485/19986173\\_2020\\_1\\_151](https://doi.org/10.52485/19986173_2020_1_151)
- Мудров В.А. Алгоритмы корреляционного анализа данных в биомедицинских исследованиях с помощью пакета программ SPSS. *Забайкальский медицинский вестник*. 2020;2:169-176. [https://doi.org/10.52485/19986173\\_2020\\_2\\_169](https://doi.org/10.52485/19986173_2020_2_169)
- Kayukova EV, Sholokhov LF, Belokrinskaya TE, Tereshkov PP. Check-point proteins in patients with precancer and cervical cancer. *BioRxiv*. 2021;02.09.430409;preprint. <https://doi.org/10.1101/2021.02.09.430409>
- Al Shareef Z, Kardooni H, Murillo-Garzon V, Domenici G, Stylianakis E, Steel JH, Rabano M, Gorroño-Etxebarria I, Zabalza I, Vivanco MD, Waxman J, Kypta RM. Protective effect of stromal Dickkopf-3 in prostate cancer: opposing roles for TGF $\beta$ 1 and ECM-1. *Oncogene*. 2018;37(39):5305-5324. <https://doi.org/10.1038/s41388-018-0294-0>
- Gough NR, Xiang X, Mishra L. TGF- $\beta$  signaling in liver, pancreas, and gastrointestinal diseases and cancer. *Gastroenterology*. 2021;161(2):434-452. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2021.04.064>
- Serna IM. Estudio del papel del péptido antagonista de TGF-B1 en el desarrollo de estenosis traqueal en un modelo animal. *Blood*. 2021;16(7):4-8.
- Ungferoren H. Autocrine TGF- $\beta$  in cancer: review of the literature and caveats in experimental analysis. *Int J Mol Sci*. 2021;22(2):977. <https://doi.org/10.3390/ijms22020977>
- Yang C, Merlin D. Lipid-based drug delivery nanoplatforms for colorectal cancer therapy. *Nanomaterials*. 2020;10(7):1424. <https://doi.org/10.3390/nano10071424>
- Gungor MZ, Uysal M, Senturk S. The bright and the dark side of TGF- $\beta$  signaling in hepatocellular carcinoma: mechanisms, dysregulation, and therapeutic implications. *Cancers (Basel)*. 2022;14(4):940. <https://doi.org/10.3390/cancers14040940>
- Takano S, Uchida K, Shoji S, Itakura M, Iwase D, Aikawa J, Mukai M, Sekiguchi H, Inoue G, Takaso M. Vascular Endothelial Growth Factor Is Regulated by the Canonical and Noncanonical Transforming Growth Factor- $\beta$  Pathway in Synovial Fibroblasts Derived from Osteoarthritis Patients. *Biomed Res Int*. 2019;2019:6959056. <https://doi.org/10.1155/2019/6959056>
- Yeoh Y, Low TY, Abu N, Lee PY. Regulation of signal transduction pathways in colorectal cancer: implications for therapeutic resistance. *Peer J*. 2021;22(9):e12338. <https://doi.org/10.7717/peerj.12338>
- Kim BG, Malek E, Choi SH, Ignatz-Hoover JJ, Driscoll JJ. Novel therapies emerging in oncology to target the TGF- $\beta$  pathway. *J Hematol Oncol*. 2021;14(1):55. <https://doi.org/10.1186/s13045-021-01053-x>
- Tauriello DVF, Sancho E, Battle E. Overcoming TGF $\beta$ -mediated immune evasion in cancer. *Nat Rev Cancer*. 2022;22(1):25-44. <https://doi.org/10.1038/s41568-021-00413-6>

## References:

- Pawlak J, Blobe C. TGF- $\beta$  superfamily co-receptors in cancer. *Dev Dyn*. 2022;251(1):137-163. <https://doi.org/10.1002/dvdy.338>
- Yadav ML, Bhaskera AN, Kumar B, Mohapatra B. Identification and characterization of genetic variants of TGFB1 in patients with congenital heart disease. *Meta Gene*. 2022;31:100987. <https://doi.org/10.1016/j.mgene.2021.100987>
- Sulaiman A, McGarry S, Chilumula SC, Kandunuri R, Vinod V. Clinically Translatable Approaches of Inhibiting TGF- $\beta$  to Target Cancer Stem Cells in TNBC. *Biomedicines*. 2021;9(10):1386. <https://doi.org/10.3390/biomedicines9101386>
- Zhang C, Xu X, Trotter TN, Gowda PS, Lu Y, Suto MJ, Javed A, Murphy-Ullrich JE, Li J, Yang Y. Deficiency in osteoblasts promotes myeloma resistance to bortezomib by increasing tsp-1-dependent TGF- $\beta$ 1 activation and suppressing immunity in bone marrow. *Mol Cancer Ther*. 2022;21(2):347-358. <https://doi.org/10.1158/1535-7163.MCT-21-0310>
- Liu Y, Cao J, Zhu Y-N, Ma Y, Murtaga G, Li Y, Wang JH, Pu YS. C1222c deletion in exon 8 of ab1 is involved in carcinogenesis and cell cycle control of colorectal cancer through irs1/pi3k/akt pathway. *Front Oncol*. 2020;10:1385. <https://doi.org/10.3389/fonc.2020.01385>
- Sun CP, Bai Y, Jiang JQ, Wu JL. Effects of laparoscopic radical surgery in the treatment of colorectal cancer and correlations of VEGF and TGF- $\beta$ 1 with prognosis. *Am J Transl Res*. 2021;13(11):12887-12896.
- Jakubowska K, Naumnik W, Niklińska W, Chyczewska E. Clinical Significance of HMGB-1 and TGF- $\beta$  Level in Serum and BALF of Advanced Non-Small Cell Lung Cancer. *Adv Exp Med Biol*. 2015;852:49-58. [https://doi.org/10.1007/5584\\_2015\\_115](https://doi.org/10.1007/5584_2015_115).
- Zivancevic-Simonovic S, Mihaljevic O, Mihajlovic D, Milosevic-Djordjevic O, Jovanovic Z, Mijatovic-Teodorovic L, Colic M. Transforming Growth Factor Beta 1 (TGF- $\beta$ 1) in Thyroid Cancer Patients: a View from the Peripheral Blood. *Ann Clin Lab Sci*. 2016;46(4):401-406.
- Zlokachestvennye novoobrazovaniya obodochnoy kishki i rektosigmoidnogo otdela. Klinicheskie rekomendatsii. 2020. (In Russ). Available from: [https://oncology-association.ru/wp-content/uploads/2020/09/zno\\_obodochnoj\\_kishki.pdf](https://oncology-association.ru/wp-content/uploads/2020/09/zno_obodochnoj_kishki.pdf) Accessed: 27 July 2020.
- Alshogran OY, Al-Delaimy WK. Understanding of international committee of medical journal editor's authorship criteria among faculty members of pharmacy and other health sciences in Jordan. *J Empir Res Hum Res Ethics*. 2018;13(3):276-284. <https://doi.org/10.1177/1556264618764575>
- Lang TA, Altman DG. Basic statistical reporting for articles published in biomedical journals: Statistical analyses and methods in the published literature or the SAMPL guidelines. *Int J Nurs Stud*. 2015;52(1):5-9. <https://doi.org/10.1016/j.ijnurstu.2014.09.006>
- Mudrov VA. Statistical analysis algorithms of quantitative features in biomedical research using the spss software package. *Transbaikalian medical bulletin*. 2020;1:140-150. (In Russ). [https://doi.org/10.52485/19986173\\_2020\\_1\\_140](https://doi.org/10.52485/19986173_2020_1_140)
- Mudrov VA. Statistical analysis algorithms of qualitative features in biomedical research using the SPSS software package. *Zabaijalskij medicinskij vestnik*. 2020;1:151-163. (In Russ). [https://doi.org/10.52485/19986173\\_2020\\_1\\_151](https://doi.org/10.52485/19986173_2020_1_151)
- Mudrov VA. Algorithms for performing data correlation analysis in biomedical research using the SPSS software package. *Transbaikalian medical bulletin*. 2020;2:169-176. (In Russ). [https://doi.org/10.52485/19986173\\_2020\\_2\\_169](https://doi.org/10.52485/19986173_2020_2_169)
- Kayukova EV, Sholokhov LF, Belokrinitskaya TE, Tereshkov PP. Checkpoint proteins in patients with precancer and cervical cancer. *BioRxiv*. 2021;02.09.430409:preprint. <https://doi.org/10.1101/2021.02.09.430409>
- Al Shareef Z, Kardooni H, Murillo-Garzon V, Domenici G, Stylianakis E, Steel JH, Rabano M, Gorroño-Etxebarria I, Zabalza I, Vivanco MD, Waxman J, Kypta RM. Protective effect of stromal Dickkopf-3 in prostate cancer: opposing roles for TGFB1 and ECM-1. *Oncogene*. 2018;37(39):5305-5324. <https://doi.org/10.1038/s41388-018-0294-0>
- Gough NR, Xiang X, Mishra L. TGF- $\beta$  signaling in liver, pancreas, and gastrointestinal diseases and cancer. *Gastroenterology*. 2021;161(2):434-452. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2021.04.064>
- Serna IM. Estudio del papel del péptido antagonista de TGF- $\beta$ 1 en el desarrollo de estenosis traqueal en un modelo animal. *Blood*. 2021;16(7):4-8.
- Ungefloren H. Autocrine TGF- $\beta$  in cancer: review of the literature and caveats in experimental analysis. *Int J Mol Sci*. 2021;22(2):977. <https://doi.org/10.3390/ijms22020977>
- Yang C, Merlin D. Lipid-based drug delivery nanoplatfoms for colorectal cancer therapy. *Nanomaterials*. 2020;10(7):1424. <https://doi.org/10.3390/nano10071424>
- Gungor MZ, Uysal M, Senturk S. The bright and the dark side of TGF- $\beta$  signaling in hepatocellular carcinoma: mechanisms, dysregulation, and therapeutic implications. *Cancers (Basel)*. 2022;14(4):940. <https://doi.org/10.3390/cancers14040940>
- Takano S, Uchida K, Shoji S, Itakura M, Iwase D, Aikawa J, Mukai M, Sekiguchi H, Inoue G, Takaso M. Vascular Endothelial Growth Factor Is Regulated by the Canonical and Noncanonical Transforming Growth Factor- $\beta$  Pathway in Synovial Fibroblasts Derived from Osteoarthritis Patients. *Biomed Res Int*. 2019;2019:6959056. <https://doi.org/10.1155/2019/6959056>
- Yeoh Y, Low TY, Abu N, Lee PY. Regulation of signal transduction pathways in colorectal cancer: implications for therapeutic resistance. *Peer J*. 2021;22(9):e12338. <https://doi.org/10.7717/peerj.12338>
- Kim BG, Malek E, Choi SH, Ignatz-Hoover JJ, Driscoll JJ. Novel therapies emerging in oncology to target the TGF- $\beta$  pathway. *J Hematol Oncol*. 2021;14(1):55. <https://doi.org/10.1186/s13045-021-01053-x>
- Tauriello DVF, Sancho E, Batlle E. Overcoming TGF $\beta$ -mediated immune evasion in cancer. *Nat Rev Cancer*. 2022;22(1):25-44. <https://doi.org/10.1038/s41568-021-00413-6>

## Сведения об авторах

**Четверяков Андрей Валерьевич**, аспирант кафедры госпитальной хирургии ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации (672000, Россия, г. Чита, ул. Горького, д. 39а), врач-хирург торако-абдоминального хирургического отделения ГУЗ «Забайкальский крайевой онкологический диспансер» (Забайкальский край, 672027, г. Чита, ул. Ленинградская, д. 104).

**Вклад в статью:** концепция дизайна исследования; сбор материала; анализ и интерпретация данных; статистическая обработка данных; написание текста; обсуждение окончательной версии статьи.  
**ORCID:** 0000-0002-8472-107X

**Целев Виктор Львович**, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой госпитальной хирургии ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации (672000, Россия, г. Чита, ул. Горького, д. 39а).

**Вклад в статью:** концепция дизайна исследования; редактирование текста; обсуждение окончательной версии статьи.  
**ORCID:** 0000-0002-2166-5154

Статья поступила: 13.06.2022г.

Принята в печать: 31.08.2022г.

Контент доступен под лицензией CC BY 4.0.

## Authors

**Dr. Andrey V. Chetveryakov**, MD, PhD Student, Department of Hospital Surgery, Chita State Medical Academy (39a, Gor'kogo Street, Chita, 672000, Russian Federation); Surgeon, Surgery Unit, Chita Regional Cancer Centre (104, Leningradskaya Street, Chita, 672027, Russian Federation).

**Contribution:** conceived and designed the study; collected and processed the data; performed the data analysis; wrote the manuscript.  
**ORCID:** 0000-0002-8472-107X

**Prof. Victor L. Tsepelev**, MD, DSc, Professor, Head of the Department of Hospital Surgery, Chita State Medical Academy (39a, Gor'kogo Street, Chita, 672000, Russian Federation).

**Contribution:** conceived and designed the study; wrote the manuscript.  
**ORCID:** 0000-0002-2166-5154

Received: 13.06.2022

Accepted: 31.08.2022

Creative Commons Attribution CC BY 4.0.

УДК 616.718.41-002.4:612.08  
<https://doi.org/10.23946/2500-0764-2022-7-3-23-30>

# ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МОДЕЛЬ АСЕПТИЧЕСКОГО НЕКРОЗА ГОЛОВКИ БЕДРЕННОЙ КОСТИ ПРИ ИЗУЧЕНИИ БОЛЕЗНИ ЛЕГГА-КАЛЬВЕ-ПЕРТЕСА

ШАБАЛДИН Н.А.<sup>1\*</sup>, ШАБАЛДИН А.В.<sup>1,2</sup>, ПОПОВА Н.Е.<sup>1</sup>, ПОСТНИКОВА А.В.<sup>1</sup>, БОГДАНОВ Л.А.<sup>2</sup>, ЦЕПОКИНА А.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Кемерово, Россия

<sup>2</sup> ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», г. Кемерово, Россия

## Резюме

**Цель.** Разработать модель асептического некроза головки бедренной кости на крысах породы Вистар в соответствии с современными представлениями о патогенезе болезни Легга-Кальве-Пертеса.

**Материалы и методы.** Проведена хирургическая индукция асептического некроза головки бедренной кости 8 крысам линии Вистар. Наблюдение за животными проводилось в течение 8 недель. Для достижения манифестации асептического некроза под общим ингаляционным наркозом раствором изофлюрана выполнялся хирургический доступ длиной до 3 см по наружной поверхности бедра, в проекции тазобедренного сустава. Распатором производилась круговая отслойка с последующим иссечением надкостницы в проксимальной трети бедренной кости. Вокруг шейки бедренной кости накладывалась плотная лигатура из викрила для создания очага гипоперфузии головки бедренной кости. В полость тазобедренного сустава вводилось 1,5 мл 2% раствора реополиглокина, что увеличивало внутрисуставное давление. Послойно накладывались швы на рану.

**Результаты.** Предлагаемая модель хирургической индукции асептического некроза включает два основных компонента патогенеза болезни Легга-Кальве-Пертеса: увеличение вну-

трисуставного давления на фоне дефицита перфузии головки бедренной кости. Во всех исследуемых случаях (100%) удалось достичь манифестации асептического некроза головки бедренной кости, что подтверждено результатами клинического, рентгенологического, гистологического исследований. В целом картина изменений со стороны проксимального отдела бедренной кости через 8 недель после хирургического вмешательства соответствовала стадии импрессионного перелома.

**Заключение.** Представленная модель формирования асептического некроза головки бедренной кости соответствует современным представлениям о патогенезе болезни Легга-Кальве-Пертеса и может быть использована в экспериментальных исследованиях.

**Ключевые слова:** модельный эксперимент, асептический некроз, болезнь Легга-Кальве-Пертеса.

### Конфликт интересов

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

### Источник финансирования

Исследование выполнено за счет финансирования гранта Президента Российской Федерации для государственной поддержки молодых российских ученых – кандидатов наук, МК-4132.2022.3

### Для цитирования:

Шабалдин Н.А., Шабалдин А.В., Попова Н.Е., Постникова А.В., Богданов Л.А., Цепочкина А.В. Экспериментальная модель асептического некроза головки бедренной кости при изучении болезни Легга-Кальве-Пертеса. *Фундаментальная и клиническая медицина*. 2022;7(3): 23-30. <https://doi.org/10.23946/2500-0764-2022-7-3-23-30>

### \*Корреспонденцию адресовать:

Шабалдин Никита Андреевич, 650056, Россия, г. Кемерово, ул. Ворошилова, д. 22а, E-mail: [Shabaldin.nk@yandex.ru](mailto:Shabaldin.nk@yandex.ru)  
© Шабалдин Н.А. и др.

## ORIGINAL RESEARCH

# MODELING OF FEMORAL HEAD ASEPTIC NECROSIS IN WISTAR RATS

Nikita A. Shabaldin<sup>1\*</sup>, Andrey V. Shabaldin<sup>1,2</sup>, Natalia E. Popova<sup>1</sup>, Alyona V. Postnikova<sup>1</sup>, Leo A. Bogdanov<sup>2</sup>, Anna V. Tsepokina<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Kemerovo State Medical University, Kemerovo, Russian Federation

<sup>2</sup>Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases, Kemerovo, Russian Federation

**English ▶****Abstract**

**Aim.** To develop an animal model of femoral head aseptic necrosis for studying Legg–Calvé–Perthes disease.

**Materials and Methods.** To induce the development of aseptic necrosis, we used Wistar rats (n = 8) which suffered from combined hypoperfusion of the femoral head and increased intra-articular pressure in the hip joint. Having employed isoflurane anesthesia, we performed an incision (≈ 3 cm length) on the outer surface of the thigh in the projection of the hip joint and then excised periosteum in the proximal third of the femur. A dense vicryl ligature was applied around the femoral neck to reduce blood perfusion of the femoral head. Further, 1.5 mL 2% rheopolyglucinum solution (10% isotonic dextran, 30-40 kDa molecular weight) was injected into the hip joint cavity to increase intra-articular pressure. Rats were sacrificed upon 8-week follow-up with subsequent X-ray and histological examination.

**Results.** Our animal model of femoral head aseptic necrosis includes two main components of Legg–Calvé–Perthes disease: an increase in the intra-articular pressure and insufficient blood perfusion of the femoral head. In all (8/8) cases, aseptic necrosis of the femoral head was achieved. Eight weeks post intervention, the condition of the proximal femur 8 was similar to impression fracture.

**Conclusion.** Our model of femoral head aseptic necrosis fully reflects the pathogenesis of Legg–Calvé–Perthes disease and can be therefore used in experimental studies.

**Keywords:** model experiment, aseptic necrosis, Legg–Calvé–Perthes disease.

**Conflict of Interest**

None declared.

**Funding**

The research was carried out by funding the grant of the "President of the Russian Federation for state support of young Russian scientists – Candidates of Sciences", MK-4132.2022.3

**For citation:**

Nikita A. Shabaldin, Andrey V. Shabaldin, Natalia E. Popova, Alyona V. Postnikova, Leo A. Bogdanov, Anna V. Tsepokina. Modeling of femoral head aseptic necrosis in Wistar rats. *Fundamental and Clinical Medicine*. (In Russ.). 2022;7(3): 23-30. <https://doi.org/10.23946/2500-0764-2022-7-3-23-30>

**\*Corresponding author:**

Dr. Nikita A. Shabaldin, 22a, Voroshilova Street, Kemerovo, 650056, Russian Federation, E-mail: shabaldin.nk@yandex.ru

© Nikita A. Shabaldin, et al.

**Введение**

Лечение болезни Легга-Кальве-Пертеса остается актуальной проблемой детской ортопедии. Поздняя диагностика, тотальные формы поражения головки бедренной кости приводят к формированию грубой дисконгруэнтности в тазобедренном суставе, инвалидизации ребенка. В последнее время, на фоне развития теоретических представлений о процессах регуляции костного гомеостаза возрос интерес к изучению и разработке новых вари-

антов медикаментозного воздействия на процессы костной деструкции и ремоделирование в очаге остеонекроза. Одним из этапов внедрения в практику новых терапевтических методик является апробация эффективности и безопасности метода в экспериментах на лабораторных животных. Обязательным условием для этого является создание модели асептического некроза головки бедренной кости, максимально соответствующее патогенезу болезни Легга-Кальве-Пертеса.

Патогенез остеохондропатии головки бедренной кости остается до конца неизученным, однако современные представления включают в себя наличие предрасполагающих и производящих факторов. Так, к предрасполагающему фактору относится наличие гипоперфузии отдельного участка либо всей головки бедренной кости. Тем не менее, манифестация болезни Легга-Кальве-Пертеса связана и с производящим фактором, которым является увеличение внутрисуставного давления [1, 2].

На настоящий момент предложены как консервативные, так и хирургические методы моделирования асептического некроза головки бедренной кости на животных [3, 4, 5].

Наиболее часто хирургические способы инициации асептического некроза головки бедренной кости связаны с травматическим вывихом головки бедра, отслойкой и круговым иссечением надкостницы в области шейки, пересечением круглой связки [3, 4]. Однако представленные модели более близки к патогенезу формирования посттравматического асептического некроза головки бедренной кости.

Консервативные методики формирования асептического некроза головки бедренной кости базируются на длительном воздействии различных фармацевтических групп препаратов, вызывающих хроническую ишемию головки бедренной кости [5]. Основным минусом представленных методик является длительность процедуры инициации асептического некроза.

## Цель исследования

Разработать модель асептического некроза головки бедренной кости на крысах линии Вистар в соответствии с современными представлениями о патогенезе болезни Легга-Кальве-Пертеса.

## Материалы и методы

Исследование выполнено согласно Конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей, принятой Советом Европы (Strasbourg, Франция, 1986) и Директивой Совета 86/609/ ЕЕС от 24.11.1986 по согласованию законов, правил и административных распоряжений стран-участниц в отношении защиты животных, используемых в экспериментальных и научных целях.

Модельный эксперимент выполнялся на малых животных (крысы линии Вистар) массой

тела 250 гр., в возрасте 3 месяцев. Хирургическая индукция асептического некроза головки бедренной кости проведена 8 крысам. Наблюдение за животными проводилось в течение 8 недель. Выведение животных из эксперимента выполнялось путем декапитации гильотинным способом. Для подтверждения остеонекроза головки бедренной кости проводились клиническое, рентгенологическое, гистологическое исследования.

Для индукции асептического некроза головки бедренной кости у крыс под общим ингаляционным наркозом раствором изофлюрана (99,9%) выполнялся хирургический доступ длиной до 3 см в проекции тазобедренного сустава по наружной поверхности одной тазовой конечности. Тупым способом разводились мягкие ткани проксимального отдела бедра, в области большого, верхней трети третьего вертела бедренной кости. Распатором производилась круговая отслойка, с последующим иссечением надкостницы в проксимальной трети бедренной кости. Визуализировалась шейка бедренной кости, вокруг которой накладывалась плотная лигатура из викрила, диаметром 35 мм. В полость тазобедренного сустава под визуальным контролем вводилось 1,5 мл 2% раствора реополиглокина, что увеличивало внутрисуставное давление и создавало предпосылки для формирования коллапса головки бедренной кости. Послойно накладывались швы на рану.

После выведения животных из эксперимента проводилась экстирпация бедренных костей, как со стороны индукции остеонекроза в качестве исследуемой, так и с контрлатеральной условно-здоровой стороны в качестве контроля. Выполнялись стандартное рентгенологическое исследование, мультиспиральная компьютерная томография.

Для проведения гистологического исследования использовался бескислотный метод декальцинации кости. Экстирпированные бедренные кости фиксировались в 10% растворе формалина. После этого проводилась декальцинация солями этилендиаминотетрауксусной кислоты и заливка парафином. Окрашивание полученных препаратов выполнялась гематоксилином эозином.

Статистическую обработку полученных результатов проводили в пакетах программ Statisticafor WINDOWS фирмы StatSoftInc., версия 10.0 по правилам вариационной статистики. Номинальные данные описывались в про-

**Рисунок 1.**

Изучение амплитуды шага у крыс через 4 недели после хирургической индукции асептического некроза головки бедренной кости.

**Figure 1.**

Pitch amplitude in rats 4 weeks post intervention to cause aseptic necrosis of the femoral head.



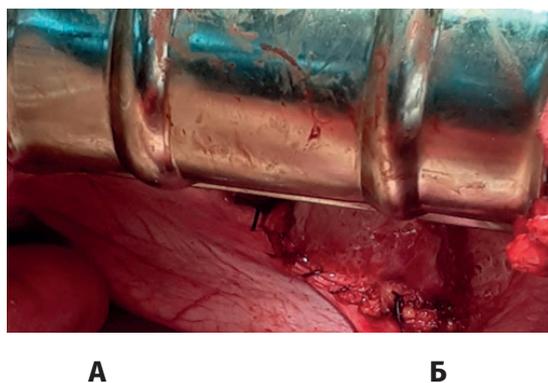
центных долях (%) и в абсолютных значениях. Оценка особенностей распределения признаков показала его параметрические характеристики. Количественные данные представляли в виде средней и стандартной ошибки ( $M \pm m$ ). Сравнение значений уровней метрических показателей в несвязанных выборках проводили с помощью критерия Стьюдента. Уровень статистической значимости выявлялся при  $p < 0,05$ , что соответствует стандартным требованиям [6].

**Рисунок 2.**

Рентгенография и макропрепарат бедренных костей у крыс после хирургического вмешательства. А – асептический некроз, Б – здоровая сторона.

**Figure 2.**

X-ray and gross examination of rat femur 8 weeks post intervention to cause aseptic necrosis of the femoral head. А – aseptic necrosis, В – healthy (contralateral) side.

**Результаты**

При клиническом исследовании проведена ихнометрия амплитуды шага импрегнационным способом. Для этого крысы помещались в жидкость, подкрашенную спиртовым раствором бриллиантового зеленого, после чего помещались на бумагу. Исследовалась амплитуда шага по оставленным отпечаткам лап на бумаге. После хирургической индукции асептического некроза диагностирована анталгическая хромота во всех случаях (100%). Так, через 4 недели после хирургического вмешательства длина шага на интактной стороне в среднем составляла  $80,3 \pm 2,3$  мм, в то время как на стороне асептического некроза она была значимо меньше –  $60,7 \pm 3,9$  мм ( $p < 0,05$ ; рисунок 1). В динамике через 8 недель анталгическая походка сохранялась, хотя длина шага со стороны поражения увеличилась и более соответствовала интактной стороне ( $69,7 \pm 2,8$  мм – сторона поражения;  $80,1 \pm 2,5$  мм – здоровая сторона,  $p < 0,05$ ).

При рентгенологическом исследовании во всех изучаемых случаях (100%) наблюдалась картина манифестации асептического некроза. Так, проксимальный отдел бедренной кости со стороны проведения хирургических манипуляций характеризовался выраженными явлениями остеопороза. Головка бедренной кости была значительно уплощена, что отображено в значимом уменьшении эпифизарного индекса (ЭИ) со стороны хирургического вмешательства по отношению к условно-здоровой контралатеральной стороне. Так, в среднем на стороне индукции асептического некроза ЭИ составил  $38,06 \pm 4,17$  %, а на интактной стороне –  $47,75 \pm 5,39$  % ( $p < 0,05$ ). Представленная рентгенологическая картина соответствовала стадии импрессионного перелома (рисунок 2).



Данные мультиспиральной компьютерной томографии также подтвердили уплощение головки бедренной кости, однако, учитывая малый размер бедренной кости у крыс, более детальная диагностика была затруднительна.

При проведении гистологического исследования здоровой кости в диафизе было выявлено плотное параллельное расположение костных пластинок, ядра остеоцитов – овоидные нормохромные. В костно-мозговом канале обнаруживался обильный клеточный костный мозг.

Гистологическое исследование показало, что пластинка роста в метафизе имела строение волокнистого хряща с плотным расположением ядер в колонках клеток.

В эпифизе около половины площади занимали костные балки, пространства между ними были заняты костным мозгом, красным, клеточным. Суставной хрящ имел строение волокнистого и гиалинового. Показано, что его слой был равномерный, а наружная поверхность ровная и расположение клеток упорядоченное, ядра – нормохромные.

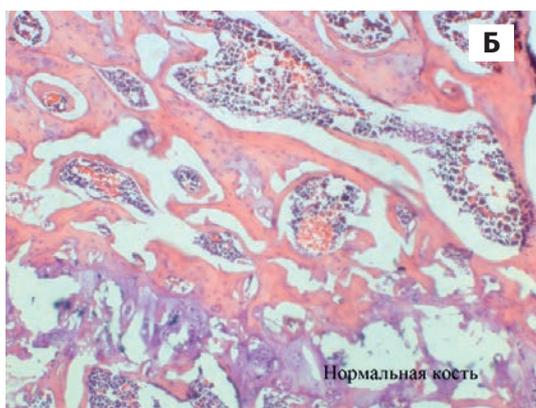
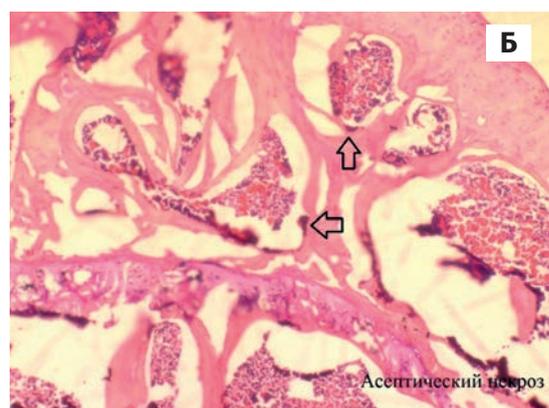
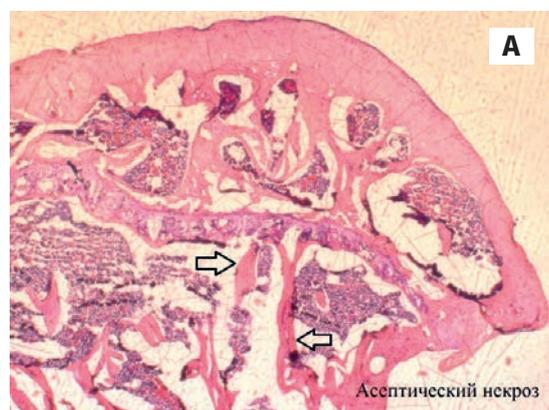
В патологически измененной кости в диафизе прослеживалась волнообразность расположения костных пластинок, ядра остеоцитов были пикнотичны (уменьшены, гиперхромны),

была выявлена потеря части остеоцитов. Кроме того, отмечалось неравномерное разрастание плотной неоформленной соединительной ткани на поверхности кости в виде очагов.

Пластинка роста была с явными дистрофическими изменениями, такими как разрежения межклеточного вещества и образование в нем полостей с беспорядочным расположением ядер хондроцитов.

В эпифизе костные балки были истончены, деформированы, среди них отмечалось разрастание плотной соединительной ткани, которая частично заместила и сами балки. Красный костный мозг присутствовал, но его клеточность была уменьшена. Суставной хрящ был истончен, расположение ядер хондроцитов в нем было беспорядочное и неравномерное. Поверх хряща со стороны полости сустава выявлялось разрастание фиброзной ткани неравномерного характера

В целом в измененной кости диагностировались дистрофические изменения межклеточного вещества, и костного, и хрящевого, дистрофические изменения клеток роста и хряща, гибель заметной части клеток, разрастание плотной соединительной ткани (**рисунок 3**).



**Рисунок 3.** Гистологические препараты, окраска гематоксилин эозин, А – увеличение x 50 (стрелочкой указаны деструктивно измененные костные трабекулы), Б – увеличение x 200 (стрелочкой указаны активные остеокласты).

**Figure 3.** Histological examination of femoral head aseptic necrosis. Haematoxylin and eosin staining, A – x50 magnification (arrows indicate destruction of the bone trabeculae), B – x200 magnification (arrows indicate active osteoclasts and bone lysis).

Количественная оценка гистологических препаратов отобразила активацию остеолитических процессов со стороны хирургического вмешательства. Так, среднее количество остеокластов в поле зрения при двухсоткратном увеличении при манифестации асептического некроза составило  $8,3 \pm 0,6$  единиц, в то время как со здоровой стороны встречались лишь единичные активные остеокласты ( $0,7 \pm 0,1$  единиц,  $p < 0,05$ ). Используя программное обеспечение ImageJ, удалось рассчитать средний объем костных балок в гистологических препаратах. Так, в здоровой конечности данный показатель составил  $37,84 \pm 2,47\%$ , со стороны хирургического вмешательства он был значительно меньше –  $20,01 \pm 1,35\%$  ( $p < 0,05$ ).

## Обсуждение

Одним из этапов научно-исследовательской работы является экспериментальное моделирование на лабораторных животных. Важнейшая роль эксперимента уделяется при разработке, проверке эффективности и безопасности новых стратегий лечения различных заболеваний. Клинические исследования при этом возможны только после успешного применения в модельных экспериментах на животных. В оценке эффективности новых концепций лечения следует учитывать методику проводимого модельного эксперимента и соответствие ее представлениям о патогенезе исследуемой нозологии.

В последнее время в мировом научном сообществе растет интерес к изучению новых, таргетных методов консервативной терапии, которая на молекулярно-клеточном уровне способна влиять на регуляцию костного гомеостаза и предотвращать развитие либо ингибировать остеодеструкцию. Наиболее активно изучаются методы эффективной антирезорбтивной, анаболитической консервативной терапии болезни Легга-Кальве-Пертеса [7]. При этом для более точного изучения терапевтического эффекта новых стратегий лечения индукция асептического некроза у животных должна максимально возможно соответствовать особенностям патогенеза остеохондропатии, в противном случае эксперимент будет иметь достаточно условный характер. Известны случаи получения противоречивых данных о результатах научных работ, посвященных изучению терапевтического влияния одних и тех же генно-инженерных препаратов на течение остеодеструктивных процессов при использовании различных методик ма-

нифестации асептического некроза в экспериментах на животных [8].

В современном представлении патогенез болезни Легга-Кальве-Пертеса включает в себя предрасполагающие и производящие факторы. К предрасполагающим факторам относится ишемия либо отдельного участка, либо всей головки бедренной кости. Как правило, причиной этого являются сосудистая патология проксимального отдела бедренной кости и, наиболее часто, аномалия развития медиальной артерии, огибающей бедренную кость. К производящим факторам относится увеличение внутрисуставного давления, что связывают с дебютом синовиита тазобедренного сустава.

В предлагаемой модели индукции асептического некроза головки бедренной кости представлены два основных компонента патогенеза болезни Легга-Кальве-Пертеса – увеличенного внутрисуставного давления на фоне дефицита перфузии головки бедра [9]. Кроме того, в ходе хирургических манипуляций не выполняется вывих головки бедренной кости, при котором генез формирования асептического некроза более схож с травматическим. Использование таких моделей индукции асептического некроза при изучении остеодеструкции нетравматической природы может внести значительную долю условности в результаты работы.

Известно, что наибольшее значение в трофике головки бедренной кости играют медиальная и латеральная артерии, огибающие бедренную кость. Так, при наложении плотной лигатуры вокруг шейки бедренной кости кровоснабжение из представленных артерий прекращается, что приводит к формированию хронической ишемии. Кроме того, круговое иссечение надкостницы в проксимальной трети третьего вертела также способствует нарушению трофики проксимального отдела бедренной кости и формированию неспецифического асептического воспаления.

Создание избыточного внутрисуставного давления достигается за счет введения в полость сустава 1,5 мл 2% раствора реополиглюкина. Известно, что раствор реополиглюкина, в отличие от физиологического раствора 0,9% NaCl, длительное время сохраняется в полости сустава, что на фоне дефицита перфузии приводит к коллапсу трофики головки бедренной кости, формированию асептического некроза.

Предлагаемые хирургические манипуляции по индукции асептического некроза головки

бедренной кости создают модель длительно существующего сосудистого коллапса, формирования очага гипоперфузии головки бедренной кости. При этом увеличение внутрисуставного давления в полости тазобедренного сустава является важным фактором, способствующим дебюту остеодеструктивных процессов в области проксимального эпифиза бедра.

## Заключение

Таким образом, представленная модель формирования асептического некроза головки бедренной кости соответствует современным представлениям о патогенезе болезни Легга-Кальве-Пертеса и может быть использована в экспериментальных исследованиях.

## Литература :

1. Лобов И.Л., Мальков А.В., Лобов Н.И. Анализ физического развития и маркеров соединительнотканной дисплазии у пациентов с болезнью Пертеса. *Ортопедия, травматология и восстановительная хирургия детского возраста*. 2018;6(2):12-21. <http://doi.org/10.17816/PTORS6212-21>
2. Atsumi T, Yamano K, Muraki M, Yoshihara S, Kajihara T. The blood supply of the lateral epiphyseal arteries in Perthes' disease. *J Bone Joint Surg Br*. 2000;82(3):392-398. <http://doi.org/10.1302/0301-620x.82b3.10193>
3. Расулов Р.М., Корнилов Н.В., Большаков О.П., Аганезов С.А., Тельшев М.В. *Способ моделирования асептического некроза головки бедренной кости на лабораторных животных*. Патент РФ на изобретение №2354313. С1. 10.05.2009. Бюл. №13. Доступно по: [https://viewer.rusneb.ru/ru/000224\\_000128\\_0002354313\\_20090510\\_C1\\_RU?page=1&rotate=0&theme=white](https://viewer.rusneb.ru/ru/000224_000128_0002354313_20090510_C1_RU?page=1&rotate=0&theme=white). Ссылка активна на 28 июля 2022
4. Корыткин А.А., Захарова Д.В., Тенилин Н.А., Зыкин А.А., Живцов О.П. *Способ моделирования аваскулярного некроза головки бедренной кости*. Патент РФ на изобретение №2634031 С1. 2017.02.13. Доступно по: <https://patents.s3.yandex.net>. Ссылка активна на 28 июля 2022.
5. Лакин ГФ. *Биометрия*. М.: Высшая школа, 1990. 352 с.
6. Aruwajoye O, Aswath PB, Kim HK. Material properties of bone in the femoral head treated with ibandronate and BMP-2 following ischemic osteonecrosis. *J Ortho. Res*. 2017;35(7): 453-1460.<https://doi.org/10.1002/jor.23402>
7. Li D, Yang Z, Wei Z, Kang P. Efficacy of bisphosphonates in the treatment of femoral head osteonecrosis: A PRISMA - compliant meta-analysis of animalstudies and clinical trials. *Sci Rep*. 2018;8(1):1450 <https://doi.org/10.1038/s41598-018-19884-z>
8. Kim HK, Wiesman KD, Kulkarni V, Burgess J, Chen E, Brabham C, Ikram H, Du J, Lu A, Kulkarni AV, Dempsey M, Herring JA. Perfusion MRI in Early Stage of Legg-Calvé-Perthes Disease to Predict Lateral Pillar Involvement: A Preliminary Study. *J Bone Joint Surg Am*. 2014;96(14):1152-1160. <https://doi.org/10.2106/JBJS.M.01221>.

## References:

1. Lobov IL, Malkov AV, Lobov NI. Analysis of the physical growth and markers of connective tissue dysplasia in patients with perthes disease. *Pediatric traumatology, orthopaedics and reconstructive surgery*. 2018;6(2):12-21. (In Russ). <http://doi.org/10.17816/PTORS6212-21>
2. Atsumi T, Yamano K, Muraki M, Yoshihara S, Kajihara T. The blood supply of the lateral epiphyseal arteries in Perthes' disease. *J Bone Joint Surg Br*. 2000;82(3):392-398. <http://doi.org/10.1302/0301-620x.82b3.10193>
3. Rasulov RM, Kornilov NV, Bol'shakov OP, Aganezov SA, Telyshev MV. *Method of modelling of aseptic femur head necrosis on laboratory animals*. Patent RUS №2354313. С1. 01.2016. Byul. №34. (In Russ). Available at: [https://viewer.rusneb.ru/ru/000224\\_000128\\_0002354313\\_20090510\\_C1\\_RU?page=1&rotate=0&theme=white](https://viewer.rusneb.ru/ru/000224_000128_0002354313_20090510_C1_RU?page=1&rotate=0&theme=white). Accessed: 28 July 2022.
4. Korytkin AA, Zakharova DV, Tenilin NA, Zykin AA, Zhivtsov OP. *Method for femoral head avascular necrosis simulation*. Patent RUS №2634031 С1. (In Russ). Available at: <https://patents.s3.yandex.net>. Accessed: 28 July 2022.
5. Lakin GF. *Biometriya*. Moscow : Vysshaya shkola; 1990. 352 s. (In Russ).
6. Aruwajoye O, Aswath PB, Kim HK. Material properties of bone in the femoral head treated with ibandronate and BMP-2 following ischemic osteonecrosis. *J Ortho. Res*. 2017;35(7): 453-1460.<https://doi.org/10.1002/jor.23402>
7. Li D, Yang Z, Wei Z, Kang P. Efficacy of bisphosphonates in the treatment of femoral head osteonecrosis: A PRISMA - compliant meta-analysis of animalstudies and clinical trials. *Sci Rep*. 2018;8(1):1450 <https://doi.org/10.1038/s41598-018-19884-z>
8. Kim HK, Wiesman KD, Kulkarni V, Burgess J, Chen E, Brabham C, Ikram H, Du J, Lu A, Kulkarni AV, Dempsey M, Herring JA. Perfusion MRI in Early Stage of Legg-Calvé-Perthes Disease to Predict Lateral Pillar Involvement: A Preliminary Study. *J Bone Joint Surg Am*. 2014;96(14):1152-1160. <https://doi.org/10.2106/JBJS.M.01221>.

## Сведения об авторах

**Шабалдин Никита Андреевич**, кандидат медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой детских хирургических болезней ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (650056, Россия, г. Кемерово, ул. Ворошилова, д. 22а).

**Вклад в статью:** проведение хирургических манипуляций, написание всех разделов статьи.

**ORCID:** 0000-0001-8628-5649

**Шабалдин Андрей Владимирович**, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории пороков сердца отдела хирургии сердца и сосудов ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» (650002, Россия, г. Кемерово, б-р Сосновский, д. 6).

**Вклад в статью:** анализ результатов, статистическая обработка данных.

**ORCID:** 0000-0002-8785-7896

## Authors

**Dr. Nikita A. Shabaldin**, MD, PhD, Head of the Department of Pediatric Surgery, Kemerovo State Medical University (22a, Voroshilova Street, Kemerovo, 650056, Russian Federation).

**Contribution:** conceived and designed the study; conducted the experiments; wrote the manuscript.

**ORCID:** 0000-0001-8628-5649

**Prof. Andrey V. Shabaldin**, MD, DSc, Leading Research Fellow, Laboratory of Congenital Heart Disease, Department of Cardiovascular Surgery, Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases (6, Sosnovy Boulevard, Kemerovo, 650002, Russian Federation).

**Contribution:** performed the data analysis.

**ORCID:** 0000-0002-8785-7896

**Попова Наталья Евгеньевна**, ассистент кафедры педиатрии и неонатологии ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (650056, Россия, г. Кемерово, ул. Ворошилова, д. 22а).

**Вклад в статью:** анализ полученных данных, написание всех разделов статьи.

**ORCID:** 0000-0001-9886-4269

**Постникова Алена Владимировна**, ассистент кафедры педиатрии и неонатологии ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (650056, Россия, г. Кемерово, ул. Ворошилова, д. 22а).

**Вклад в статью:** анализ полученных данных, написание всех разделов статьи.

**ORCID:** 0000-0002-8642-2161

**Богданов Лев Александрович**, младший научный сотрудник лаборатории молекулярной, трансляционной и цифровой медицины ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» (650002, Россия, г. Кемерово, б-р Сосновый, д. 6).

**Вклад в статью:** подготовка гистологических препаратов, анализ полученных данных.

**ORCID:** 0000-0003-4124-2316

**Цепочкина Анна Викторовна**, кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории геномной медицины отдела экспериментальной медицины ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» (650002, Россия, г. Кемерово, б-р Сосновый, д. 6).

**Вклад в статью:** проведение и анализ эксперимента.

**ORCID:** 0000-0002-4467-8732

Статья поступила: 10.06.2022 г.

Принята в печать: 31.08.2022 г.

Контент доступен под лицензией CC BY 4.0.

**Dr. Natalia E. Popova, MD**, Assistant Professor, Department of Pediatrics and Neonatology, Kemerovo State Medical University (22a, Voroshilova Street, Kemerovo, 650056, Russian Federation).

**Contribution:** conducted the experiments; wrote the manuscript.

**ORCID:** 0000-0001-9886-4269

**Dr. Alyona V. Postnikova, MD**, Assistant Professor, Department of Pediatrics and Neonatology, Kemerovo State Medical University (22a, Voroshilova Street, Kemerovo, 650056, Russian Federation).

**Contribution:** performed the data analysis; wrote the manuscript.

**ORCID:** 0000-0002-8642-2161

**Mr. Leo A. Bogdanov, MSc**, Junior Research Fellow, Laboratory of Molecular, Translational and Digital Medicine, Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases (6, Sosnovy Boulevard, Kemerovo, 650002, Russian Federation).

**Contribution:** conducted the experiments; performed the data analysis.

**ORCID:** 0000-0003-4124-2316

**Dr. Anna V. Tsepokina, PhD**, Research Fellow, Laboratory of Genomic Medicine, Department of Experimental Medicine, Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases (6, Sosnovy Boulevard, Kemerovo, 650002, Russian Federation).

**Contribution:** conducted the experiments; performed the data analysis.

**ORCID:** 0000-0002-4467-8732

Received: 10.06.2022

Accepted: 31.08.2022

Creative Commons Attribution CC BY 4.0.

УДК 618.3-022.7-053.31-036.22

<https://doi.org/10.23946/2500-0764-2022-7-3-31-39>

# ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ ВНУТРИУТРОБНЫМИ ИНФЕКЦИЯМИ НОВОРОЖДЕННЫХ В ОТДЕЛЕНИИ РЕАНИМАЦИИ И ИНТЕНСИВНОЙ ТЕРАПИИ НОВОРОЖДЕННЫХ ЗА МНОГОЛЕТНИЙ ПЕРИОД

КУЗНЕЦОВА О.М.\*, МАРЧЕНКО А.Н.

ФГБОУ ВО «Тюменский государственный медицинский университет»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Тюмень, Россия

## Резюме

**Цель исследования.** Совершенствование эпидемиологического надзора за ВУИ новорожденных в условиях перинатального центра.

**Материалы и методы.** В описательно-оценочное динамическое эпидемиологическое исследование в виде оперативного и ретроспективного эпидемиологического анализа, проведенное в ГБУЗ ТО «Перинатальный центр» (г. Тюмень), были включены 646 новорожденных детей, из них 310 с клинически установленным диагнозом ВУИ и 336 без признаков установленного диагноза ВУИ. Случаи и контрольные группы были отобраны с использованием метода систематической выборки. С целью выявления значимых предикторов развития ВУИ использовали многофакторный логистический регрессионный анализ с расчетом отношения шансов и 95% доверительного интервала. Для оценки прогностической значимости шкалы и нахождения порогового балла использовали ROC-анализ.

**Результаты.** При изучении отягощенного акушерского анамнеза у беременных, родивших детей с установленным диагнозом ВУИ и без установленного диагноза ВУИ, но находящихся на лечении в отделении реанимации и интенсивной терапии новорожденных, существенное влияние на развитие ВУИ у плода имело наличие в анамнезе матери абортов, инфекций мочевыводящих путей, преждевременных родов предшествующей беременности, кольпита, вагинита, лейкоцитоза, увеличение С-реактивно-

го белка, анемии и нарушение кровоснабжения плода. Методом пошагового отбора выделены 7 предикторов ВУИ плода с включением в окончательную модель показателей, ассоциирующихся с ВУИ: лейкоцитоз в период беременности, патологические изменения околоплодных вод, анемия в период беременности, преждевременные роды, осложнения у плода, связанные с внутриутробным нарушением кровоснабжения, респираторный дистресс-синдром у новорожденного, и признаки поражения центральной нервной системы у новорожденного. На основании выявленных параметров разработана модель шкалы для постановки диагноза ВУИ новорожденных. Чувствительность шкалы – 87,7%, специфичность – 83,9%.

**Заключение.** Использование в акушерской и перинатальной практике предложенной модели шкалы для постановки диагноза ВУИ позволит осуществить более точную диагностику ВУИ и своевременное дифференцирование диагноза ИСМП новорожденных.

**Ключевые слова:** внутриутробные инфекции, новорожденные, эпидемиологический анализ, инфекции, связанные с оказанием медицинской помощи.

### Источник финансирования

Собственные средства

### Конфликт интересов

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

### Для цитирования:

Кузнецова О.М., Марченко А.Н. Эпидемиологический анализ заболеваемости внутриутробными инфекциями новорожденных в отделении реанимации и интенсивной терапии новорожденных за многолетний период. *Фундаментальная и клиническая медицина*. 2022;7(3): 31-39. <https://doi.org/10.23946/2500-0764-2022-7-3-31-39>

### \*Корреспонденцию адресовать:

Кузнецова Ольга Михайловна, почтовый адрес: 625023, Россия, г. Тюмень, Одесская ул., 54, e-mail: om.kuznet@ya.ru  
©Кузнецова О.М. и др.

## ORIGINAL RESEARCH

# INCIDENCE OF INTRAUTERINE INFECTIONS IN NEONATAL INTENSIVE CARE UNIT: A LONG-TERM EPIDEMIOLOGICAL ANALYSIS

OLGA M. KUZNETSOVA \*, ALEXANDER N. MARCHENKO

Tyumen State Medical University, Tyumen, Russian Federation

## English ►

**Abstract**

**Aim.** To improve epidemiological surveillance in the neonatal intensive care unit.

**Materials and Methods.** We retrospectively examine case histories of 646 newborns delivered in Tyumen Perinatal Center and admitted to neonatal intensive care unit (310 with intrauterine infection and 336 without intrauterine infection). Predictors of intrauterine infection (odds ratio and 95% confidence interval) were determined by means of multivariate analysis and logistic regression analysis.

**Results.** According to the multivariate analysis, past medical history of abortions, urinary tract infections, preterm birth during previous pregnancy, colpitis, vaginitis, leukocytosis, elevated C-reactive protein, anemia, and impaired fetal blood supply were among the predictors of intrauterine infection. Stepwise logistic regression identified

7 significant features associated with intrauterine infection: leukocytosis, anemia, pathological alterations in amniotic fluid, preterm birth, impaired fetal blood supply, newborn respiratory distress syndrome, and injury of the newborn central nervous system. Sensitivity and specificity of the prognostic model were 87.7% and 83.9%.

**Conclusion.** Our prognostic model might be applicable for the prediction and verification of intrauterine infection during the prenatal and perinatal observation.

**Keywords:** intrauterine infections, newborns, epidemiological analysis, infections associated with medical care.

**Conflict of Interest**

None declared.

**Funding**

There was no funding for this project.

**For citation:**

Olga M. Kuznetsova, Alexander N. Marchenko. Incidence of intrauterine infections in neonatal intensive care unit: a long-term epidemiological analysis. *Fundamental and Clinical Medicine*. (In Russ.). 2022;7(3): 31-39. <https://doi.org/10.23946/2500-0764-2022-7-3-31-39>

**\*Corresponding author:**

Dr. Olga M. Kuznetsova, 54, Odesskaya Street, Tyumen, 625023, Russian Federation, e-mail: om.kuznet@ya.ru  
©Olga M. Kuznetsova, Alexander N. Marchenko

**Введение**

Внутриутробные инфекции – группа инфекционно-воспалительных заболеваний плода и детей раннего возраста, которые вызываются различными возбудителями, но характеризуются сходными эпидемиологическими параметрами и нередко имеют однотипные клинические проявления [1, 2].

На современном этапе проблема развития внутриутробных инфекций новорожденных является особо актуальной в связи с высокой распространённостью и тяжестью инфекционных процессов в дальнейшем у новорожденных.

Кроме того, сложности дифференциальной диагностики внутриутробных инфекций (ВУИ) и инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП) у новорожденных, являются

нерешённой проблемой во многих учреждениях родовспоможения Российской Федерации.

Согласно статистическим данным, с каждым годом всё большее значение приобретают зарегистрированные случаи ВУИ, число которых существенно преобладает над случаями ИСМП [3, 4]<sup>1</sup>. Ежегодно в Российской Федерации выявляется немногим более 4 тысяч случаев ИСМП и 20–25 тысяч случаев ВУИ. Соотношение ИСМП новорожденных к ВУИ новорожденных в 2008 г. по РФ составляло 1 к 4,2, в 2018 г. – 1 к 9,1. В 37 субъектах число

<sup>1</sup> О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2019 году: Государственный доклад. Москва: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека; 2020. 299 с.

зарегистрированных случаев ВУИ в 10 и более раз превышает число случаев ИСМП новорожденных, в том числе в Красноярском крае, Калужской, Волгоградской, Амурской областях, Ставропольском крае, Ульяновской области<sup>2</sup>.

Постановка диагноза ВУИ часто основывается лишь на клинических проявлениях инфекции у новорожденного и наличии клинических проявлений инфекции у матери во время беременности и без лабораторных исследований позволяет лишь предположить развитие внутриутробного инфицирования у плода. По мнению российских авторов, 50% случаев инфекционных заболеваний у новорожденных скрываются под такими диагнозами, как внутриутробная гипоксия, родовая травма, антенатальная или интранатальная асфиксия, пневмопатия, пороки развития [2]. Этот факт свидетельствует о возможной неверной дифференциальной диагностике ИСМП и ВУИ или о гипердиагностике ВУИ в связи с отсутствием утверждённых единых критериев постановки диагноза ВУИ [1, 5, 6].

Это не позволяет адекватно и своевременно оценить эпидемиологическую ситуацию в учреждении родовспоможения в целом. Решение проблемы ВУИ и доказанного при этом инфицирования плода внутриутробно является основной в связи с сохраняющимся высоким уровнем инфицирования беременных, рожениц и родильниц, опасностью нарушения развития плода и рождения новорожденного с признаками инфекционных осложнений [7]. Выявление факторов риска и своевременное начало лечения могут значительно снизить неонатальную смертность и заболеваемость [8–11]. В связи с этим совершенствование системы эпидемиологического надзора за ИСМП и ВУИ становится чрезвычайно актуальным на современном этапе.

## Цель исследования

Совершенствование эпидемиологического надзора за ВУИ новорожденных в условиях перинатального центра.

## Материалы и методы

Исследование проводилось с использованием данных статистического наблюдения Федерального бюджетного учреждения здраво-

охранения «Центр гигиены и эпидемиологии в Тюменской области» г. Тюмени. Клиническая база представлена крупным перинатальным центром – государственное бюджетное учреждение здравоохранения Тюменской области «Перинатальный центр» (ГБУЗ ТО «Перинатальный центр» (г. Тюмень) с последующим описательно-оценочным динамическим эпидемиологическим исследованием медицинской документации (оперативный и ретроспективный эпидемиологический анализ).

В рамках научного исследования с целью оценки заболеваемости ВУИ и ИСМП среди новорожденных была изучена первичная медицинская документация с 2018–2020 гг. в количестве 646 историй развития новорожденного (форма 097/у), 646 индивидуальных карт беременной и родильницы (форма 111/у), 646 историй родов (форма 096/у). Из них 310 индивидуальных карт беременной и родильницы, 310 истории родов рожениц и 310 историй развития новорожденных, входящих в группу с установленным диагнозом ВУИ; 336 индивидуальных карт беременной и родильницы, 336 историй родов рожениц и 336 историй развития новорожденных, не входящих в группу с установленным диагнозом ВУИ.

Диагноз ВУИ новорожденных в отделении реанимации и интенсивной терапии новорожденных в ГБУЗ ТО «Перинатальный центр» (г. Тюмень) на протяжении анализируемого периода устанавливался на основании клинических, лабораторных и инструментальных данных. Критерием включения в исследование являлись новорожденные с официально установленным диагнозом ВУИ. Согласно международной классификации болезней 10-го пересмотра (МКБ-10), ВУИ новорожденных представлены в классе XVI «Отдельные состояния, возникающие в перинатальном периоде» в классах P35-P39 «Инфекционные болезни, специфичные для перинатального периода» и P23 «Врождённая пневмония» [12].

Статистический анализ проводился с помощью пакета прикладных программ IBM SPSS Statistics 21. Нормальность распределения была оценена с помощью критерия Колмогорова-Смирнова [13]. При нормальном распределении количественные показатели представлены в виде среднего значения (M) и стандартного отклонения (SD). При распределении, отличном от нормального – в виде медианы (Me) с интерквартильным размахом (25-й и 75-й процентиля).

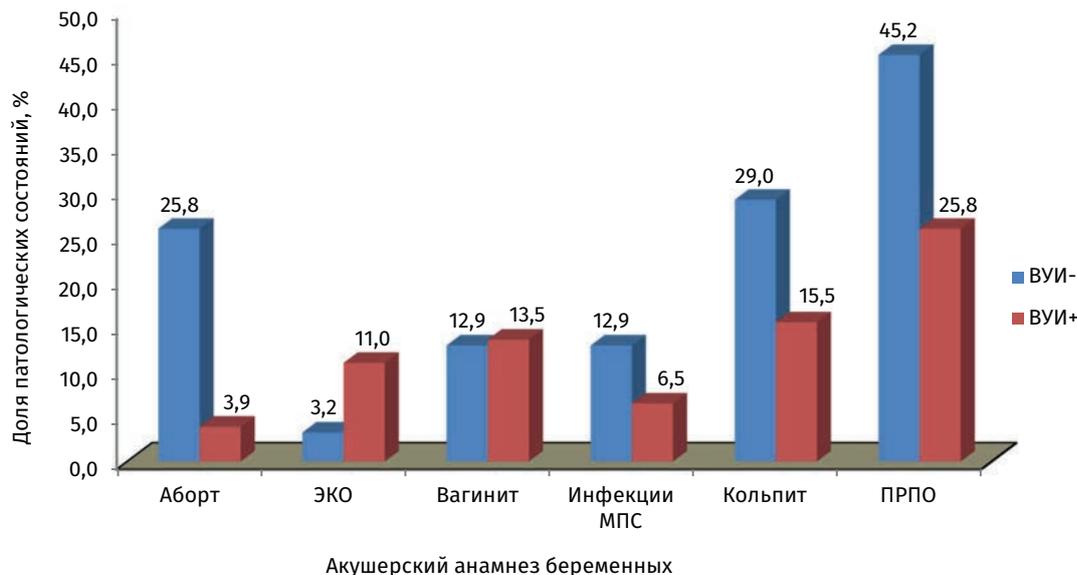
<sup>2</sup> О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2018 году: Государственный доклад. Москва: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека; 2019. 257с.

**Рисунок 1.**

Данные отягощённого акушерского анамнеза у беременных (%).

**Figure 1.**

Factors defining burdened obstetric anamnesis in pregnant women (%).



При анализе количественных показателей в несвязанных группах при их нормальном распределении был использован t-критерий Стьюдента [5, 14], при распределении отличном от нормального – критерий Манна-Уитни [14]. Для сравнения качественных показателей в несвязанных группах был использован критерий  $\chi^2$  или точный критерий Фишера. Для качественных переменных рассчитывали отношение шансов (ОШ) и 95% доверительный интервал (95% ДИ) из четырехпольных таблиц сопряженности [5].

Для выявления значимых предикторов использовали логистическую регрессию с расчетом отношения шансов и 95% доверительного интервала. Для оценки прогностической значимости шкалы и нахождения порогового балла использовали ROC-анализ [6, 15]. Значимыми считались различия при двухстороннем значении  $p < 0,05$ .

## Результаты и обсуждение

При изучении отягощённого акушерского анамнеза у беременных, родивших детей с установленным диагнозом ВУИ и без установленного диагноза ВУИ, но находящихся на лечении в отделении реанимации и интенсивной терапии новорожденных ГБУЗ ТО «Перинатальный центр» (г. Тюмень), выявлено, что существенное влияние на развитие ВУИ у плода имело наличие аборт (25,8%), инфекций мочевыводящих путей (12,9%), преждевременных родов предшествующей беременности (45,2%), кольпита (29,0%) (**рисунок 1**).

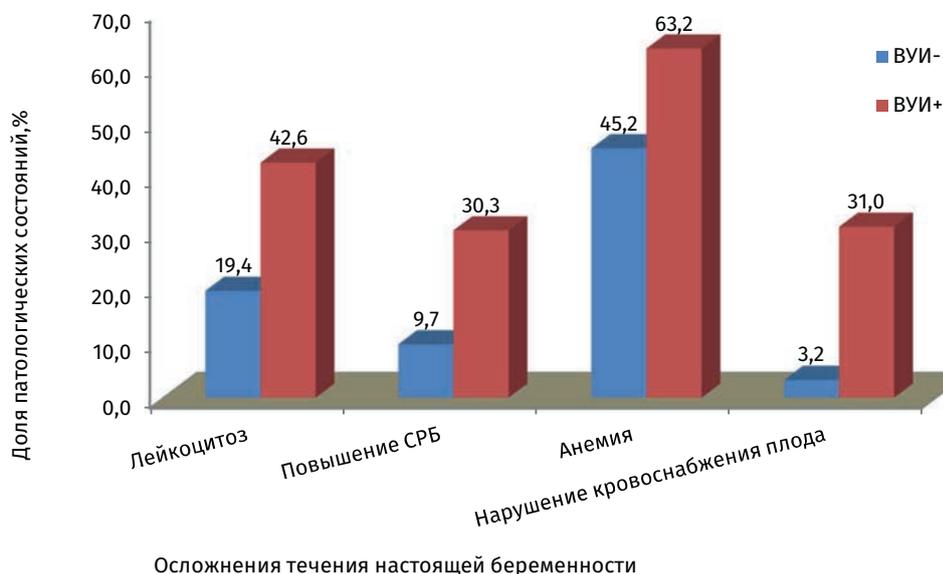
Наличие лейкоцитоза (42,6%), повышенный уровень С-реактивного белка в крови (30,3%), анемия (63,2%), признаки нарушения кровоснабжения плода в период беременности (31,0%) чаще встречались в группе новорожденных с ВУИ (**рисунок 2**).

**Рисунок 2.**

Осложнения течения беременности (%).

**Figure 2.**

Signs of infection registered during pregnancy (%).



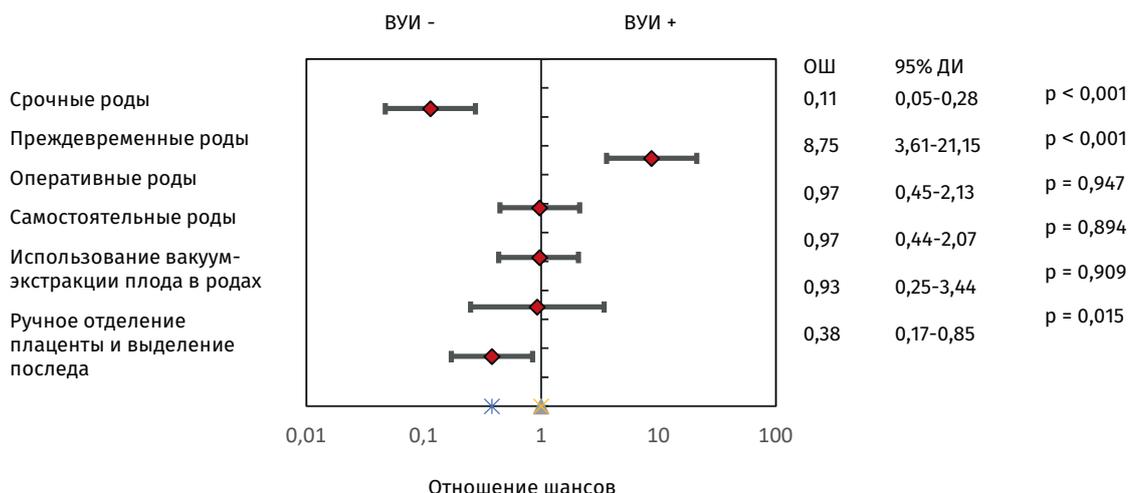


Рисунок 3.

Течение родов.

Figure 3.

Associations between types of birth and intrauterine infection.

При анализе течения родов у беременных, родивших детей с установленным диагнозом ВУИ, патология отмечена у 58,9% родильниц. Оперативные роды проводились у 57,1% женщин, срочные роды – у 9,6% женщин. Шанс возникновения ВУИ у новорожденных увеличивался у пациенток, у которых возникли преждевременные роды, связанные с преждевременным излитием околоплодных вод (ОШ = 8,75; 95% ДИ =

3,61-21,15), **рисунок 3.**

Риск возникновения ВУИ зависел от характера околоплодных вод: увеличивался при наличии светлых вод, окрашенных кровью (11,0%), зелёных и мекониальных вод (13,5%), что является признаком внутриплацентарного инфицирования плода (**рисунок 4**).

Группа новорожденных с ВУИ чаще имела вес при рождении до 1500 граммов – 72,4%. (**рисунок 5**).

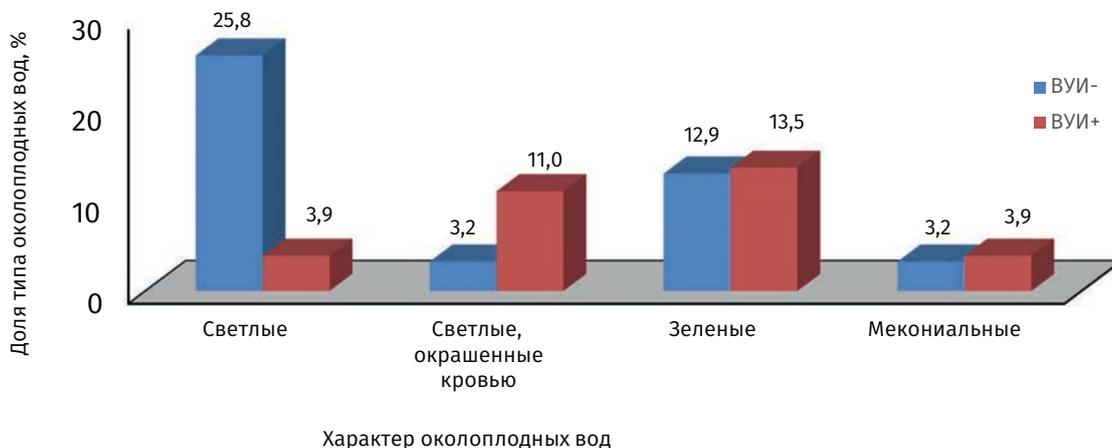


Рисунок 4.

Характер околоплодных вод (%).

Figure 4.

Associations between amniotic fluid colour and intrauterine infection (%).



Рисунок 5.

Вес новорожденного при рождении (%).

Figure 5.

Association of newborn weight and intrauterine infection (%).

Клинические признаки у новорожденных с установленным диагнозом ВУИ плода были представлены синдромом дыхательных расстройств (72,3%), нефропатией (7,7%), кардиопатией (14,8%) и поражением центральной нервной системы (18,7%). Пациенты с установленным диагнозом ВУИ новорожденных более длительно находились в отделении реанимации с использованием аппарата искусственной вентиляции лёг-

ких –  $4,88 \pm 3,34$  суток, пациенты без установленного диагноза ВУИ –  $3,27 \pm 0,46$  суток.

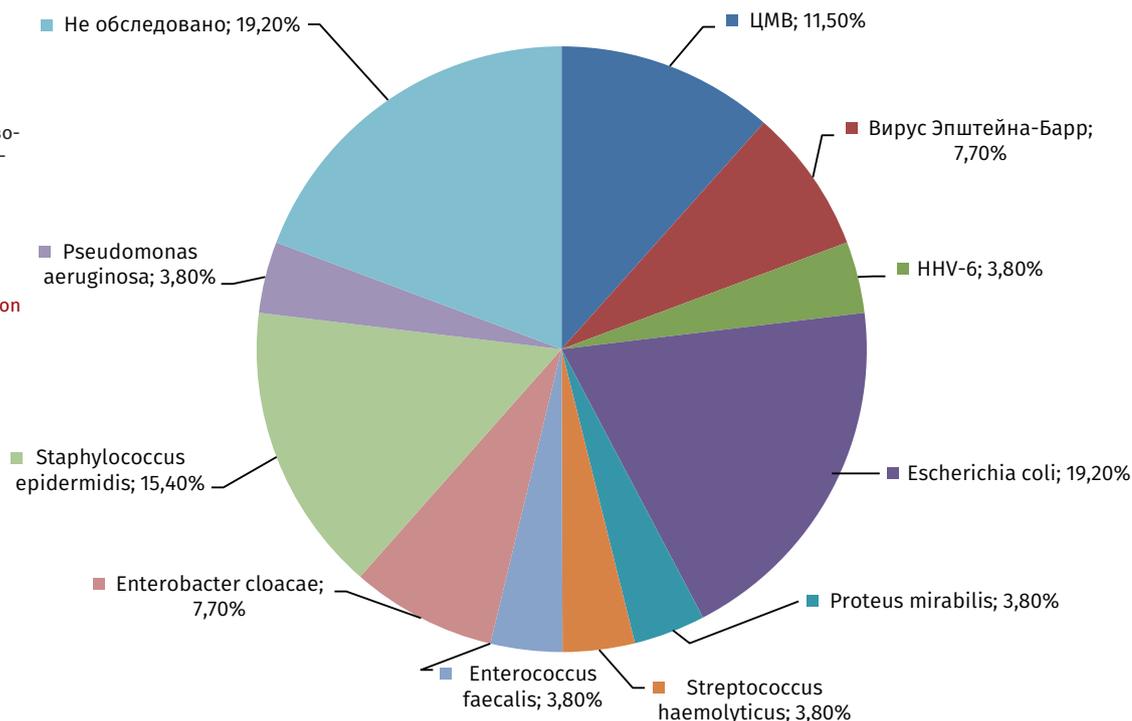
В этиологической структуре у новорожденных с ВУИ преобладали бактерии – 77,0%, лидирующее место среди которых занимала *Escherichia coli* – 57,1%. В группе возбудителей вирусных инфекций чаще инфекция была вызвана цитомегаловирусами (ЦМВ) – 11,5 % (рисунок 6).

Рисунок 6.

Этиологическая структура ВУИ новорожденных в 2018-2020 гг. (%)

Figure 6.

Culprits of intrauterine infection in 2018-2020 (%).



Для создания шкалы риска развития ВУИ новорожденных использовали многофакторную логистическую регрессию. На первом этапе для выявления предикторов в первоначальную модель были взяты переменные, значимо увеличивающие вероятность ВУИ, найденные при сравнении групп с наличием и отсутствием инфекции.

Все переменные изучены на наличие сильных линейных взаимосвязей с помощью корреляционного анализа и, если между переменными обнаруживалась сильная корреляционная связь ( $r > 0,7$ ), в многофакторный анализ входила переменная с большим влиянием на зависимую переменную. Таким образом, в модель были взяты параметры: абсолютный лейкоцитоз в период беременности; повышенное количество С-реактивного белка в крови в период беременности; патологические изменения околоплодных вод; инфекции передающиеся половым путём, выявленные в период беременно-

сти; преэклампсия у беременной; оперативные роды; преждевременные роды; анемия в период беременности; осложнения у плода, связанные с внутриутробным нарушением кровоснабжения; респираторный дистресс-синдром у новорожденного; признаки поражения центральной нервной системы у новорожденного. Методом пошагового отбора с включением в окончательную модель вошли следующие показатели, ассоциирующиеся с ВУИ: лейкоцитоз в период беременности, патологические изменения околоплодных вод, анемия в период беременности, преждевременные роды, осложнения у плода, связанные с внутриутробным нарушением кровоснабжения, респираторный дистресс-синдром у новорожденного, и признаки поражения центральной нервной системы у новорожденного.

На основе рассчитанных для каждой переменной значений  $\beta$ -коэффициентов проводилось преобразование результатов регрессии в

Факторы <i>Factors</i>	$\beta$ -коэффициент <i><math>\beta</math>-coefficient</i>	$p$	Отношение шансов <i>Odds ratio</i>	95% доверительный интервал <i>Confidence interval</i>		Балл <i>Score</i>
Лейкоцитоз в период беременности <i>Leukocytosis during pregnancy</i>	1,814	0,001	6,13	2,02	18,58	2
Патологические изменения околоплодных вод <i>Pathological alterations in the amniotic fluid</i>	1,067	0,048	2,91	1,01	8,36	1
Анемия у беременной на протяжении беременности <i>Anemia during pregnancy</i>	1,124	0,017	3,08	1,22	7,75	1
Преждевременные роды <i>Preterm birth</i>	2,588	0,000	13,30	4,22	41,87	2
Осложнения у плода, связанные с внутриутробным нарушением кровоснабжения <i>Impaired fetal blood supply</i>	3,508	0,001	33,38	3,96	281,50	3
Респираторный дистресс-синдром у новорожденного <i>Newborn respiratory distress syndrome</i>	1,420	0,002	4,14	1,68	10,21	1
Признаки поражения центральной нервной системы у новорожденного <i>Injury of the newborn central nervous system</i>	3,134	0,007	22,97	2,33	226,50	3

Таблица 1.

Модель шкалы для постановки диагноза ВУИ новорожденных.

Table 1.

Diagnostic model to verify intrauterine infection.

баллы. Для этого все  $\beta$ -коэффициенты, последовательно делили на наименьшее полученное значение  $\beta$ -коэффициента, а затем округляли до ближайшего целого числа (таблица 1).

Все факторы имеют следующую кодировку: 0 – отсутствие признака, 1 – наличие признака. При отсутствии признака фактору присваивалось 0 баллов. Общий балл представляет собой сумму всех баллов и равен 14.

Площадь под кривой (AUC) составила  $0,913 \pm 0,023$  ( $p < 0,001$ ), пороговый балл для при определении степени риска ВУИ равен 4. При сумме баллов до 4 прогнозируется низкий риск ВУИ плода, 4 и более баллов – риск ВУИ плода высокий. Чувствительность шкалы – 87,7%, специфичность – 83,9%.

Наиболее информативным в настоящее время является способ прогнозирования риска внутриутробной инфекции у новорожденных, включающий определение наличия факторов риска (температура тела матери в родах, оценка по шкале Апгар, масса ребенка при рождении, экстрагенитальная патология и ее наличие, хронические очаги инфекции и их обострение,

острые инфекционные заболевания, перенесенные во время беременности, родовое излитие вод, характер околоплодных вод) разработанный Пустотиной О.А., 1999 г., с проведением оценки каждого фактора риска в баллах, подсчета суммы баллов и прогноза риска внутриутробной инфекции у новорожденных в зависимости от полученной суммы баллов. Недостатками данного способа являются сложность и длительность заполнения анкеты, требующей участия в исследовании как минимум двух специалистов – акушера-гинеколога и неонатолога. Кроме того, в критерии диагностики включено много факторов, имеющих второстепенное или косвенное значение в прогнозе внутриутробного инфицирования новорожденных, что делает невозможным использование данного метода для массового скрининга рожениц.

Представленный в настоящем исследовании эпидемиологический анализ предикторов развития ВУИ новорожденных указывает на многофакторность развития ВУИ на этапе течения беременности и родов. Таким образом, диагностика ВУИ основывается на

совокупности результатов анамнестических и клинических данных беременной, родильницы и новорожденного, что упрощает постановку диагноза ВУИ в отличие от существующих на данный момент способов постановки диагноза ВУИ, представленных в современной литературе. Сложность своевременной дифференциальной диагностики ВУИ и ИСМП новорожденных на этапе проявления клинических признаков заболевания до 72 часов остаётся чрезвычайно актуальной на современном этапе.

### Заключение

На этапе проведения исследования организован полный учёт и регистрация случа-

ев ВУИ у новорожденных, реализован ретроспективный и оперативный анализ заболеваемости ВУИ и ИСМП с определением факторов риска. В результате проведения пошагового анализа факторов риска развития ВУИ у новорожденных разработана модель шкалы для постановки диагноза ВУИ новорожденных. Внедрение предложенной модели шкалы для постановки диагноза ВУИ в информационную подсистему системы эпидемиологического надзора позволит осуществить постановку диагноза ВУИ и своевременное дифференцирование от ИСМП новорожденных.

### Литература :

1. Кузьмин В.Н., Адамян Л.В. Проблема внутриутробной инфекции в современном акушерстве. *Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение*. 2017;3(20):32-36.
2. Шкарин В.В., Послова Л.Ю., Ковалишена О.В., Сергеева А.В., Сениягина Н.Е. *Эпидемиология внутриутробных и внутрибольничных инфекций новорожденных*. Нижний Новгород : Ремедиум Приволжье, 2019. 124 с.
3. Смирнова С.С., Голубкова А.А., Алимов А.В., Акимкин В.Г. Внутриутробные инфекции новорожденных как маркер эпидемического неблагополучия в учреждениях родовспоможения. *Эпидемиология и Вакцинопрофилактика*. 2019;18(5):42-49. <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2019-18-5-42-49>
4. Иванова М.В., Миндлина А.Я., Полибин Р.В., Ушанова А.В. Эпидемиологические особенности внутриутробных и внутрибольничных инфекций новорожденных в Российской Федерации. *Инфекция и иммунитет*. 2019;9(1):193-202. <https://doi.org/10.15789/2220-7619-2019-1-193-202>
5. Медик В.А., Токмачев М.С. *Математическая статистика в медицине в 2 томах*. Т.1. 2-е изд., перераб. и доп. Москва : Юрайт; 2020. 471 с.
6. Гашев С.Н., Бетляева Ф.Х., Lupinos M.Yu. *Математические методы в биологии: анализ биологических данных в системе Statistica*. Москва: Юрайт; 2018. 207с.
7. Palasanthiran P, Starr M, Jones G, Giles M, eds. *Management of Perinatal Infections*. Sydney : Australasian Society for Infectious Diseases (ASID);2014. 88 p.
8. Akalu TY, Gebremichael B, Desta KW, Aynalem YA, Shiferaw WS, Alameh YM. Predictors of neonatal sepsis in public referral hospitals, Northwest Ethiopia: A case control study. *PLoS ONE*. 2020;15(6):e0234472. <https://doi.org/https://doi.org/10.1371/journal.pone.0234472>
9. Getabelew A, Aman M, Fantaye E, Yeheyis T. Prevalence of Neonatal Sepsis and Associated Factors among Neonates in Neonatal Intensive Care Unit at Selected Governmental Hospitals in Shashemene Town, Oromia Regional State, Ethiopia, 2017. *Int J Pediatr*. 2018;2018:7801272. <https://doi.org/10.1155/2018/7801272>
10. Girma T. *Prevalence and associated factors of neonatal sepsis among neonates in neonatal intensive care units selected governmental hospitals in Addis Ababa, Ethiopia*.2016;21:59.
11. Healy CM. Vaccines in pregnant women and research initiatives. *Clin Obstet Gynecol*. 2012;55(2):474-486.
12. *Международная классификация болезней 10 пересмотра (МКБ-10)*. Москва:2019. Ссылка активна на 02.02.2022. <https://mkb-10.com/index.php?pid=15001>
13. *Прикладная статистика. Правила проверки согласия опытного распределения с теоретическим. Часть II. Непараметрические критерии*. Москва : ГОССТАНДАРТ РОССИИ; 2002. 66 с.
14. Петри А., Сэбин К. *Наглядная медицинская статистика*. 3-е изд., перераб. и доп. Москва: ГЭОТАР-Медиа; 2015. 216 с.
15. Гладиллин А.В., Герасимов А.Н., Громов. Е.И. *Эконометрика*. 3-е изд. Москва :Киорус; 2014. 228 с.

### References:

1. Kuzmin V.N., Adamyan L.V. The problem of intrauterine infection in modern obstetrics. *Infectious diseases: news, opinions, training*. 2017;3(20):32-36.
2. Shkarin V.V., Poslova L.Yu., Kovalishena O.V., Sergeeva A.V., Senyagina N.E. *Epidemiology of intrauterine and nosocomial infections of newborns*. Nizhniy Novgorod : Remedium Privolzhye, 2019. 124 p.
3. Smirnova S.S., Golubkova A.A., Alimov A.V., Akimkin V.G. Intrauterine infections of newborns as a marker of epidemic distress in maternity institutions. *Epidemiology and Vaccination Prevention*. 2019;18(5):42-49. <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2019-18-5-42-49>
4. Ivanova M.V., Mindlina A.Ya., Polibin R.V., Ushanova A.V. Epidemiological features of intrauterine and nosocomial infections of newborns in the Russian Federation. *Infection and immunity*. 2019;9(1):193-202. <https://doi.org/10.15789/2220-7619-2019-1-193-202>
5. Medik V.A., Tokmachev M. S. *Mathematical statistics in medicine in 2 volumes*. Vol.1. 2nd ed., reprint. and add. Moscow : Yurayt; 2020. 471 p.
6. Gashev S.N., Betlyayeva F.Kh., Lupinos M.Yu. *Mathematical methods in biology: analysis of biological data in the Statistica system*. Moscow: Yurayt; 2018. 207с.
7. Palasanthiran P, Starr M, Jones G, Giles M, eds. *Management of Perinatal Infections*. Sydney : Australasian Society for Infectious Diseases (ASID);2014. 88 p.
8. Akalu TY, Gebremichael B, Desta KW, Aynalem YA, Shiferaw WS, Alameh YM. Predictors of neonatal sepsis in public referral hospitals, Northwest Ethiopia: A case control study. *PLoS ONE*. 2020;15(6):e0234472. <https://doi.org/https://doi.org/10.1371/journal.pone.0234472>
9. Getabelew A, Aman M, Fantaye E, Yeheyis T. Prevalence of Neonatal Sepsis and Associated Factors among Neonates in Neonatal Intensive Care Unit at Selected Governmental Hospitals in Shashemene

- Town, Oromia Regional State, Ethiopia, 2017. *Int J Pediatr.* 2018;2018:7801272. <https://doi.org/10.1155/2018/7801272>
10. Girma T. *Prevalence and associated factors of neonatal sepsis among neonates in neonatal intensive care unit at selected governmental hospitals in Addis Ababa, Ethiopia.* 2016;21:59.
  11. Healy CM. Vaccines in pregnant women and research initiatives. *Clin Obstet Gynecol.* 2012;55(2):474-486.
  12. *International Classification of Diseases 10 revision (ICD-10).* Moscow:2019. The link is active on 02.02.2022. <https://mkb-10.com/index.php?pid=15001>
  13. *Applied statistics. Rules for verifying the agreement of the experimental distribution with the theoretical one. Part II. Nonparametric criteria.* Moscow: GOSSTANDART of RUSSIA; 2002. 66 p.
  14. Petri A., Sabin K. *Visual medical statistics.* 3rd ed., reprint. and add. Moscow: GEOTAR-Media; 2015. 216 p.
  15. Gladilin A.V., Gerasimova N.N., Gromov.E.I. *Econometrica.* 3rd ed. Moscow : Kiorus; 2014. 228 p.

## Сведения об авторах

**Кузнецова Ольга Михайловна**, аспирант кафедры гигиены, экологии и эпидемиологии ФГБОУ ВО «Тюменский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (625023, Россия, г. Тюмень, ул. Одесская, д. 54).

**Вклад в статью:** участие в сборе, анализе и интерпретации данных.

**ORCID:** 0000-0002-4444-5269

**Марченко Александр Николаевич**, доктор медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой гигиены, экологии и эпидемиологии ФГБОУ ВО «Тюменский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (625023, Россия, г. Тюмень, ул. Одесская, д. 54).

**Вклад в статью:** участие в анализе, интерпретации данных и утверждение окончательного варианта рукописи.

**ORCID:** 0000-0002-8286-0279

Статья поступила: 10.01.2022г.

Принята в печать: 31.08.2022г.

Контент доступен под лицензией ССВУ 4.0.

## Authors

**Dr. Olga M. Kuznetsova**, MD, PhD Student, Department of Hygiene, Ecology and Epidemiology, Tyumen State Medical University (54, Odesskaya Street, Tyumen, 625023, Russian Federation).

**Contribution:** collected and processed the data; performed the data analysis.

**ORCID:** 0000-0002-4444-5269

**Prof. Alexander N. Marchenko**, MD, DSc, Head of the Department of Hygiene, Ecology and Epidemiology, Tyumen State Medical University (54, Odesskaya Street, Tyumen, 625023, Russian Federation).

**Contribution:** collected and processed the data; performed the data analysis; wrote the manuscript.

**ORCID:** 0000-0002-8286-0279

Received: 10.01.2022

Accepted: 31.08.2022

Creative Commons Attribution CC BY 4.0.

УДК 616.34-008.87-07-053.2(571.17)  
<https://doi.org/10.23946/2500-0764-2022-7-3-40-45>

# ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К БАКТЕРИОФАГАМ УСЛОВНО-ПАТОГЕННОЙ МИКРОБИОТЫ ПРИ МИКРОЭКОЛОГИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЯХ КИШЕЧНИКА У ДЕТЕЙ ГОРОДА КЕМЕРОВО

ЛЕВАНОВА Л.А.\*, ЗАХАРОВА Ю.В., МАРКОВСКАЯ А.А., ОТДУШКИНА Л.Ю.

ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения  
Российской Федерации, г. Кемерово, Россия

## Резюме

Высокая специфичность действия бактериофагов, которая носит видовой или штаммовый характер, делает актуальным определение фагочувствительности бактерий в конкретном регионе при различных патологиях и состояниях, в частности при микробиологических нарушениях.

**Цель.** Изучение литической активности специфических бактериофагов в отношении клебсиелл, протеев и золотистых стафилококков, выделенных из кишечника детей при нарушениях микробиоты.

**Материалы и методы.** Изучали фагочувствительность 315 условно-патогенных микроорганизмов, выделенных из кишечника при микробиологических нарушениях у 300 детей города Кемерово до 4 лет: 120 штаммов клебсиелл, 70 штаммов протеев и 125 штаммов *Staphylococcus aureus*. Использовали «Бактериофаг клебсиелл поливалентный очищенный», «Бактериофаг протейный», «Бактериофаг стафилококковый (АО «НПО «Микроген»)». Литическую активность бактериофагов изучали капельным методом на среде Мюллера-Хинтона по наличию зоны лизиса бактериальной культуры в месте нанесения бактериофага.

**Результаты.** Установлена низкая чувствительность культур к действию специфических бактериофагов, которые лизировали 37,5%

штаммов клебсиелл и 41,4% штаммов протеев. Доля чувствительных к фагу *Staphylococcus aureus* составила 78,4%. Клебсиеллезный бактериофаг лизировал 56,7% штаммов *Klebsiella pneumoniae* и 18,3% *Klebsiella oxytoca* ( $\chi^2=4,71$ ,  $df=1$ ,  $p=0,03$ ). Протейный бактериофаг вызывал лизис 52% штаммов *Proteus vulgaris* и 35,6% *Proteus mirabilis* ( $\chi^2=5,52$ ,  $df=1$ ,  $p=0,04$ ). Установлено снижение литической активности фагов ко всем исследуемым видам условно-патогенных бактерий по мере усугубления дисбиотических нарушений микробиома.

**Заключение.** Микроорганизмы рода *Klebsiella* и *Proteus*, выделенные при нарушениях кишечного микробиома, характеризуются низкой чувствительностью к коммерческим бактериофагам.

Чувствительность условно-патогенных бактерий к специфическим бактериофагам снижается по мере усугубления микробиологических нарушений.

**Ключевые слова:** бактериофаги, условно-патогенные бактерии, чувствительность, микробиом, нарушения.

## Конфликт интересов

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

## Источник финансирования

Собственные средства.

## Для цитирования:

Леванова Л. А., Захарова Ю. В., Т. В., Марковская А. А. Отдушкина Л. Ю. Чувствительность к бактериофагам условно-патогенной микробиоты при микробиологических нарушениях кишечника у детей города Кемерово. *Фундаментальная и клиническая медицина*. 2022;7(3): 40-45. <https://doi.org/10.23946/2500-0764-2022-7-3-40-45>

## \*Корреспонденцию адресовать:

Леванова Людмила Александровна, 650056, Россия, г. Кемерово, ул. Ворошилова, 22а, E-mail: miss-levanova@yandex.ru  
© Леванова Л.А. и др.

## ORIGINAL RESEARCH

# BACTERIOPHAGE SENSITIVITY OF OPPORTUNISTIC MICROBIOTA IN CHILDREN WITH GUT DYSBIOSIS

LYUDMILA A. LEVANOVA\*, YULIA V. ZAKHAROVA, ALINA A. MARKOVSKAYA, LARISA YU. OTDUSHKINA

Kemerovo State Medical University, Kemerovo, Russian Federation

## Abstract

**Aim.** As the activity of bacteriophages is species- and strain-specific, it is necessary to study bacteriophage sensitivity in distinct geographic regions with various disease patterns. Here, we aimed to study the lytic activity of specific commercially available bacteriophages against *Klebsiella spp.*, *Proteus spp.*, and *Staphylococcus aureus* isolated from the intestines of children with gut dysbiosis.

**Materials and Methods.** Bacteriophage sensitivity was assessed in 315 opportunistic microorganisms (125 *Staphylococcus aureus* strains, 120 *Klebsiella spp.* strains, 70 *Proteus spp.* strains) isolated from the intestinal microbiota of 300 children < 4 years of age with gut dysbiosis. Bacteriophage preparations were produced by Microgen (Russian Federation). The lytic activity of bacteriophages was studied by a drip method on a Muller-Hinton medium by calculating the area of bacterial culture lysis.

**Results.** We found low sensitivity of *Klebsiella spp.* (37.5% sensitive strains) and *Proteus spp.*

(41.4% sensitive strains) to specific bacteriophages, albeit there were considerable differences between distinct *Klebsiella* species (*Klebsiella pneumoniae*, 56.7% sensitive strains; *Klebsiella oxytoca*, 18.3% sensitive strains,  $p = 0.03$ ) and *Proteus* species (*Proteus vulgaris*, 52.0% strains; *Proteus mirabilis*, 35.6% strains,  $p = 0.04$ ). Nevertheless, sensitivity to *Staphylococcus aureus* was considerably higher (78.4%). In addition, lytic activity of bacteriophages reduced along with the increasing severity of gut dysbiosis.

**Conclusion.** *Klebsiella spp.* and *Proteus spp.* isolated from children with dysbiosis have low sensitivity to commercially available bacteriophages. Bacteriophage sensitivity positively correlated with gut dysbiosis.

**Keywords:** bacteriophages, opportunistic bacteria, sensitivity, gut microbiota, dysbiosis.

### Conflict of Interest

None declared.

### Funding

There was no funding for this project.

[◀ English](#)

### For citation:

Lyudmila A. Levanova, Yuliya V. Zakharova, Alina A. Markovskaya, Larisa Yu. Otdushkina. Bacteriophage sensitivity of opportunistic microbiota in children with gut dysbiosis. *Fundamental and Clinical Medicine*. (In Russ.). 2022;7(3): 40-45. <https://doi.org/10.23946/2500-0764-2022-7-3-40-45>

### \*Corresponding author:

Prof. Lyudmila A. Levanova, 22a, Voroshilova Street, Kemerovo, 650056, Russian Federation, E-mail: miss-levanova@yandex.ru  
© Lyudmila A. Levanova, et.al.

## Введение

Широкая распространенность микробиотических нарушений [1, 2], связь микробиоты с большим числом патологических состояний [2, 3, 4], рост антибиотикорезистентности патогенных и условно-патогенных микроорганизмов обуславливают необходимость снижения частоты использования антибиотиков в целом [5, 6, 7], в том числе для селективной деконтаминации при коррекции дисбактериозов. Альтернативой являются бактериофаги, которые стали часто использоваться в клинической практике при различных заболеваниях [8]. Связано это с

высокой избирательностью действия бактериофагов в отношении бактерий, в том числе, обладающих резистентностью к антибиотикам [9, 10]. Использование фагов для селективной деконтаминации микробиоты у детей находит широкое применение, так как бактериофаги не вызывают иммуносупрессии, не оказывают токсического действия и после лизиса всех бактерий, в которых они репродуцируются, фаги элиминируются из организма. При этом использование бактериофагов эффективно только при высокой литической активности вируса по отношению к бактериям, так как специфичность имеет

видовой и даже штаммовый характер. Поэтому, несмотря на имеющиеся научные публикации по литической активности коммерческих лечебных бактериофагов [11, 12], актуальным является определение фагочувствительности бактериальных штаммов в конкретном регионе при различных патологиях и состояниях.

### Цель исследования

Изучение литической активности специфических бактериофагов в отношении клебсиелл, протеев и золотистых стафилококков, выделенных из кишечника детей при нарушениях микробиоты.

### Материалы и методы

Изучали фагочувствительность условно-патогенных микроорганизмов, выделенных из кишечника, при микробиологических нарушениях у 300 детей, проживающих в г. Кемерово. Средний возраст детей составил  $3 \pm 0,6$  года, мальчиков было 150 (50%), девочек – 150 (50%). Критерием включения в группу было наличие изменений микробиоценоза кишечника по результатам бактериологического исследования, соответствующее I–III степени дисбактериоза; наличие одного или нескольких клинических проявлений дисбактериоза (клиническая фаза, стадия субкомпенсации или декомпенсации) [13]. Критерием исключения была лабораторно подтвержденная острая кишечная инфекция бактериальной или вирусной этиологии, прием антибиотиков и пробиотических препаратов меньше, чем за месяц до исследования, врожденные и приобретенные иммунодефициты. По результатам бактериологического исследования I степень микробиологических нарушений была верифицирована у 135 (45%) человек, II степень – у 90 (30%), III степень – у 75 (25%) детей. Клинически дисбактериоз проявлялся в виде неустойчивого стула (изменение частоты и характера стула) – 71%, наличия патологических примесей в стуле (слизи – 58%) и непереваренных крупинок (34%), кислого запаха испражнений (44,0%), метеоризма (73%), урчания в животе (68%) и выделения газов (59%). Законные представители ребенка, включенного в исследование, добровольно подписывали информированное согласие, разъясняющее цель, задачи исследования и дающее возможность использовать результаты в научных целях.

Проведено определение чувствительности к бактериофагам 315 культур, из них 120 штам-

мов клебсиелл, 70 штаммов протеев и 125 *Staphylococcus aureus*. Штаммы условно-патогенных бактерий выделены на дифференциально-диагностических (среда Эндо (ГНЦ ПМБ, Оболенск), HiChrome *Klebsiella* Selective Agar Base (HIMEDIA, Индия)) и селективных (желточно-солевой агар) питательных средах. Видовую идентификацию осуществляли по фенотипическим свойствам с использованием коммерческих тест-систем STAPHYtest 16 (Lachema diagnostica s.r.o., Чехия), ENTEROtest 24 (Lachema diagnostica s.r.o., Чехия).

Литическую активность бактериофагов изучали капельным методом на среде Мюллера-Хинтона (ГНЦ ПМБ, Оболенск) по наличию зоны лизиса бактериальной культуры в месте нанесения бактериофага, которую оценивали в «крестах», согласно методике [14]. Культуру считали чувствительной к бактериофагу при наличии прозрачной зоны лизиса без колоний вторичного роста, в остальных случаях штаммы бактерий относили к бактериофагонечувствительным культурам. Изучена литическая активность бактериофагов производства АО «НПО «Микроген» – «Бактериофаг клебсиелл поливалентный очищенный», «Бактериофаг протейный», «Бактериофаг стафилококковый». До начала исследования препараты бактериофагов хранились в холодильнике при температуре  $+4^{\circ}\text{C}$ , флаконы вскрывали в день исследования.

Для обработки цифровых данных использовали IBM SPSS Statistics / PS IMAGO 5 (IBM/Predictive Solutions Sp z.o.o.). Данные представлены в виде относительных показателей, которые сравнивали с помощью критерия  $\chi^2$  Пирсона. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез принимался равным или менее 0,05.

### Результаты и обсуждение

Установлено, что только 37,5% штаммов клебсиелл и 41,4% штаммов протеев были чувствительны к специфическим коммерческим бактериофагам. Доля чувствительных к фагам золотистых стафилококков составила 78,4%. Низкая чувствительность энтеробактерий к коммерческим бактериофагам свидетельствует о региональных особенностях штаммов условно-патогенной микробиоты и важности не только мониторинга фагочувствительности бактерий, но и выделения высоковирулентных бактериофагов на территории Кемеровской области – Кузбасса.

Известно, что бактериофаги обладают видо-

вой специфичностью, поэтому было проведено сопоставление литической активности специфических бактериофагов с учетом вида выделяемых бактерий. Из кишечника детей с дисбактериозом были выделены *Klebsiella oxytoca* (50%) и *Klebsiella pneumoniae* (50%), *Proteus mirabilis* (64,3%) и *Proteus vulgaris* (35,7%). Из всех изученных культур клебсиеллезный бактериофаг лизировал 56,7% штаммов *Klebsiella pneumoniae* и только 18,3% штаммов *Klebsiella oxytoca* ( $\chi^2=4,71$ ,  $df=1$ ,  $p=0,03$ ). Активность протейного бактериофага оказалась выше в отношении *Proteus vulgaris*, так как 52% штаммов этого вида лизировались препаратом, а доля чувствительных штаммов *Proteus mirabilis* составила 35,6% ( $\chi^2=5,52$ ,  $df=1$ ,  $p=0,04$ ).

Любые микробиологические нарушения сопровождаются не только нарушением качественного и количественного состава микробиоты, но и изменением биологических свойств микросимбионтов [15]. Это может быть результатом неоднократного использования антимикробных средств для селективной деконтаминации условно-патогенной микробиоты или/и результа-

том межмикробных взаимодействий при длительной персистенции факультативно микробиоты в биотопе [16]. В связи с этим была изучена чувствительность к бактериофагам бактерий, выделенных при различных степенях дисбактериоза кишечника. При анализе чувствительности к специфическим бактериофагам клебсиелл, протеев и золотистых стафилококков было установлено ее снижение у всех исследованных микроорганизмов при усугублении степени микробиологических нарушений (таблица 1).

При усугублении степени микробиологических нарушений у клебсиелл регистрировали видовое снижение чувствительности к фагам (таблица 2).

Практически аналогичные результаты получены при изучении литической активности специфического бактериофага в отношении разных видов протей. При III степени дисбактериоза литическая активность специфического бактериофага в отношении как *Proteus mirabilis*, так и *Proteus vulgaris* резко падала по сравнению с I степенью микробиологических нарушений (таблица 3).

Степень дисбиоза Severity of dysbiosis	Чувствительность к бактериофагам Sensitivity to commercially available bacteriophages								
	Клебсиеллезный бактериофаг <i>Klebsiella</i> -specific bacteriophage			Протейный бактериофаг <i>Proteus</i> -specific bacteriophage			Стафилококковый бактериофаг <i>Staphylococcus</i> -specific bacteriophage		
	n <sub>всего</sub> n <sub>total</sub>	n <sub>чувств</sub> N <sub>lysed</sub>	% <sub>чувств</sub> % <sub>lysed</sub>	n <sub>всего</sub> n <sub>total</sub>	n <sub>чувств</sub> N <sub>lysed</sub>	% <sub>чувств</sub> % <sub>lysed</sub>	n <sub>всего</sub> n <sub>total</sub>	n <sub>чувств</sub> N <sub>lysed</sub>	% <sub>чувств</sub> % <sub>lysed</sub>
I	55	24	43,6	20	13	65,0	43	37	86,0
II	35	13	37,1	25	12	48,0	42	35	83,3
III	30	8	26,7	25	4	16,0	40	26	65,0
P	0.006			0.0001			0.01		

Таблица 1.

Чувствительность к специфическим бактериофагам *Klebsiella* spp., *Proteus* spp., *Staphylococcus aureus*, выделенных из кишечника при различных степенях дисбактериоза

Table 1.

Sensitivity of *Klebsiella* spp., *Proteus* spp., and *Staphylococcus aureus* strains isolated from the gut with children with dysbiosis to commercially available specific bacteriophages

Степень дисбиоза Degree of dysbiosis	Чувствительность к бактериофагу Sensitivity to commercially available bacteriophages					
	<i>Klebsiella pneumoniae</i> (n = 60)			<i>Klebsiella oxytoca</i> (n = 60)		
	n <sub>всего</sub> n <sub>total</sub>	n <sub>чувств</sub> N <sub>lysed</sub>	% <sub>чувств</sub> % <sub>lysed</sub>	n <sub>всего</sub> n <sub>total</sub>	n <sub>чувств</sub> N <sub>lysed</sub>	% <sub>чувств</sub> % <sub>lysed</sub>
I	30	19	63,3	25	7	28,0
II	15	8	53,3	20	3	15,0
III	15	7	46,7	15	1	6,7
P	0.069			0.002		

Таблица 2.

Видовая чувствительность к специфическому бактериофагу клебсиелл, выделенных из кишечника при различных степенях дисбактериоза

Table 2.

Sensitivity of distinct *Klebsiella* species isolated from the gut with children with dysbiosis to commercially available specific bacteriophages

Таблица 3.

Видовая чувствительность к специфическому бактериофагу протеев, выделенных из кишечника при различных степенях дисбактериоза

Степень дисбиоза <i>Degree of dysbiosis</i>	Чувствительность к бактериофагу <i>Sensitivity to commercially available bacteriophages</i>					
	<i>Proteus mirabilis</i> (n = 45)			<i>Proteus vulgaris</i> (n = 25)		
	$n_{\text{всего}}$ $n_{\text{total}}$	$n_{\text{чувств}}$ $N_{\text{lysed}}$	$\%_{\text{чувств}}$ $\%_{\text{lysed}}$	$n_{\text{всего}}$ $n_{\text{total}}$	$n_{\text{чувств}}$ $N_{\text{lysed}}$	$\%_{\text{чувств}}$ $\%_{\text{lysed}}$
I	10	8	80,0	7	6	85,7
II	20	7	35,0	10	6	60,0
III	15	1	6,6	8	1	12,5
<i>P</i>	0.0002			0,0062		

Table 3.

Sensitivity of distinct *Proteus* species isolated from the gut with children with dysbiosis to commercially available specific bacteriophages

## Заключение

Микроорганизмы рода *Klebsiella* и *Proteus*, выделенные при нарушениях кишечного микробиома, характеризуются низкой чувствительностью к коммерческим бактериофагам, что может являться региональной особенностью штаммов. Это раскрывает перспективы по выделению бактериофагов из окружающей среды на территории Кемеровской области и депонированию ви-

рулентных штаммов с целью разработки региональных иммунобиологических препаратов.

Чувствительность условно-патогенных бактерий к специфическим бактериофагам снижается по мере усугубления микробиологических нарушений, поэтому при выборе лечебных бактериофагов необходим персонализированный подход, который заключается в учете результатов индивидуальной фагочувствительности бактерий.

## Литература :

1. Сулейманова З.Я., Устинова Н.В., Турти Т.В. Особенности гастроинтестинальных нарушений у детей с расстройствами аутистического спектра: обзор литературы. *Педиатрическая фармакология*. 2022;19(2):99-104. <http://doi.org/10.15690/pf.v19i2.2397>
2. Червинец В.М., Червинец Ю.В., Кравчук Э.С. Кишечный дисбаланс у молодых людей как маркер хронических соматических заболеваний. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. 2022;200(4):153-159. <https://doi.org/10.31146/1682-8658-ecg-200-4-153-159>
3. Бухарин О.В., Перунова Н.Б. Роль микробиоты в регуляции гомеостаза организма человека при инфекции. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2020;97(5):456-467. <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2020-97-5-8>
4. Grylls A, Seidler K, Neil J. Link between microbiota and hypertension: Focus on LPS/TLR4 pathway in endothelial dysfunction and vascular inflammation, and therapeutic implication of probiotics. *Biomed Pharmacother*. 2021;137:111334. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.111334>
5. Горелов А.В., Мелехина Е.В., Сидельникова Э.С. Профилактика нарушений биоценоза у детей с острыми респираторными инфекциями, получающих антибактериальную терапию. *Русский медицинский журнал*. 2019;10:26-31
6. Stewardson AJ, Vervoort J, Adriaenssens N, Coenen S, Godyci-Cwirko M, Kowalczyk A, Huttner BD, Lammens C, Malhotra-Kumar S, Goossens H, Harbarth S; SATURN WP1 Study Group; SATURN WP3 Study Group. Effect of outpatient antibiotics for urinary tract infections on antimicrobial resistance among commensal Enterobacteriaceae: a multinational prospective cohort study. *Clin Microbiol Infect*. 2018;24(9):972-979. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2017.12.026>
7. Плотникова Е.Ю., Захарова Ю.В. Антибиотики как модуляторы кишечной микробиоты: между добром и злом. *Русский медицинский журнал*. 2018;11(II):131-136.
8. Hsu CL, Duan Y, Fouts DE, Schnab B. Intestinal virome and therapeutic potential of bacteriophages in liver disease. *J Hepatol*. 2021;75(6):1465-1475. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2021.08.003>
9. Shkoporov AN, Hill C. Bacteriophages of the Human Gut: The "Known Unknown" of the Microbiome. *Cell Host Microbe*. 2019;25(2):195-209. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2019.01.017>
10. Mahmoud ERA, Ahmed HAH, Abo-senna ASM, Riad OKM, Rahman Abo- Shadi MM Al. Isolation and characterization of six gamma-irradiated bacteriophages specific for MRSA and VRSA isolated from skin infections. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*. 2021;14(1):34-43 <https://doi.org/10.1080/16878507.2020.1795564>
11. Саперкин Н.В., Ковалишена О.В., Квашина Д.В., Раузендал Э., Схолтен Р. Эффективность использования бактериофагов для лечения и профилактики инфекции: систематический обзор. *Журнал инфектологии*. 2019;11(4):19-30. <https://doi.org/10.22625/2072-6732-2019-11-4-19-30>
12. Асланов Б.И., Зуева Л.П., Долгий А.А., Конев С.Д., Гришко Т.А. Эффективность применения бактериофагов против штаммов *Pseudomonas aeruginosa*, формирующих микробные биопленки. *Профилактическая и клиническая медицина*. 2020;77(4):40-45 [https://doi.org/10.47843/2074-9120\\_2020\\_4\\_40](https://doi.org/10.47843/2074-9120_2020_4_40)
13. ОСТ 91500.11.0004-2003. Протокол ведения больных. *Дисбактериоз кишечника*. Введ. 2003-06-09. Москва: Московская медицинская академия имени И.М. Сеченова Минздрава России, 2003. 74 с.
14. *Рациональное применение бактериофагов в лечебной и противоэпидемической практике*. Федеральные клинические (методические) рекомендации. Москва: 2014. 54 с.
15. Захарова Ю.В., Леванова Л.А., Штернис Т.А., Сухих А.С., Марковская А.А. Характеристика биологических свойств бифидобактерий при микробиологических нарушениях кишечника у ВИЧ-инфицированных детей. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2019;3:3-9. <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2019-3-3-9>
16. Booth SC, Rice SA. Influence of interspecies interactions on the spatial organization of dual species bacterial communities. *Biofilm*. 2020;2:100035. <https://doi.org/10.1016/j.bioflm.2020.100035>

## References:

1. Suleymanova ZY, Ustinova NV, Turti TV. Features of gastrointestinal malformations in children with autism spectrum disorders: literature review. *Pediatric pharmacology*. 2022;19(2):99-104. (In Russ). <https://doi.org/10.15690/pf.v19i2.2397>
2. Chervinets VM, Chervinets YuV, Kravchuk ES. Intestinal imbalance in young people as a marker of chronic somatic diseases. *Experimental and clinical gastroenterology*. 2022;200(4):153-159. (In Russ). <https://doi.org/10.31146/1682-8658-ecg-200-4-153-159>

3. Bukharin OV, Perunova NB. The role of microbiota in the regulation of homeostasis of the human body during infection. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2020;97(5):456-467. (In Russ). <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2020-97-5-8>
4. Grylls A, Seidler K, Neil J. Link between microbiota and hypertension: Focus on LPS/TLR4 pathway in endothelial dysfunction and vascular inflammation, and therapeutic implication of probiotics. *Biomed Pharmacother*. 2021;137:111334. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.111334>
5. Gorelov AV, Melekhnina EV, Sidelnikova ES. Prevention of biocenosis disorders in children with acute respiratory infections receiving antibacterial therapy. *Russian Medical Journal*. 2019;10: 26-31. (In Russ).
6. Stewardson AJ, Vervoort J, Adriaenssens N, Coenen S, Godycski-Cwirko M, Kowalczyk A, Huttner BD, Lammens C, Malhotra-Kumar S, Goossens H, Harbarth S; SATURN WP1 Study Group; SATURN WP3 Study Group. Effect of outpatient antibiotics for urinary tract infections on antimicrobial resistance among commensal Enterobacteriaceae: a multinational prospective cohort study. *Clin Microbiol Infect*. 2018;24(9):972-979. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2017.12.026>
7. Plotnikova EYu, Zakharova YuV. Antibiotics as modulators of the intestinal microbiota: between good and the bad. *Russian Medical Journal*. 2018;11(II):131-136. (In Russ).
8. Hsu CL, Duan Y, Fouts DE, Schnab B. Intestinal virome and therapeutic potential of bacteriophages in liver disease. *J Hepatol*. 2021;75(6):1465-1475. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2021.08.003>
9. Shkoporov AN, Hill C. Bacteriophages of the Human Gut: The "Known Unknown" of the Microbiome. *Cell Host Microbe*. 2019;25(2):195-209. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2019.01.017>
10. Mahmoud ERA, Ahmed HAH, Abo-senna ASM, Riad OKM, Rahman Abo- Shadi MM Al. Isolation and characterization of six gamma-irradiated bacteriophages specific for MRSA and VRSA isolated from skin infections. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*. 2021;14(1):34-43 <https://doi.org/10.1080/16878507.2020.1795564>
11. Saperkin NV, Kovalishena OV, Kvashnina DV, Rosenthal E, Scholten R. Efficiency of phage therapy in humans: systematic review. *Journal of Infectology*. 2019;11(4):19-30. (In Russ). <https://doi.org/10.22625/2072-6732-2019-11-4-19-30>
12. Aslanov BI, Zueva LP, Dolgiy AA, Konev SD, Grishko TA. Efficacy of bacteriophages against *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Preventive and clinical medicine*. 2020;77(4):40-45. (In Russ). [https://doi.org/10.47843/2074-9120\\_2020\\_4\\_40](https://doi.org/10.47843/2074-9120_2020_4_40)
13. OST 91500.11.0004-2003. Protokol vedeniya bol'nykh. *Disbakterioz kishhechnika*. Vved. 2003-06-09. Moscow: Moskovskaya meditsinskaya akademiya imeni I.M. Sechenova Minzdrava Rossii; 2003. 74 p. (In Russ).
14. *Ratsional'noe primeneniye bakteriofagov v lechbennoy i protivoepidemicheskoy praktike*. Federal'nye klinicheskie (metodicheskie) rekomendatsii. Moscow: 2014. 54 p. (In Russ).
15. Zakharova YuV, Levanova LA, Shternis TA, Sukhikh AS, Markovskaya AA. Characteristics of bifidobacteria biological properties in gut microflora disorders in hiv-infected children. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2019;3:3-9. (In Russ). <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2019-3-3-9>
16. Booth SC, Rice SA. Influence of interspecies interactions on the spatial organization of dual species bacterial communities. *Biofilm*. 2020;2:100035. <https://doi.org/10.1016/j.bioflm.2020.100035>

## Сведения об авторах

**Леванова Людмила Александровна**, доктор медицинских наук, заведующая кафедрой микробиологии и вирусологии ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (650056, г. Кемерово, ул. Ворошилова, д. 22а).

**Вклад в статью:** выполнение практической части исследования, утверждение окончательной версии и техническое оформление статьи.

**ORCID:** 0000-0002-5977-9149

**Захарова Юлия Викторовна**, доктор медицинских наук, профессор кафедры микробиологии и вирусологии ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (650056, г. Кемерово, ул. Ворошилова, д. 22а).

**Вклад в статью:** бактериологические исследования, формулирование концепции и написание первичного варианта статьи.

**ORCID:** 0000-0002-3475-9125

**Марковская Алина Анатольевна**, ассистент кафедры эпидемиологии, инфекционных болезней и дерматовенерологии ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (650056, г. Кемерово, ул. Ворошилова, д. 22а).

**Вклад в статью:** участие в переработке и анализе полученной информации.

**ORCID:** 0000-0002-5001-7068

**Отдушкина Лариса Юрьевна**, ассистент кафедры микробиологии и вирусологии ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (650056, г. Кемерово, ул. Ворошилова, д. 22а).

**Вклад в статью:** бактериологические исследования, изучение биологических свойств бактерий, статистическая обработка материала.

**ORCID:** 0000-0003-4126-4312

Статья поступила: 28.07.2022 г.

Принята в печать: 31.08.2022 г.

Контент доступен под лицензией CC BY 4.0.

## Authors

**Prof. Lyudmila A. Levanova**, MD, DSc, Professor, Head of the Department of Microbiology and Virology, Kemerovo State Medical University (22a, Voroshilova Street, Kemerovo, 650056, Russian Federation).

**Contribution:** conducted the experiments; performed the data analysis; wrote the manuscript.

**ORCID:** 0000-0002-5977-9149

**Prof. Yuliya V. Zakharova**, MD, DSc, Professor, Department of Microbiology and Virology, Kemerovo State Medical University (22a, Voroshilova Street, Kemerovo, 650056, Russian Federation).

**Contribution:** conceived and designed the study; conducted the experiments; performed the data analysis; wrote the manuscript.

**ORCID:** 0000-0002-3475-9125

**Dr. Alina A. Markovskaya**, MD, Assistant Professor, Department of Epidemiology, Infectious Diseases, Dermatology and Venereology, Kemerovo State Medical University (22a, Voroshilova Street, Kemerovo, 650056, Russian Federation).

**Contribution:** participation in the processing and analysis of the received information.

**ORCID:** 0000-0002-5001-7068

**Dr. Larisa Yu. Otdushkina**, MD, Assistant Professor, Department of Microbiology and Virology, Kemerovo State Medical University (22a, Voroshilova Street, Kemerovo, 650056, Russian Federation).

**Contribution:** conducted the experiments; performed the data analysis.

**ORCID:** 0000-0003-4126-4312

Received: 28.07.2022

Accepted: 31.08.2022

Creative Commons Attribution CC BY 4.0.

УДК: 618.16-002.27-085

<https://doi.org/10.23946/2500-0764-2022-7-3-46-53>

# АНТИОКСИДАНТЫ В КОМПЛЕКСНОЙ ТЕРАПИИ КРАУРОЗА ВУЛЬВЫ

КИСЕЛЕВА Е.А.\*, МАХМУТХОДЖАЕВ А.Ш., МИХЕЕНКО Г.А.

ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Томск, Россия

## Резюме

**Цель.** Изучение влияния антиоксиданта этилметилгидроксипиридина сукцината на эффективность лечения крауроза (склероатрофического лишена) вульвы методом фотодинамической терапии (ФДТ).

**Материалы и методы.** 90 пациенток с краурозом вульвы были рандомизированы на 3 группы. Участницы из первой группы получали ФДТ с последующим назначением антиоксиданта этилметилгидроксипиридина сукцината в течение одного месяца. Участницы из второй группы проходили только ФДТ. В третьей группе пациенткам проводился курс лазеротерапии на область промежности. Динамическая оценка клинических проявлений крауроза проводилась до и после лечения, а также через 1, 6 и 12 месяцев после завершения терапии. Для оценки степени выраженности зуда вульвы применялась визуально-аналоговая шкала (ВАШ), с целью определения активности крауроза выполнялся подсчет LS-A-индекса, для описания площади поражения вульвы краурозом использовался LS-S-индекс.

**Результаты.** В ходе исследования ФДТ продемонстрировала большую терапевтическую эффективность при краурозе вульвы в сравнении с лазеротерапией. Включение этилметилгидроксипиридина сукцината в лечение позволило улучшить результаты ФДТ. На фоне комбинированной антиоксидантной и фотодинамической терапии ремиссия зуда вульвы в течение 12 месяцев была достигнута у 73% па-

циенток, при ФДТ аналогичный исход наблюдался у 47% участниц ( $F = 10,545$ ;  $p = 0,042$ ). У женщин из первой группы зуд купировался быстрее: через месяц после лечения интенсивность зуда по ВАШ составила 2 балла, в то время как в группе ФДТ – 4,5 балла ( $p < 0,001$ ). Эпителизация вульвы после ФДТ у пациенток, принимавших антиоксидант, происходила раньше, чем в группе сравнения (за  $48 \pm 5$  дней против  $54 \pm 3$  дней,  $p < 0,001$ ). Распространенность и активность кожного процесса в течение 12 месяцев наблюдения у женщин, получавших комбинированную терапию, были значительно меньше: LS-S-индекс составил 1 балл против 3 баллов в группе ФДТ ( $p < 0,001$ ), LS-A-индекс составил 4 балла против 6,5 баллов в группе ФДТ ( $p = 0,004$ ).

**Заключение.** Метод комбинированной фотодинамической и антиоксидантной терапии с использованием этилметилгидроксипиридина сукцината продемонстрировал хорошую эффективность в отношении крауроза вульвы и может быть рекомендован для лечения пациенток с данной патологией.

**Ключевые слова:** крауроз вульвы, склероатрофический лишень вульвы, фотодинамическая терапия, антиоксидантная терапия.

## Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## Источник финансирования

Исследование не имело спонсорской поддержки.

## Для цитирования:

Киселева Е.А., Махмутходжаев А.Ш., Михеенко Г.А. Антиоксиданты в комплексной терапии крауроза вульвы. *Фундаментальная и клиническая медицина*. 2022;7(3): 46-53. <https://doi.org/10.23946/2500-0764-2022-7-3-46-53>

## \*Корреспонденцию адресовать:

Киселева Екатерина Александровна, 634050, Россия, г. Томск, Московский тракт, д. 2, E-mail: rhapsody@t-sk.ru  
© Киселева Е.А. и др.

## ORIGINAL RESEARCH

## ANTIOXIDANTS IN TREATMENT OF KRAUROSIS VULVAE

EKATERINA A. KISELEVA\*, ALISHER SH. MAKHMUTKHODZHAEV, GALINA A. MIKHEENKO

Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation

## Abstract

**Aim.** To study impact of ethylmethylhydroxypyridine succinate, an antioxidant, on the efficacy of photodynamic therapy (PDT) of kraurosis vulvae (vulvar lichen sclerosus).

**Materials and Methods.** The study enrolled 90 patients with kraurosis vulvae who were randomised into 3 groups receiving: 1) PDT and ethylmethylhydroxypyridine succinate 1 week after the start of the PDT for 1 month; 2) PDT without ethylmethylhydroxypyridine succinate; 3) low-level laser therapy on the perineal region. Clinical manifestations of kraurosis vulvae were dynamically assessed before the treatment and 1, 6, and 12 months post treatment. The severity of vulvar itching was evaluated using visual analogue scale. LS-A index was calculated to determine the disease activity, whilst LS-S index was applied to quantify the affected vulvar area.

**Results.** PDT demonstrated higher therapeutic efficacy in treatment of kraurosis vulvae than low-level laser therapy. Addition of ethylmethylhydroxypyridine succinate to the treatment protocol improved the results of PDT, as remission of vulvar itching within 12 months was achieved in 73% of patients who received PDT in conjunction

with ethylmethylhydroxypyridine succinate and only in 47% of participants receiving PDT alone ( $p = 0.042$ ). One month post treatment, the intensity of itching according to visual analogue scale was 2.0 points in patients who received combined treatment and 4.5 points in those receiving PDT alone ( $p < 0.001$ ). Vulvar epithelialization also occurred earlier in patients receiving combined treatment ( $48 \pm 5$  days versus  $54 \pm 3$  days in those receiving PDT alone,  $p < 0.001$ ). Upon 12 months of observation, disease activity and affected vulvar area were significantly lower in patients receiving combined treatment (LS-A 4.0; LS-S 1.0) as compared to the PDT alone (LS-A 6.5; LS-S 3.0,  $p = 0.004$  and  $< 0.001$ , respectively).

**Conclusion.** Addition of ethylmethylhydroxypyridine succinate to photodynamic therapy demonstrated high efficacy against kraurosis vulvae and can be recommended for its treatment.

**Keywords:** kraurosis vulvae, vulvar lichen sclerosus, photodynamic therapy, antioxidant therapy.

## Conflict of Interest

None declared.

## Funding

There was no funding for this project.

◀ English

## For citation:

Ekaterina A. Kiseleva, Alisher Sh. Makhmutkhodzhaev, Galina A. Mikheenko. Antioxidants in treatment of kraurosis vulvae. *Fundamental and Clinical Medicine*. (In Russ.).2022;7(3): 46-53. <https://doi.org/10.23946/2500-0764-2022-7-3-46-53>

## \*Corresponding author:

Ekaterina A. Kiseleva, 2, Moskovsky trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation, E-mail: [rhapsody@t-sk.ru](mailto:rhapsody@t-sk.ru)

© Ekaterina A. Kiseleva, et al.

## Введение

Эффективное лечение крауроза вульвы (генитальной формы склероатрофического лишая) является трудной и по сей день нерешенной задачей для акушеров-гинекологов всего мира. В первую очередь это связано с неопределенностью в вопросах этиопатогенеза данного заболевания [1–3]. В литературных источниках приводится несколько версий того, как крауроз может возникать и прогрессировать [4], однако ни одна теория развития данной патологии не является общепринятой.

Рядом научных исследований было доказа-

но, что немалую роль в патогенезе, прогрессировании и злокачественной трансформации крауроза играет окислительный (син. оксидативный) стресс [5–9], который представляет собой процесс повреждения клетки в результате окисления. Химические соединения, обладающие антиоксидантной активностью, способны нейтрализовать свободные радикалы, образующиеся в результате окисления, тем самым предотвращая повреждение клеток.

Антиоксиданты обычно классифицируют на эндогенные и экзогенные. Кожа обладает об-

ширной эндогенной антиоксидантной системой, однако ее не всегда бывает достаточно, чтобы противостоять активно протекающим процессам окисления, что наблюдается при подавляющем большинстве (а, возможно, и при всех) хронических воспалительных и аутоиммунных заболеваниях кожи [10], одним из которых является крауроз вульвы.

Организм также может получать антиоксиданты экзогенно (с пищей или в виде лекарственных препаратов). Согласно имеющимся исследованиям, выводы, подтверждающие эффективность антиоксидантного лечения в целом, все еще остаются неясными. При этом имеется достаточно большое количество сообщений об эффективном антиоксидантном лечении кожных заболеваний, а также о том, что ряд традиционных препаратов, используемых для лечения дерматозов, обладает антиоксидантной активностью [11].

Насколько известно авторам статьи, исследований, посвященных целенаправленному изучению эффективности антиоксидантной терапии при краурозе вульвы, нет. Тем не менее, учитывая роль, которую окислительный стресс играет при данном заболевании, терапевтическое использование антиоксидантов представляется рациональным и возможным, конечно, в сочетании с другими методами лечения.

Одним из наиболее эффективных методов лечения крауроза вульвы считается фотодинамическая терапия (ФДТ) [2, 3]. Развитие лечебного эффекта при ФДТ связано с усилением активности окислительных процессов в патологических тканях. Использование антиоксидантов у пациенток, получающих ФДТ, представляет собой интерес, поскольку может улучшать исходы лечения данным методом.

## Цель исследования

Изучение влияния антиоксиданта этилметилгидроксипиридина сукцината на эффективность лечения крауроза вульвы методом ФДТ.

## Материал и методы

В проспективном рандомизированном исследовании, оформленном в соответствии с международными стандартами GCP, приняли участие 90 пациенток гинекологического отделения ОГАУЗ «Томская областная клиническая больница» (г. Томск) и «Центр перинатального здоровья» (г. Томск), которые в период с 2017 по 2020 гг. проходили обследование и лечение по поводу крауроза вульвы (код по МКБ-10 N90.4).

Диагноз участниц был установлен на основании осмотра кожно-слизистых покровов наружных половых органов, простой и расширенной вульвоскопии и гистологического исследования биоптата вульвы. Помимо диагноза, критериями включения женщин в исследование стали: менопауза продолжительностью более 5 лет, а также оформленное информированное добровольное согласие на участие в исследовании и на медицинское вмешательство.

Пациентки исключались из исследования в случае гистологически подтвержденного сочетания крауроза с другой патологией вульвы, в том числе злокачественной; наличия у них на момент исследования декомпенсированной соматической патологии, острых воспалительных заболеваний, требующей хирургического лечения гинекологической патологии; выявления противопоказаний для применения лазеротерапии, фотодинамической терапии, приема этилметилгидроксипиридина сукцината; отказа пациентки от участия в исследовании.

Все женщины были рандомизированы на 3 группы по 30 участниц. Пациентки первой (основной) группы однократно проходили сеанс ФДТ. Облучение очагов крауроза на вульве и промежности проводилось диодным лазером Лакта-Милон (группа компаний МИЛОН, Россия) с использованием 0,5% геля Радахлорина® («Рада-Гель®», ООО «РАДА-ФАРМА®», Россия). Световое воздействие осуществлялось в импульсном режиме, продолжительность процедуры рассчитывалась индивидуально в зависимости от площади поражения вульвы и составляла от 15 до 40 минут. Длина волны излучения составляла 662 нм, выходная мощность источника света – 2 Вт, плотность энергии – 200 Дж/см<sup>2</sup>.

Через 7 дней после проведения ФДТ участницам первой группы назначался этилметилгидроксипиридина сукцинат. Данный препарат включен в Государственный реестр лекарственных средств и относится к фармакологической группе антигипоксантов и антиоксидантов. Он ингибирует перекисное окисление липидов, повышает активность супероксиддисмутазы и стабилизирует мембраны клеток, тем самым реализуя свой антиоксидантный эффект.

Помимо антиоксидантного, этилметилгидроксипиридина сукцинат имеет дополнительное анксиолитическое действие (увеличивает содержание дофамина в головном мозге), повышает устойчивость организма к стрессу и усиливает резистентность организма к воздействию

повреждающих факторов, что может быть полезным для пациенток с краурозом, которые зачастую психологически истощены [2, 3]. Прием данного препарата улучшает микроциркуляцию и реологические свойства крови, что значимо в период восстановления тканей вульвы после ФДТ.

Пациентки принимали препарат по 125 мг 3 раза в сутки в течение 1 месяца, согласно официальной инструкции. Семидневный период выжидания между проведением ФДТ и назначением этилметилгидроксипиридина сукцината позволил избежать нежелательного медикаментозного влияния антиоксиданта на процесс ожидаемого нами окислительного повреждения клеток в очагах крауроза [5], который продолжается в период до 6 суток после сеанса ФДТ с применением радахлорина.

Во второй (контрольной) группе пациентки получали однократный сеанс ФДТ, процедура которой была идентична таковой в первой группе. Лечение данных женщин не включало антиоксидантную терапию.

В данной работе также проводилось сравнение эффекта комбинированной антиоксидантной и фотодинамической терапии с широко используемым в отечественной гинекологии методом физиотерапевтического лечения крауроза – лазеротерапией на область промежности. Для этого нами была выделена третья (контрольная) группа пациенток, которые проходили общепринятый курс лазеротерапии в объеме 10 сеансов.

Опрос, осмотр пациенток, простую и расширенную вульвоскопию в динамике проводили непосредственно перед началом лечения (первый визит), через 7 дней после сеансов ФДТ в первой и второй группах и сразу по окончании курса лазеротерапии в третьей группе (второй визит), далее – через 1, 6 и 12 месяцев после второго визита (третий, четвертый и пятый визиты соответственно).

Динамическая оценка степени выраженности зуда вульвы осуществлялась по визуально-аналоговой шкале (ВАШ) от 0 до 10 баллов, где 0 баллов – отсутствие зуда, 1–3 балла – слабый, 4–7 баллов – умеренный, 8–10 баллов – выраженный зуд [12].

Площадь поражения вульвы определялась посредством LS-S-индекса (Lichen Sclerosus-S) [13]. Суммарная оценка LS-S-индекса составляла от 0 до 10 баллов, где 0 баллов – отсутствие очагов крауроза на вульве, 10 – вся вульва и прианальная область поражены краурозом.

Выраженность клинических проявлений

крауроза в динамике оценивалась в соответствии с индексом активности кожного процесса LS-A (Lichen Sclerosus-A) [10] по критериям: эритема, отек, уплотнение кожи, белый цвет очагов, гиперкератоз, атрофия, пузыри, пурпура/эксхимозы, эрозии, трещины. В зависимости от степени выраженности каждому из перечисленных признаков присваивали от 0 до 3 баллов, где 0 баллов – признак отсутствует, 1 балл – признак выражен незначительно, 2 балла – признак выражен умеренно, 3 балла – признак выражен значительно. Суммарная оценка индекса LS-A может составлять от 0 до 30 баллов.

Полученные в ходе исследования данные были обработаны с помощью программы STATISTICA 8,0 (StatSoft, USA). Тестирование исходных данных на нормальность выполнялось с использованием критерия Колмогорова-Смирнова. Оценка количественных непрерывных данных проводилась посредством расчета среднего (mean) и его стандартного отклонения (SD), для порядковых величин вычислялись медиана (Me) и интерквартильный размах (Q1; Q3). Качественные переменные оценивались в виде процентной доли (%).

Сравнение по количественным переменным в независимых группах производилось с применением критерия Манна-Уитни, в зависимых – с использованием критерия Вилкоксона. Сравнение групп по качественным переменным выполнялось посредством точного критерия Фишера (F), где  $F_1$  – критерий Фишера при сравнении групп 1 и 2,  $F_2$  – критерий Фишера при сравнении групп 1 и 3. Различия между группами считались статистически значимыми при  $p < 0,05$ , где  $p_1$  – различия между группами 1 и 2,  $p_2$  – различия между группами 1 и 3;  $p_3$  – различия между данными до лечения и через 12 месяцев после лечения в пределах одной группы.

## Результаты и обсуждение

Анализ данных, полученных в ходе исследования, позволил сделать вывод, что все три группы пациенток, принимавших участие в данной работе, статистически не отличались по медико-социальным и клиническим характеристикам.

В исследование были включены женщины от 52 до 75 лет, средний возраст пациенток составил  $62 \pm 5$  года. Все участницы были в постменопаузе продолжительностью более 5 лет (от 6 до 31 года). Средняя продолжительность менопаузы соответствовала  $12 \pm 5$  годам. Участницы исследования указывали продолжительность

Таблица 1.

Степень выраженности зуда вульвы по ВАШ, Me (Q1; Q3),

Table 1.

The severity of vulvar itching according to visual analogue scale, median and interquartile range,

Визит Visit	Группа 1 Group 1 n = 30	Группа 2 Group 2 n = 30	Группа 3 Group 3 n = 30
До лечения Before treatment	7 (6; 8)	7 (6; 8) $p_1 = 0,913$	7 (6; 7) $p_2 = 0,796$
После лечения After treatment	6 (5; 8)	7 (5; 8) $p_1 = 0,736$	1 (1; 2) $p_2 < 0,001$
Через 1 месяц после лечения 1 month post treatment	2 (1; 3)	4,5 (4; 5) $p_1 < 0,001$	3 (2; 3) $p_2 = 0,238$
Через 6 месяцев после лечения 6 months post treatment	0 (0; 0)	0 (0; 0) $p_1 = 0,258$	6 (5; 7) $p_2 < 0,001$
Через 12 месяцев после лечения 12 months post treatment	0 (0; 5) $p_3 < 0,001$	2,5 (0; 7) $p_1 = 0,081$ $p_3 < 0,001$	7 (6; 7) $p_2 < 0,001$ $p_3 = 1$

Примечание: Me – медиана; Q1 и Q3 – квантили; n – объем выборки;  $p_1$  – значимость различий при сравнении между группами 1 и 2;  $p_2$  – значимость различий при сравнении между группами 1 и 3;  $p_3$  – различия между данными до лечения и через 12 месяцев после лечения в пределах одной группы.

своей болезни от 1 до 22 лет. Средняя продолжительность заболевания составила  $8 \pm 5$  лет.

Большинство пациенток предъявляли жалобы на зуд в области вульвы и промежности. Умеренный и сильный зуд в области наружных половых органов беспокоил 29 (96,7%) женщин из первой группы, 28 (93%) – из второй и 29 (97%) – из третьей ( $F_1 = 1$ ;  $p_1 = 0,326$ ;  $F_2 = 0$ ;  $p_2 = 1$ ). Степень выраженности зуда вульвы по ВАШ до начала лечения статистически не отличалась во всех трех группах (таблица 1).

Сразу после лечения интенсивность зуда вульвы значительно снизилась в третьей группе, тогда как женщины из первой и второй групп продолжали испытывать умеренный зуд, что, по всей вероятности, связано с постепенно наступающим терапевтическим эффектом ФДТ.

Через месяц после лечения интенсивность зуда вульвы у пациенток, получавших комбинированную антиоксидантную и фотодинамическую терапию, была значимо более низкой, чем у участниц, получавших только ФДТ, но при этом не имела значимого отличия от аналогичного показателя в группе лазеротерапии.

По прошествии 6 месяцев после лечения одна (3%) пациентка из первой и три (10%) – из второй группы предъявляли жалобы на слабый или умеренный зуд вульвы. В третьей группе постоянный умеренный и выраженный зуд вульвы с оценкой в 5–9 баллов по ВАШ наблюдался у 25 (83%) женщин ( $F_1 = 2,071$ ;  $p_1 = 0,161$ ;  $F_2 = 116$ ;  $p_2 < 0,001$ ).

Через 12 месяцев после лечения наличие зуда вульвы отмечали 8 (27%) пациенток из первой группы и 16 (53%) – из второй. В третьей груп-

пе умеренный и выраженный зуд наружных половых органов беспокоил 29 (97%) женщин ( $F_1 = 10,545$ ;  $p_1 = 0,003$ ;  $F_2 = 67,667$ ;  $p_2 < 0,001$ ).

ФДТ, в том числе в комбинации с антиоксидантной терапией, продемонстрировала преимущества в продолжительности ремиссии зуда вульвы после лечения: в первой группе она составила  $10 \pm 2$  месяцев, во второй –  $9 \pm 2$  месяцев, в третьей –  $6 \pm 1$  месяцев ( $p_1 = 0,236$ ;  $p_2 = 0,002$ ).

Визуальные изменения кожно-слизистых покровов наружных половых органов, характерные для крауроза, были выявлены у всех (100%) участниц исследования. Согласно LS-S-индексу, который высчитывался во время осмотра и вульвоскопии, распространенность патологического процесса на кожно-слизистых покровах вульвы и промежности перед началом лечения в исследуемых группах значимо не различалась (таблица 2). Также необходимо отметить, что LS-S-индекс, отражающий степень распространения крауроза, на протяжении всего исследования, в том числе на фоне проводимого лечения, у пациенток из третьей группы не изменялся.

После применения ФДТ в первой и второй группах степень распространения крауроза прогрессивно уменьшалась. Наименьшие значения LS-S-индекса в этих двух группах были получены во время визита через 6 и 12 месяцев после лечения.

На момент первого визита пациенток выраженность клинических проявлений крауроза, согласно индексу активности кожного процесса LS-A, в группах статистически не отличалась (таблица 3). После лечения (второй визит) значение индекса LS-A в третьей группе снизилось,

Визит Visit	Группа 1 Group 1 n = 30	Группа 2 Group 2 n = 30	Группа 3 Group 3 n = 30
До лечения Before treatment	6,5 (5; 7)	6,5 (5; 8) $p_1 = 1$	7 (5; 8) $p_2 = 0,825$
После лечения After treatment	6,5 (5; 7)	6,5 (5; 8) $p_1 = 1$	7 (5; 8) $p_2 = 0,825$
Через 1 месяц после лечения 1 month post treatment	4 (3; 5)	5 (4; 6) $p_1 = 0,089$	7 (5; 8) $p_2 < 0,001$
Через 6 месяцев после лечения 6 months post treatment	1 (0; 2)	3 (0; 4) $p_1 = 0,001$	7 (5; 8) $p_2 < 0,001$
Через 12 месяцев после лечения 12 months post treatment	1 (0; 2) $p_3 < 0,001$	3 (0; 4) $p_1 < 0,001$ $p_3 < 0,001$	7 (5; 8) $p_2 < 0,001$ $p_3 = 1$

Примечание: Me – медиана; Q1 и Q3 – квартили; n – объем выборки;  $p_1$  – значимость различий при сравнении между группами 1 и 2;  $p_2$  – значимость различий при сравнении между группами 1 и 3;  $p_3$  – различия между данными до лечения и через 12 месяцев после лечения в пределах одной группы.

в то время как в первой и второй группах клинический эффект ФДТ еще не был проявлен.

Во время третьего визита проводить оценку индекса LS-A в первой и второй группах не представлялось возможным ввиду наличия у пациенток активного процесса заживления тканей вульвы после ФДТ. В то же время в третьей группе наблюдался некоторый рост значения LS-A-индекса.

Нужно отметить, что у пациенток, которые получали антиоксидантную терапию, эпителизация некротизированных очагов крауроза проходила быстрее. В первой группе полное восстановление тканей вульвы после ФДТ насту-

пило в течение  $48 \pm 5$  дней, во второй – в течение  $54 \pm 3$  дней ( $p_1 < 0,001$ ).

Через 6 месяцев после лечения в первых двух группах было зафиксировано наименьшее значение индекса LS-A за все время данного исследования, при этом в первой группе показатель был статистически значимо ниже, чем во второй. В третьей группе к этому времени LS-A индекс практически достиг уровня, наблюдавшегося у пациенток до начала лазеротерапии.

Во время последнего, пятого визита в первой и второй группах отмечался небольшой рост индекса LS-A. В первой группе данный пока-

Визит Visit	Группа 1 Group 1 n = 30	Группа 2 Group 2 n = 30	Группа 3 Group 3 n = 30
До лечения Before treatment	12 (10; 14)	13 (11; 14) $p_1 = 0,295$	12 (11; 13) $p_2 = 0,397$
После лечения After treatment	12 (10; 14)	13 (11; 14) $p_1 = 0,295$	8 (7; 9) $p_2 < 0,001$
Через 1 месяц после лечения 1 month post treatment	-	-	9 (8; 10)
Через 6 месяцев после лечения 6 months post treatment	3 (0; 4)	5 (0; 6) $p_1 = 0,004$	11,5 (10; 13) $p_2 < 0,001$
Через 12 месяцев после лечения 12 months post treatment	4 (0; 4) $p_3 < 0,001$	6,5 (0; 7) $p_1 = 0,004$ $p_3 < 0,001$	12 (11; 13) $p_2 < 0,001$ $p_3 = 1$

Примечание: Me – медиана; Q1 и Q3 – квартили; n – объем выборки;  $p_1$  – значимость различий при сравнении между группами 1 и 2;  $p_2$  – значимость различий при сравнении между группами 1 и 3;  $p_3$  – различия между данными до лечения и через 12 месяцев после лечения в пределах одной группы.

Таблица 2.

Значение LS-S-индекса, Me (Q1; Q3).

Table 2.

Quantification of affected vulvar area (LS-S index), median and interquartile range.

Таблица 3.

Значение индекса активности кожного процесса LS-A, Me (Q1; Q3).

Table 3.

Quantification of disease activity (LS-A index), median and interquartile range.

затель был значимо ниже, чем во второй. В третьей группе к пятому визиту индекс LS-A вернулся к своим первоначальным значениям, которые наблюдались до начала лечения.

К моменту завершения исследования (12 месяцев наблюдения) полная клиническая ремиссия крауроза наблюдалась у 12 (40%) участниц исследования, получавших комбинированную фотодинамическую и антиоксидантную терапию с использованием этилметилгидроксипиридина сукцината. В группе, где пациентки проходили только ФДТ, полная клиническая ремиссия отмечалась у 9 (30%) женщин ( $F_1 = 3,222$ ;  $p_1 = 0,420$ ). Неполная клиническая ремиссия (отсутствие жалоб на зуд при сохранении очагов крауроза) была зафиксирована у 10 (33%) пациенток из первой группы и у 5 (17%) – из второй ( $F_1 = 5,8$ ;  $p_1 = 0,023$ ). Таким образом, ремиссия зуда вульвы в течение 12 месяцев была достигнута у 22 (73%) пациенток из первой группы и 14 (47%) – из второй ( $F_1 = 10,545$ ;  $p_1 = 0,042$ ).

Прочие пациентки из первой и второй групп, предъявлявшие к этому времени жалобы на зуд вульвы, оценивали свой зуд (согласно ВАШ) как менее интенсивный в сравнении с тем, каким он был до начала лечения, то есть по прошествии 12 месяцев у них также наблюдался положительный эффект от проведенной терапии.

В третьей группе частичный положительный эффект на течение крауроза (уменьшение интенсивности или исчезновение зуда вульвы) наблюдался не более чем в течение 5–7 месяцев после курса лазеротерапии.

В ходе исследования ФДТ зарекомендовала себя как более эффективный метод лечения

крауроза вульвы в сравнении с лазеротерапией. Антиоксидант, назначаемый после того, как фотодинамическая реакция произвела свой лечебный эффект в тканях, способен усиливать клиническую эффективность ФДТ за счет снижения интенсивности окислительных процессов и стабилизации клеточных мембран.

Использование антиоксиданта этилметилгидроксипиридина сукцината после ФДТ позволило улучшить результаты этого метода лечения, а именно:

- быстрее купировать зуд вульвы;
- ускорить эпителизацию вульвы после отторжения некротизированных тканей;
- получить ремиссию зуда вульвы в течение 12 месяцев у большего количества пациенток;
- дополнительно сократить распространенность и выраженность (активность кожного процесса) крауроза в тканях вульвы и промежности.

## Заключение

В данном исследовании было продемонстрировано, что метод лечения крауроза с использованием ФДТ и этилметилгидроксипиридина сукцината способен благоприятно влиять на течение данного заболевания.

Терапевтические стратегии с использованием экзогенных антиоксидантов могут быть действенным и доступным подходом к терапии крауроза, но для подтверждения этих результатов необходимы дополнительные исследования, в том числе масштабные и долгосрочные. Тем не менее, уже сегодня можно полагать, что ориентация на управление окислительным стрессом может быть перспективным направлением при краурозе вульвы.

## Литература:

1. Krapf JM, Mitchell L, Holton MA, Goldstein AT. Vulvar Lichen Sclerosus: Current Perspectives. *Int J Womens Health*. 2020;12:11-20. <http://doi.org/10.2147/IJWH.S191200>
2. Джангишиева Е.К., Уварова Е.В., Батырова З.К. Склерозирующий лихен вульвы: современный взгляд на клинические проявления, диагностику и методы лечения (аналитический обзор). *Репродуктивное здоровье детей и подростков*. 2018;4(3):34-50. <http://doi.org/10.24411/1816-2134-2018-13003>
3. Зароченцева Н.В., Джиджихия Л.К. Склероатрофический лихен вульвы: современный взгляд на проблему. *Российский вестник акушера-гинеколога*. 2018;18(6):41-50. <http://doi.org/10.17116/rossakush20181806141>
4. Lewis FM, Tarnall FM, Velangi SS, Bunker CB, Kumar A, Brackenbury F, Mohd Mustapa MF, Exton LS. British association of dermatologists guidelines for the management of lichen sclerosus 2018. *Br J Dermatol*. 2018;178(4):839-853. <http://doi.org/10.1111/bjd.16241>
5. Allegro A, Pioggia G, Tonassi A, Mussolino C, Gangemi S. Oxidative stress and Photodynamic therapy of skin cancers: mechanisms, challenges and promising developments. *Antioxidants*. 2020;9(5):448. <http://doi.org/10.3390/antiox9050448>
6. Li GT, Guo SZ, Liu YJ, Yang B. Alteration of T-cell subpopulations and lipid peroxidation in the blood of patients with vulvar non-neoplastic epithelial disorder. *Clinical and experimental obstetrics gynecology*. 2014;41(2):174-176. <http://doi.org/10.12891/ceog16132014>
7. Paulis G, Berardesca E. Lichen sclerosus: the role of oxidative stress in the pathogenesis of the disease and its possible transformation into carcinoma. *Research and Reports in Urology*. 2019;11:223-232. <http://doi.org/10.2147/RRU.S205184>
8. Sander CS, Ali I, Dean D, Thiele JJ, Wojnarowska F. Oxidative stress is implicated in the pathogenesis of lichen sclerosus. *Br J Dermatol*. 2004;151(3):627-635. <http://doi.org/10.1111/j.1365-2133.2004.06142>
9. Zannoni G, Faraglia B, Tarquini E, Camerini A, Vrijens K, Migaldi M, Cittadini A, Sgambato A. Expression of the CDK inhibitor p27<sup>kip1</sup> and oxidative DNA damage in non-neoplastic and neoplastic vulvar epithelial lesions. *Mod Pathol*. 2006;19:504-513. <http://doi.org/10.1038/modpathol.3800532>

10. Baek J, Lee MG. Oxidative stress and antioxidant strategies in dermatology. *Redox Report*. 2016;21(4):164-169. <http://doi.org/10.1179/1351000215Y.0000000015>
11. Pai VV, Shukla P, Kikkeri NN. Antioxidants in dermatology. *Indian Dermatol Online J*. 2014;5(2):210-214. <http://doi.org/10.4103/2229-5178.131127>
12. Чикин В.В., Смольяникова В.А., Прошутинская Д.В., Нефедова М.А. Оценка интенсивности зуда с помощью визуально-аналоговых шкал у больных атопическим дерматитом на фоне терапии ингибиторами кальциневрина. *Вестник Дерматологии и венерологии*. 2016;92(3):46-55. <http://doi.org/10.25208/0042-4609-2016-92-3-46-55>
13. Игнатовский А.В. Склероатрофический лишай у женщин: совершенствование методов объективной оценки клинических проявлений и терапии. *Фарматека*. 2015;26(8):33-38.

## References:

1. Krapf JM, Mitchell L, Holton MA, Goldstein AT. Vulvar Lichen Sclerosus: Current Perspectives. *Int J Womens Health*. 2020;12:11-20. <http://doi.org/10.2147/IJWH.S191200>
2. Dzhangishieva EK, Uvarova EV, Batyrova ZK. Lichen sclerosus: modern view on clinical manifestations, diagnosis and treatment methods (analytical review). *Pediatric and adolescent reproductive health*. 2018;4(3):34-50. (In Russ). <http://doi.org/10.24411/1816-2134-2018-13003>
3. Zarochentseva NV, Dzhidzhikhia LK. Lichen sclerosus et atrophicus: modern view on the problem. *Russian bulletin of obstetrician-gynecologist*. 2018;18(6):41-50. (In Russ). <http://doi.org/10.17116/rosakush20181806141>
4. Lewis FM, Tannal FM, Velangi SS, Bunker CB, Kumar A, Brackenbury F, Mohd Mustapa MF, Exton LS. British association of dermatologists guidelines for the management of lichen sclerosus 2018. *Br J Dermatol*. 2018;178(4):839-853. <http://doi.org/10.1111/bjd.16241>
5. Allegro A, Pioggia G, Tonassi A, Mussolino C, Gangemi S. Oxidative stress and Photodynamic therapy of skin cancers: mechanisms, challenges and promising developments. *Antioxidants*. 2020;9(5):448. <http://doi.org/10.3390/antiox9050448>
6. Li GT, Guo SZ, Liu YJ, Yang B. Alteration of T-cell subpopulations and lipid peroxidation in the blood of patients with vulvar non-neoplastic epithelial disorder. *Clinical and experimental obstetrics gynecology*. 2014;41(2):174-176. <http://doi.org/10.12891/ceog16132014>
7. Paulis G, Berardesca E. Lichen sclerosus: the role of oxidative stress in the pathogenesis of the disease and its possible transformation into carcinoma. *Research and Reports in Urology*. 2019;11:223-232. <http://doi.org/10.2147/RRU.S205184>
8. Sander CS, Ali I, Dean D, Thiele JJ, Wojnarowska F. Oxidative stress is implicated in the pathogenesis of lichen sclerosus. *Br J Dermatol*. 2004;151(3):627-635. <http://doi.org/10.1111/j.1365-2133.2004.06142>
9. Zannoni G, Faraglia B, Tarquini E, Camerini A, Vrijens K, Migaldi M, Cittadini A, Sgambato A. Expression of the CDK inhibitor p27kip1 and oxidative DNA damage in non-neoplastic and neoplastic vulvar epithelial lesions. *Mod Pathol*. 2006;19:504-513. <http://doi.org/10.1038/modpathol.3800532>
10. Baek J, Lee MG. Oxidative stress and antioxidant strategies in dermatology. *Redox Report*. 2016;21(4):164-169. <http://doi.org/10.1179/1351000215Y.0000000015>
11. Pai VV, Shukla P, Kikkeri NN. Antioxidants in dermatology. *Indian Dermatol Online J*. 2014;5(2):210-214. <http://doi.org/10.4103/2229-5178.131127>
12. Chikin VV, Smolyannikova VA, Proshutinskaya DV, Nefedova MA. Assessing the itching intensity using visual analogue scales in atopic dermatitis patients against the background of a therapy with calcineurin inhibitors. *Vestnik dermatologii i venerologii*. 2016;92(3):46-55. (In Russ). <http://doi.org/10.25208/0042-4609-2016-92-3-46-55>
13. Ignatovsky AV. Scleroatrophic lichen in women: improvement of methods for an objective assessment of clinical manifestations and therapy. *Farmateka*. 2015;26(8):33-38. (In Russ). <https://dx.doi.org/10.18565/pharmateka.2019.8.33-38>

## Сведения об авторах

**Киселева Екатерина Александровна**, ассистент кафедры акушерства и гинекологии ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (634050, Россия, г. Томск, Московский тракт, д. 2).

**Вклад в статью:** обзор публикаций по теме статьи, разработка дизайна исследования, получение и анализ данных, написание текста рукописи.

**ORCID:** 0000-0003-1129-6639

**Махмутходжаев Алишер Шавкатович**, доктор медицинских наук, профессор кафедры акушерства и гинекологии ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (634050, Россия, г. Томск, Московский тракт, д. 2).

**Вклад в статью:** разработка дизайна исследования, анализ данных, написание текста рукописи.

**ORCID:** 0000-0002-7541-0317

**Михеенко Галина Александровна**, доктор медицинских наук, профессор кафедры акушерства и гинекологии ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (634050, Россия, г. Томск, Московский тракт, д. 2).

**Вклад в статью:** анализ данных, написание текста рукописи.

**ORCID:** 0000-0002-3869-1906

## Authors

**Dr. Ekaterina A. Kiseleva**, MD, Assistant Professor, Department of Obstetrics and Gynecology, Siberian State Medical University (2, Moskovsky trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation).

**Contribution:** performed literature search and analysis; conceived and designed the study; performed the data analysis; wrote the manuscript.

**ORCID:** 0000-0003-1129-6639

**Prof. Alisher Sh. Makhmutkhodzhaev**, MD, DSc, Professor, Department of Obstetrics and Gynecology, Siberian State Medical University (2, Moskovsky trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation).

**Contribution:** conceived and designed the study; performed the data analysis; wrote the manuscript.

**ORCID:** 0000-0002-7541-0317

**Prof. Galina A. Mikheenko**, MD, DSc, Professor, Department of Obstetrics and Gynecology, Siberian State Medical University (2, Moskovsky trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation).

**Contribution:** performed the data analysis; wrote the manuscript.

**ORCID:** 0000-0002-3869-1906

Статья поступила: 14.06.2022 г.

Принята в печать: 31.08.2022 г.

Контент доступен под лицензией CC BY 4.0.

Received: 14.06.2022

Accepted: 31.08.2022

Creative Commons Attribution CC BY 4.0.

УДК 578.81:615.015.8-08

<https://doi.org/10.23946/2500-0764-2022-7-3-54-63>

# СОЗДАНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИ МОДИФИЦИРОВАННЫХ БАКТЕРИОФАГОВ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ИНФЕКЦИЙ, ВЫЗВАННЫХ ПОЛИРЕЗИСТЕНТНЫМИ БАКТЕРИЯМИ (ОБЗОР)

БАГАНДОВА К.М.\*<sup>1</sup>, ЗУЛЬКАРНЕЕВ Э.Р.<sup>2</sup>, КИСЕЛЕВА И.А.<sup>1</sup>, МИЗАЕВА Т.Э.<sup>1</sup>, ВОРОБЬЕВ А.М.<sup>1</sup>, ЕФИМОВА О.Г.<sup>1</sup>, МЕДВЕДОВСКАЯ М.П.<sup>1</sup>, ПАСИВКИНА М.А.<sup>1</sup>, АЛЕШКИН А.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФБУН «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им Г. Н. Габричевского» Роспотребнадзора, г. Москва, Россия

<sup>2</sup>ФКУЗ «Противочумный центр» Роспотребнадзора, г. Москва, Россия

## Резюме

Антибиотикорезистентность является актуальной проблемой современной медицины в связи с распространением штаммов микроорганизмов с множественной лекарственной устойчивостью. До сих пор продолжается поиск альтернативных способов лечения инфекционных заболеваний, вызванных бактериями. Один из таких подходов, вызывающий значительный интерес, – фаготерапия, в которой бактериофаги используются в качестве действующего вещества. Фаги являются селективными агентами, проявляющими литическую активность в отношении конкретных бактериальных штаммов, в отличие от антибиотиков, большинство из которых обладает широким спектром действия. Выделение природного фага – многоэтапный, кропотливый и трудоемкий процесс, при этом физиология полученных фагов часто плохо изучена, что может приводить к различным несоответствиям на протяжении производства и создания продукта несоответствующего качества. Разработка биотехнологических методов позволяет в настоящее время расширить возможности фаговой терапии за счёт создания биоинженерных бактериофагов. Проведенные исследования по использованию таких фагов в лечении инфекций, вызванных бактериями с множественной устойчивостью к лекарственным препаратам, показали, что фаговая терапия может быть эффективной и как альтернатива, и как дополнение при антибиотикотерапии.

Преимущество генномодифицированных фагов – это, в первую очередь, возможность получе-

ния бактериофагов с измененным, расширенным спектром литической активности. Примененные модификации позволят разработать фаги, нацеленные на гены антибиотикорезистентности, такие как эфлюксные насосы; для использования в сочетании с антибиотиками для усиления бактерицидной активности; а также фаги, обладающие низкой иммуногенностью (путем нахождения мутаций и модификаций, уменьшающих либо скорость элиминации фагов при участии ретикулоэндотелиальной системы, либо объем бактериального лизиса).

Создание различных вариантов бактериофагов с уникальными характеристиками даст возможность преодолеть имеющиеся недостатки, которыми обладают природные бактериофаги, для активного внедрения их в профилактику и терапию бактериальных заболеваний. Приведены описания проводимых в мире исследований в области разработки и получения бактериофагов с модифицированными свойствами. Показана эффективность данного подхода для лечения инфекций, вызванных полирезистентными возбудителями, а также перспективность дальнейшей работы в этом направлении.

**Ключевые слова:** бактериофаги, генетическая инженерия, антибиотикорезистентность

## Конфликт интересов

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

## Источник финансирования

Собственные средства

## Для цитирования:

Багандова К.М., Зулкарнеев Э.Р., Киселева И.А., Мизаева Т.Э., Воробьев А.М., Ефимова О.Г., Медведовская М.П., Пасивкина М.А., Алешкин А.В. Создание генетически модифицированных бактериофагов для лечения инфекций, вызванных полирезистентными бактериями (Обзор). *Фундаментальная и клиническая медицина*. 2022;7(3): 54-63. <https://doi.org/10.23946/2500-0764-2022-7-3-54-63>

## \*Корреспонденцию адресовать:

Багандова Калимат Магомедовна, 125212, Россия, г. Москва, ул. Адмирала Макарова, д. 10, E-mail: kallybagandova@mail.ru  
© Багандова К.М. и др.

## REVIEW ARTICLES

# GENETICALLY MODIFIED BACTERIOPHAGES CREATING FOR THE TREATMENT OF INFECTIONS CAUSED BY MULTI-DRUG RESISTANT BACTERIA (REVIEW)

KALIMAT M. BAGANDOVA<sup>1\*</sup>, ELДАР R. ZULKARNEEV<sup>2</sup>, TOITA E. MIZAEVA<sup>1</sup>, ALEXEY M. VOROBYOV<sup>1</sup>, OLGA G. EFIMOVA<sup>1</sup>, MARIA P. MEDVEDOVSKAYA<sup>1</sup>, MARIA A. PASIVKINA<sup>1</sup>, ANDREY V. ALESHKIN<sup>1</sup>

<sup>1</sup>G. N. Gabrichevsky Moscow Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russian Federation

<sup>2</sup>Anti-Plaque Center, Moscow, Russian Federation

## Abstract

Antibiotic resistance represents an urgent and unresolved issue due to a rapid spread of multi-drug-resistance organisms (MDROs). An alternative approach is the medical use of bacteriophages which have selective and lytic activity against specific bacterial strains, in contrast to broad-spectrum antibiotics. Isolation of bacteriophages is a multi-step, tedious, and labour-intensive technique, and physiology of various bacteriophages has been vaguely studied. These drawbacks hamper the flow production of bacteriophage preparations and require a stringent quality control. Here, we review the existing literature on genetically modified bacteriophages, in particular studies which examined efficacy of such bacteriophages for the treatment of multidrug-resistant infections. Genetically modified bacteriophages showed high efficiency in patients with multi-

drug-resistant infections applied either as a main treatment modality or as an adjuvant therapy added to the antibiotic treatment protocols. The key advantage of genetically modified bacteriophages is broader and higher lytic activity, as they can target antibiotic resistance genes such as efflux pumps, and low immunogenicity which delays their elimination by immune cells. We propose that genetically modified bacteriophages are able to overcome the shortcomings of natural bacteriophages and can be implemented for the prevention and treatment of bacterial infections, in particular those caused by MDROs.

**Keywords:** bacteriophages, genetic engineering, antibiotic resistance

### Conflict of Interest

None declared.

### Funding

There was no funding for this project.

◀ English

### For citation:

Kalimat M. Bagandova, Eldar R. Zulkarneev, Irina A. Kiseleva, Toita E. Mizaeva, Alexey M. Vorobev, Olga G. Efimova, Maria P. Medvedovskaya, Maria A. Pasivkina, Andrei V. Aleshkin. Genetically modified bacteriophages creating for the treatment of infections caused by multidrug resistant bacteria (review). *Fundamental and Clinical Medicine*. (In Russ.).2022;7(3): 54-63. <https://doi.org/10.23946/2500-0764-2022-7-3-54-63>

### \*Corresponding author:

Kalimat M. Bagandova, 10, Admirala Makarova Street, Moscow, 121255, Russian Federation, E-mail: kallybagandova@mail.ru  
© Kalimat M. Bagandova, et al.

Существующие методы генетической инженерии, используемые в создании синтетических бактериофагов, такие как гомологичная рекомбинация; рекомбинирование (рекомбинация) бактериофагов при помощи введения фаговой ДНК путем электропорации; CRISPR-Cas связанная геномная модификация; создание и пересборка фагового генома in Vitro; полногеномный синтез и сборка с помощью подобранных нуклеотидов; создание фаговых геномов с использованием дрожжей; бесклеточные системы транскрипции – трансляции [1, 2, 3, 4, 5] позволили получить положительные результаты в

создании генетически модифицированных бактериофагов, активных в отношении *Streptococcus thermophiles* [6], *Escherichia coli* [7], *Listeria monocytogenes* [8], *Listeria ivanovii* [9], *Klebsiella pneumoniae*, *Yersinia pseudotuberculosis* [10], *Bacillus subtilis* (Schilling et al), *Streptococcus thermophiles* [11], *Lactococcus lactis* [12], *Mycobacterium abscessus* [13]. Однако понимание механизма взаимодействия бактериофага с бактериальной клеткой-хозяином и различных механизмов защиты бактерий остается ключевой задачей в создании бактериофагов, способных преодолевать данный барьер.

Известными на данный момент механизмами защиты бактерий от инфицирования являются: система рестрикции-модификации, позволяющая модифицировать бактериальный геном и разрушать чужеродную ДНК; изменение рецепторов на поверхности оболочки клетки, предотвращающих адсорбцию фага; abortивная инфекция (Abi)- система, которая запускает гибель клетки или остановку метаболизма; CRISPR-Cas система, запоминающая генетический материал вируса, что предотвращает возможность инфекции в будущем; бактериофаговая элиминация, которая позволяет фагу адсорбироваться на клетке, но блокирует ДНК-репликацию.

Эволюция взаимодействия бактериофагов и бактерий развила и продолжает развивать у последних эффективные системы устойчивости, которые защищают бактерии от инфицирования фагами. Подробное изучение механизма адсорбции бактериофага, анализ имеющихся рецепторов на поверхности бактериальной клетки и создание технологий получения инженерных фагов позволит достичь эффективности в лечении пациентов с острым бактериальным инфицированием.

С помощью методов генной инженерии можно получить мутантные фаги с необходимыми характеристиками. Диапазон штаммов-хозяев у различных фагов значительно различается, и найти оптимальную комбинацию природных фагов является сложной задачей. Создание инженерных фагов для перепрограммирования спектра хозяев устраняют это ограничение [14].

Естественная эволюция позволяет изменять спектр хозяев бактериофагов, но отсутствие контроля над тем, где именно происходят мутации, может помешать пониманию структурно-функционального анализа. Поиск и выделение бактериофагов с подходящей специфичностью к хозяину остается сложной задачей. Случайная мутация и рекомбинация между фагами или «протокол Аппельмана» (Appelmans) включает циклическую смену коктейля фагов с группой чувствительных и устойчивых бактерий до тех пор, пока не появится рекомбинантный фаг, лизирующий устойчивые штаммы. Данный подход позволил получить бактериофаг, активный в отношении десяти штаммов *Pseudomonas aeruginosa*, используя изначально два маточных фага, инфицирующих только один или два штамма бактерии. Данная методика включает в себя получение более 30 после-

довательных генераций, вследствие которых возникают не менее 48 случаев рекомбинации и одна точечная мутация между маточными фагами [15].

Таким образом, разработка целевых и высокопроизводительных методов для быстрого расширения определенного спектра и преодоления устойчивости бактерий может проложить путь к разработке фагов следующего поколения [16]. Несколько исследований, посвященных разным фагам, подтвердили общепринятый в настоящее время принцип, согласно которому RBP является основным фактором, определяющим специфичность хозяйского штамма фага.

Duplessis и Moineau были одними из первых исследователей, которые применили гомологичную рекомбинацию для замены *orf18* фага DT1 соответствующим участком *orf18* сифовируса MD4. В результате образовался химерный фаг с узким хозяйским спектром по отношению к *Streptococcus thermophiles*, соответствующий спектру фага MD4. Рекомбинантные сайты в пяти созданных химерных фагах были различными для каждого фага, но С-терминальный участок ORF18 был определен в качестве рецептор-связывающего и, как следствие, детерминантом хозяина [6].

В работе Kevin Yehl et al. проведен направленный мутагенез четко определенных участков в хвостовой фибрилле фага T3, которые необходимы для распознавания хозяев, таким образом увеличивая пространство последовательностей, экранированных в этих ключевых локусах. Этот подход аналогичен строению антител, разнообразие которых определяется специфичностью эпитоп-связывающих областей антигена. Подобно волокнам фагового хвоста, антитела обладают высокой селективностью к своему целевому антигену [17, 18]. Область распознавания эпитопа расположена на поверхности антител и образована легкой и тяжелой цепями и, в частности, тремя гипервариабельными участками, определяющими комплементарность антитела к антигену (complementarity-determining regions CDR). Мутации в этих областях изменяют специфичность антител [19,20]. Хвостовые волокна фага T7 также имеют CDR-подобные участки на кончике хвостового волокна, что позволяет манипулировать специфичностью фага к клеткам штамма-хозяина посредством изменений в этих небольших регионах. Был проведен направлен-

ный мутагенез участков хвостового волокна, которые определяют возможный диапазон хозяев (HRDR host-range-determining regions) фага T3. HRDR участки образованы петлями BC, DE, FG и HI, длина которых варьируется от 4 до 9 аминокислотных остатков. Мутации в этих участках практически не сказываются на структуре белка, но существенно влияют на взаимодействие бактерий. В проводимом исследовании ген фибриллы клонировали в плазмиду и амплифицировали с применением вырожденных праймеров, чтобы создать мутантные версии гена. Была использована подготовленная библиотека плазмид для трансформации бактерий, которые затем инфицировали фагом T3. В результате данной работы были получены библиотеки фагов с рандомизированными мутациями в петлях за счет рекомбинации с плазмидой. Последующий скрининг библиотек фаговых тел на бактериальных мутантах  $\Delta waaG$  и  $\Delta waaC$ , которые обладают резистентностью к T3, показал, что мутагенез отдельных петель расширяет спектр фагов-хозяев. Каждая библиотека, в которой была изменена петля HI, вырабатывала фаговые антитела против каждой мутантной культуры  $\Delta waaG$  и  $\Delta waaC$ . Тем не менее, фаговые тела для мутагенизированных петель DE и FG в редких случаях демонстрировали активность по отношению  $\Delta waaG$  и  $\Delta waaC$ . Примерно половина библиотек, нацеленных на всю или отдельные части BC петли, вырабатывали фаговые тела, активные в отношении  $\Delta waaG$  или  $\Delta waaC$ . Эффективность инженерных бактериофагов была подтверждена на мышиной модели раневой инфекции [16].

Matthew Dunne с соавторами провели работу по адаптации фага к листерии через вариации RBP. Структурно-направленная разработка химерного RBP позволяет получить фаг с предсказуемым диапазоном хозяев. Авторы данной работы идентифицировали RBP Gp15 фага PSA *Listeria monocytogenes* и сконструировали фаговую библиотеку, содержащую различные по последовательности RBP, из которых выделили мутанты и интегрировали в синтетический поливалентный фаг с расширенным диапазоном хозяев. Штаммы листерии избегают фагового инфицирования, модифицируя тейховые кислоты клеточной стенки гликозилированием соответствующих участков вместо использования внутриклеточных механизмов [21]. Были получены гликозилированные мутанты, дефектные по глюкозе (WSLC1042 gltB),

галактозе (WSLC1042 gttA), и мутант с недостатком обоих компонентов (WSLC1042\_a511-BIM) (Sumrall, 2019). Было обнаружено, что RBP связывание строго зависит от наличия галактозы, таким образом, определили галактозилированный участок GlcNAc, являющийся рецептором для RBP фага, а также способствующий адсорбции и образованию бляшек. Созданная таким образом синтетическая фаговая библиотека включала рандомизированные по последовательности RBP, которые были выделены из каждого мутанта культуры - хозяина и затем интегрированы в синтетический поливалентный фаг с расширенным диапазоном хозяев. Структурно-ориентированная модификация позволяет обмениваться гетерологичными доменами головки, шеи или плеч RBP с образованием химерных фагов с ожидаемым расширенным диапазоном хозяев. Данное исследование позволило создать методику, которая может способствовать развитию биопрепаратов на основе стандартизированных вирусных каркасов с настраиваемой специфичностью к клеткам хозяина [8].

Наиболее усовершенствованным подходом разработки RBP является высокопроизводительная платформа фагового генома, основанная на клонировании с заполнением бреши (gap-repair cloning) в дрожжах, представленной в своем исследовании Ando с соавторами [10]. Ампликоны ПЦР, покрывающие геном фага и имеющие перекрывающиеся концы, совместно электропорировать в клетки дрожжей с лиnearизованным вектором YAC (yeast artificial chromosome). Высокоэффективная система гомологичной рекомбинации в дрожжах сшивает все фрагменты вместе путем клонирования с восстановлением бреши. ДНК изолированного YAC-фага, несущая интактный геном, впоследствии используется для трансформации высококомпетентных клеток *E. Coli* для перезагрузки в частицы инфекционного фага. Такой подход позволяет осуществлять точный обмен генетическими фрагментами на основе коллекции ампликонов, используемых для трансформации. Данная платформа с использованием клеток дрожжей позволяет достичь определенного диапазона хозяев путем замены участков и целых хвостовых волокон в вирусную матрицу (скаффолд). Таким образом, фаги могут быть получены для точного редактирования микробной популяции. Исследование проводили на T7-подобных фагах (включающих *E.coli*

фаги T7, T3 и *Klebsiella pneumoniae* фаг K11), так как эти фаги в значительной степени независимы от метаболизма хозяина, что позволяет перезагрузить некодирующие фаги с помощью клеточного аппарата *E.coli*. Разнообразные вариации синтетических фагов, имеющие T3 и T7 матрицу с геном gp17 хвостового волокна, который был заменен на соответствующий ген другого фага, показал предполагаемый обмен хозяйским диапазоном. При изучении химерных хвостовых волокон, содержащих N-концевой якорный домен, для присоединения к капсиду и C-терминальный рецептор-связывающий участок T3 и T7, наблюдалась строгая зависимость диапазона хозяев от различных C-концевых доменов, в то время как высоко консервативный N-концевой участок T3 и T7 являлся взаимозаменяемым. Более того, синтетический фаг T3, содержащий матрицу T3 с хвостовым волокном фага R, штамм-хозяин которого *Yersinia pseudotuberculosis*, был сконструирован путем введения трех мутаций в гене gp17 фага. Полученный фаг обладал активностью по отношению к определенному спектру хозяев, сходным с таковым у фага R. Авторам также удалось создать модифицированные фаги путем обмена хвостовых волокон между более отдаленными фагами. Был получен функциональный синтетический фаг T7 с волокном хвоста фага T11, активный в отношении *K.pneumoniae*, но не на *E.coli*. Более того, был получен фаг K11 с T7 хвостовым волокном путем замены всех трех хвостовых генов 11, 12 и 17 на соответствующие гены другого фага, нацеленного на *E.coli*, но не на *K.pneumoniae*. Таким образом, используя сборочную платформу, основанную на дрожжах, все генетические модификации, которые расположены в разных участках генома, выполняются в одной реакции. Тем не менее, стоит отметить, что обмен белками хвостового волокна, используя данную платформу, можно производить только между фагами с известным и хорошо охарактеризованным геномом [10].

Поскольку бактерии в природе обитают главным образом в мультивидовых сообществах [23], бактериофаги могут сталкиваться с гетерогенными популяциями, клетки которых как устойчивы (R), так и чувствительны (S) к фагам. В исследовании Elhanan Tzipilevich с соавторами демонстрируется, что клетки резистентной (R) *Bacillus subtilis*, лишённые рецептора к фагу SPP1, могут лизироваться при совместном культивировании с клетками, чувствительными

(S) к фагу. Частичный лизис был вызван фаговыми литическими ферментами, высвободившимися из соседних инфицированных клеток. Было обнаружено, что в R-клетки, лишённые SPP1 рецептора, могут проникать фаги при совместном культивировании с S-клетками. Данный процесс также наблюдался для литических фагов phi29 и SPO1. Инвазия фагов в R-клетки была опосредована, по крайней мере, частично, молекулами прикрепления фагов, доставленными из S в R-клетки, временно превращая R в "S"-клетки. Этот феномен был назван «приобретение чувствительности» (ASEN – acquisition of sensitivity). Обмен фаговыми рецепторами может происходить межвидовым образом, облегчая тем самым прикрепление фагов к клеткам бактерий, не являющимся их хозяевами [24].

Система CRISPR/Cas9 – универсальный инструмент генной инженерии, используемый биологами с определенной целью: для внесения одноцепочечных или двухцепочечных разрывов ДНК в интересующие участки генома. Clustered Regularly interspaced short palindromic repeats (CRISPR)/Cas или «сгруппированные короткие палиндромные повторы, разделенные промежутками, и ассоциированная с ними система» [25] была открыта в конце прошлого века как система адаптивного приобретенного иммунитета бактерий и архей, направленная на уничтожение проникшей в клетку чужеродной ДНК, например, фагов или плазмид [26, 27].

CRISPR/Cas система впервые была применена для редактирования фагового генома в 2014 году для отбора мутанта T7 с делецией гена 1.7 [28]. В этой работе CRISPR/Cas система была использована в качестве скрининга для удаления фагов дикого типа (WT) из рекомбинантов. Разработанная плаزمид, нацеленная на ген 1.7, разрывала геном WT и удаляла дикий тип фагов T7. В противоположность этому, мутантные фаги с отсутствующим геном 1.7 являлись резистентными к Cas9 комплексу и функционировали нормально [28]. Позднее была определена (идентифицирована) CRISPR/Cas система I типа бактерии *Vibrio cholera* и использована для конструирования литического фага культуры [28]. В этой системе как донорная ДНК, так и компоненты системы CRISPR-Cas были собраны в одну плазмиду. Данная плаزمид приводила к разрыву генома фага CRISPR/Cas системой, который был восстановлен гомологичной рекомбинацией с помощью ДНК донора,

что позволило получить рекомбинантные фаги с делецией или вставкой (Box, 2016). Несмотря на то, что впервые CRISPR-Cas система II типа для перепрограммирования фага была описана для клеток *Streptococcus thermophiles* [30], CRISPR/Cas *Streptococcus pyogenes* используется намного чаще для конструирования генома фага [31, 32, 33, 34]). Нуклеаза SpCas9, в отличие от нуклеаз других CRISPR-семейств, не требует дополнительных белков-кофакторов для связывания и разрезания ДНК. В естественных условиях для активации Cas9-нуклеазы необходимы две РНК: CRISPR-ассоциированная РНК (сrRNA), происходящая из геномного локуса, хранящего фрагменты вирусных последовательностей; а также транс-активирующая РНК (tracrRNA), которая действует как каркас, связывающий сrRNA с Cas9 и облегчает процессинг зрелых сrРНК из пре-сrРНК. Однако для целей генной инженерии две РНК объединены в составе одной химерной молекулы sgRNA (single guide RNA). Плазмида для редактирования должна содержать рекомбинантный участок (матрицу) с желаемой мутацией, которая предотвращает влияние системы CRISPR-Cas, а также гомологичные участки конструируемого фагового генома [35, 36]. Martel и Moineau использовали эндогенную систему CRISPR/Cas II типа у *Streptococcus thermophiles* и получили точечные мутации, делеции и обмен генами в фаге 2972 *S.thermophiles*. С этой целью они использовали плазмиду с системой CRISPR с нуклеазной активностью по отношению к геному фагов дикого типа [30].

Описан ряд исследований, в которых удалось успешно перенести систему CRISPR/Cas *Streptococcus pyogenes* в *Lactococcus lactis* [31], *E.coli* [32], *Klebsiella pneumoniae* [34], и *Bacillus subtilis* [33] и использовать их как гетерологичную систему для модификации фагов соответствующих штаммов-хозяев. Помимо использования ранее охарактеризованных систем II А типа, Hupfeld с соавторами была найдена новая CRISPR/Cas система *Listeria ivanovii* (подвид *londoniensis* WSLC 30167), которая затем была адаптирована и использована в генной инженерии крупных, неинтегрирующих фагов в *L. Monocytogenes*. Была создана (сконструирована) LivCRISPR-1 программируемая, специфичная в последовательности нуклеазная система, которая может быть передана другим видам рода *Listeria*. LivCRISPR-1 генома *L. Ivanovii* подвида *londoniensis* относится ко II А

типу. Комплекс LivCRISPR-1 Cas9 и сrRNA были встроены в *Listeria monocytogenes*. Полученные мутанты с делецией гена LivCRISPR-1 cas были восприимчивы к фагу B054, при этом они оставались нечувствительными к фагам B025, B035 и B056, которые связываются с клетками WSLC 30167 [9]. Таким образом, программируемость CRISPR/Cas облегчает создание организмов с направленными генными мутациями, встройками генов и крупными хромосомными перестройками.

Методика рекомбинирования бактериофагов при помощи введения фаговой ДНК путем электропорации используется для простого и эффективного конструирования целевых мутантов. Суть методики заключается в совместной электропорации рекомбинируемых субстратов, т. е. ДНК фага и двухцепочечной ДНК (дцДНК), в электрокомпетентные бактериальные клетки, несущие плазмиды с генами белков, обеспечивающих высокий уровень гомологичной рекомбинации, таких как RecE/RecT-подобные белки [37]. Данная стратегия позволяет добиться немаркированных делеций как существенных (основных), так и несущественных генов, делеций внутри рамки считывания, точечных мутаций и нонсенс (бессмысленных) - мутаций, добавление меток и определенной (точной) вставки чужеродного гена [38]. Субстратная дцДНК несет фрагмент ДНК, который необходимо вставить, и гомологичные участки к локусам выше и ниже участка генома фага, который необходимо изменить [38, 39]. После электропорации бактериальные клетки выделяют, смешивают с клетками дикого типа и высевают на чашках Петри. Затем чашки просматриваются на наличие негативных колоний фага, определяемых по лизису бактерий. Образовавшиеся бляшки содержат смесь фагов как дикого, так и мутантного типа. Отдельные колонии анализируют на наличие искомой мутации фагового генома при помощи ПЦР. При использовании этой методики удается получить большую долю (10–15%) успешно модифицированных бактериофагов, что позволяет отбирать необходимые мутантные фаги небольшим числом ПЦР без проведения дальнейшего отбора [38]. Эта технология требует наличия высококомпетентных бактериальных клеток. Впервые этот метод был разработан для микобактериофагов и позднее был адаптирован для большинства различных фагов для внесения делеций, замен и вставок [38, 40].

Используя данную стратегию, Rebekah M. Dedrick с соавторами разработали литическое производное фага ZoE1 с отсутствующим репрессором гена, который проявил эффективность в отношении штамма *Mycobacterium abscessus* [41]. Пятнадцатилетний пациент с трансплантацией легкого, зараженный устойчивым к антибиотикам *M. Abscessus*, получал коктейль фагов, включающий в себя бактериофаг с удаленным репрессором. Результатом терапии стало скорое восстановление состояния пациента. Тем не менее, не исключается вероятность того, что пациент пошел бы на поправку и без терапии фаговым коктейлем. Однако было отмечено, что пациенты с подобной клинической картиной зачастую имеют высокую заболеваемость и смертность и улучшение состояния не связано с прекращением или началом приема других препаратов, тем самым подтверждая доказательство репликации фага *in vivo* [13].

## Заключение

В настоящее время активное использование различных методик генетической инженерии,

позволяющих получить модифицированные бактериофаги с измененным, расширенным спектром литической активности позволило создать фаги к таким бактериальным штаммам, как *Streptococcus thermophiles*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Listeria ivanovii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Yersinia pseudotuberculosis*, *Bacillus subtilis*, *Streptococcus thermophiles*, *Lactococcus lactis*, *Mycobacterium abscessus*.

Тем не менее, нет отработанных методик получения рекомбинантных бактериофагов, активных в отношении *Acinetobacter* и *Pseudomonas*, которые являются главными нозокомиальными (внутрибольничными) патогенами во всем мире и обладают резистентностью к ряду антибактериальных химиопрепаратов. Возможность создания фагов не только с измененным, но и с расширенным спектром позволит разработать бактериофаги, которые будут проявлять литическую активность в отношении бактерий одного вида и порядка, что может стать основной альтернативой в лечении бактериальных инфекций антибиотиками.

## Литература:

- Bikard D, Euler CW, Jiang W, Nussenzweig PM, Goldberg GW, Dupontet X, Fischetti VA, Marraffini LA. Exploiting CRISPR-Cas nucleases to produce sequence-specific antimicrobials. *Nat Biotechnol.* 2014;32(11):1146-1150. <http://doi.org/10.1038/nbt.3043>
- Kutateladze M, Adamia R. Bacteriophages as potential new therapeutics to replace or supplement antibiotics. *Trends Biotechnol.* 2010;28(12):591-595. <http://doi.org/10.1016/j.tibtech.2010.08.001>
- Kter EM, De Vos D, Gvasalia G, Alavidze Z, Gogokhia L, Kuhl S, Abedon ST. Phage therapy in clinical practice: treatment of human infections. *Curr Pharm Biotechnol.* 2010;11(1):69-86. <http://doi.org/10.2174/138920110790725401>
- Kutter EM., Kuhl SJ, Abedon ST. Re-establishing a place for phage therapy in western medicine. *Future Microbiol.* 2015;10(5):685-688. <http://doi.org/10.2217/fmb.15.28>
- Lu TK, Collins JJ. Engineered bacteriophage targeting gene networks as adjuvants for antibiotic therapy. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2009;106(12):4629-4634. <http://doi.org/10.1073/pnas.0800442106>
- Duplessis M, Moineau S. Identification of a genetic determinant responsible for host specificity in *Streptococcus thermophilus* bacteriophages. *Mol Microbiol.* 2001;41(2):325-336. <http://doi.org/10.1046/j.1365-2958.2001.02521.x>
- Yehl K, Lemire S, Yang AC, Ando H, Mimeo M, Torres MT, de la Fuente-Nunez C, Lu TK. Engineering Phage Host-Range and Suppressing Bacterial Resistance through Phage Tail Fiber Mutagenesis. *Cell.* 2019;179(2):459-469.e9. <http://doi.org/10.1016/j.cell.2019.09.015>
- Dunne M, Rupf B, Tala M, Qabrati X, Ernst P, Shen Y, Sumrall E, Heeb L, Plückthun A, Loessner MJ, Kilcher S. Reprogramming Bacteriophage Host Range through Structure-Guided Design of Chimeric Receptor Binding Proteins. *Cell Rep.* 2019;29(5):1336-1350.e4. <http://doi.org/10.1016/j.celrep.2019.09.062>
- Hupfeld M, Trasanidou D, Ramazzini L, Klumpp J, Loessner MJ, Kilcher S. A functional type II-A CRISPR-Cas system from *Listeria* enables efficient genome editing of large non-integrating bacteriophage. *Nucleic Acids Res.* 2018;46(13):6920-6933. <http://doi.org/10.1093/nar/gky544>
- Ando H, Lemire S, Pires DP, Lu TK. Engineering Modular Viral Scaffolds for Targeted Bacterial Population Editing. *Cell Syst.* 2015;1(3):187-196. <http://doi.org/10.1016/j.cels.2015.08.013>
- Martel B, Moineau S. CRISPR-Cas: an efficient tool for genome engineering of virulent bacteriophages. *Nucleic Acids Res.* 2014;42(14):9504-9513. <http://doi.org/10.1093/nar/gku628>
- Lemay ML, Tremblay DM, Moineau S. Genome Engineering of Virulent Lactococcal Phages Using CRISPR-Cas9. *ACS Synth Biol.* 2017;6(7):1351-1358. <http://doi.org/10.1021/acssynbio.6b00388>
- Dedrick RM, Guerrero-Bustamante CA, Garlena RA, Russell DA, Ford K, Harris K, Gilmour KC, Soothill J, Jacobs-Sera D, Schooley RT, Hatfull GF, Spencer H. Engineered bacteriophages for treatment of a patient with a disseminated drug-resistant *Mycobacterium abscessus*. *Nat Med.* 2019;25(5):730-733. <http://doi.org/10.1038/s41591-019-0437-z>
- Huss P, Raman S. Engineered bacteriophages as programmable biocontrol agents. *Curr Opin Biotechnol.* 2020;61:116-121. <http://doi.org/10.1016/j.copbio.2019.11.013>
- Burrows BH, Molineux IJ, Fralick JA. Directed in Vitro Evolution of Therapeutic Bacteriophages: The Appelmans Protocol. *Viruses.* 2019;11(3):241. <http://doi.org/10.3390/v11030241>
- Yehl K, Lemire S, Yang AC, Ando H, Mimeo M, Torres MT, de la Fuente-Nunez C, Lu TK. Engineering Phage Host-Range and Suppressing Bacterial Resistance through Phage Tail Fiber Mutagenesis. *Cell.* 2019;179(2):459-469.e9. <http://doi.org/10.1016/j.cell.2019.09.015>
- Beck A, Wurch T, Bailly C, Corvaia N. Strategies and challenges for the next generation of therapeutic antibodies. *Nat Rev Immunol.* 2010;10(5):345-352. <http://doi.org/10.1038/nri2747>
- Foltz IN, Karow M, Wasserman SM. Evolution and emergence of therapeutic monoclonal antibodies: what cardiologists need to know. *Circulation.* 2013;127(22):2222-2230. <http://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.113.002033>
- Ducancel F, Muller BH. Molecular engineering of antibodies for therapeutic and diagnostic purposes. *MAbs.* 2012;4(4):445-457. <http://doi.org/10.4161/mabs.20776>
- Igawa T, Tsunoda H, Kuramochi T, Sampei Z, Ishii S, Hattori K. Engineering the variable region of therapeutic IgG antibodies. *MAbs.* 2011;3(3):243-252. <http://doi.org/10.4161/mabs.3.3.15234>
- Eugster MR, Morax LS, Hüls VJ, Huwiler SG, Leclercq A, Lecuit M,

- Loessner MJ. Bacteriophage predation promotes serovar diversification in *Listeria monocytogenes*. *Mol Microbiol.* 2015;97(1):33-46. <http://doi.org/10.1111/mmi.13009>
22. Sumrall ET, Shen Y, Keller AP, Rismondo J, Pavlou M, Eugster MR, Boulos S, Disson O, Thouvenot P, Kilcher S, Wollscheid B, Cabanes D, Lecuit M, Gründling A, Loessner MJ. Phage resistance at the cost of virulence: *Listeria monocytogenes* serovar 4b requires galactosylated teichoic acids for InIB-mediated invasion. *PLoS Pathog.* 2019;15(10):e1008032. <http://doi.org/10.1371/journal.ppat.1008032>
  23. Kolenbrander PE, Palmer RJ Jr, Periasamy S, Jakubovics NS. Oral multispecies biofilm development and the key role of cell-cell distance. *Nat Rev Microbiol.* 2010;8(7):471-480. <http://doi.org/10.1038/nrmicro2381>
  24. Tzipilevich E, Habusha M, Ben-Yehuda S. Acquisition of Phage Sensitivity by Bacteria through Exchange of Phage Receptors. *Cell.* 2017;168(1-2):186-199.e12. <http://doi.org/10.1016/j.cell.2016.12.003>
  25. Смирнов А.В., Юнусова А.М., Лукьянчикова В.А., Батулин Н.Р. Система CRISPR/Cas9 – универсальный инструмент геномной инженерии. *Вавиловский журнал генетики и селекции.* 2016;20(4):493-510. <http://doi.org/10.18699/VJ16.175>
  26. Barrangou R, Fremaux C, Deveau H, Richards M, Boyaval P, Moineau S, Romero DA, Horvath P. CRISPR provides acquired resistance against viruses in prokaryotes. *Science.* 2007;315(5819):1709-1712. <http://doi.org/10.1126/science.1138140>
  27. Shen J, Zhou J, Chen GQ, Xiu ZL. Efficient Genome Engineering of a Virulent *Klebsiella* Bacteriophage Using CRISPR-Cas9. *J Virol.* 2018;92(17):e00534-18. <http://doi.org/10.1128/JVI.00534-18>
  28. Kiro R, Shitrit D, Qimron U. Efficient engineering of a bacteriophage genome using the type I-E CRISPR-Cas system. *RNA Biol.* 2014;11(1):42-44. <http://doi.org/10.4161/rna.27766>
  29. Box AM, McGuffie MJ, O'Hara BJ, Seed KD. Functional Analysis of Bacteriophage Immunity through a Type I-E CRISPR-Cas System in *Vibrio cholerae* and Its Application in Bacteriophage Genome Engineering. *J Bacteriol.* 2015;198(3):578-590. <http://doi.org/10.1128/JB.00747-15>
  30. Martel B, Moineau S. CRISPR-Cas: an efficient tool for genome engineering of virulent bacteriophages. *Nucleic Acids Res.* 2014;42(14):9504-9513. <http://doi.org/10.1093/nar/gku628>
  31. Lemay ML, Tremblay DM, Moineau S. Genome Engineering of Virulent Lactococcal Phages Using CRISPR-Cas9. *ACS Synth Biol.* 2017;6(7):1351-1358. <http://doi.org/10.1021/acssynbio.6b00388>
  32. Tao P, Wu X, Tang WC, Zhu J, Rao V. Engineering of Bacteriophage T4 Genome Using CRISPR-Cas9. *ACS Synth Biol.* 2017;6(10):1952-1961. <http://doi.org/10.1021/acssynbio.7b00179>
  33. Schilling T, Dietrich S, Hoppert M, Hertel R. A CRISPR-Cas9-Based Toolkit for Fast and Precise In Vivo Genetic Engineering of *Bacillus subtilis* Phages. *Viruses.* 2018;10(5):241. <http://doi.org/10.3390/v10050241>
  34. Shen J, Zhou J, Chen GQ, Xiu ZL. Efficient Genome Engineering of a Virulent *Klebsiella* Bacteriophage Using CRISPR-Cas9. *J Virol.* 2018;92(17):e00534-18. <http://doi.org/10.1128/JVI.00534-18>
  35. Bikard D, Euler CW, Jiang W, Nussenzweig PM, Goldberg GW, Duportet X, Fischetti VA, Marraffini LA. Exploiting CRISPR-Cas nucleases to produce sequence-specific antimicrobials. *Nat Biotechnol.* 2014;32(11):1146-1150. <http://doi.org/10.1038/nbt.3043>
  36. Kiro R, Shitrit D, Qimron U. Efficient engineering of a bacteriophage genome using the type I-E CRISPR-Cas system. *RNA Biol.* 2014;11(1):42-44. <http://doi.org/10.4161/rna.27766>
  37. Marinelli LJ, Hatfull GF, Piuri M. Recombineering: A powerful tool for modification of bacteriophage genomes. *Bacteriophage.* 2012;2(1):5-14. <http://doi.org/10.4161/bact.18778>
  38. Marinelli LJ, Piuri M, Swigonová Z, Balachandran A, Oldfield LM, van Kessel JC, Hatfull GF. BRED: a simple and powerful tool for constructing mutant and recombinant bacteriophage genomes. *PLoS One.* 2008;3(12):e3957. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0003957>
  39. Sharan SK, Thomason LC, Kuznetsov SG, Court DL. Recombineering: a homologous recombination-based method of genetic engineering. *Nat Protoc.* 2009;4(2):206-223. <http://doi.org/10.1038/nprot.2008.227>
  40. Thomason LC, Oppenheim AB, Court DL. Modifying bacteriophage lambda with recombineering. *Methods Mol Biol.* 2009;501:239-251. [http://doi.org/10.1007/978-1-60327-164-6\\_21](http://doi.org/10.1007/978-1-60327-164-6_21)
  41. Dedrick RM, Guerrero-Bustamante CA, Garlena RA, Russell DA, Ford K, Harris K, Gilmour KC, Soothill J, Jacobs-Sera D, Schooley RT, Hatfull GF, Spencer H. Engineered bacteriophages for treatment of a patient with a disseminated drug-resistant *Mycobacterium abscessus*. *Nat Med.* 2019;25(5):730-733. <http://doi.org/10.1038/s41591-019-0437-z>

## References:

1. Bikard D, Euler CW, Jiang W, Nussenzweig PM, Goldberg GW, Duportet X, Fischetti VA, Marraffini LA. Exploiting CRISPR-Cas nucleases to produce sequence-specific antimicrobials. *Nat Biotechnol.* 2014;32(11):1146-1150. <http://doi.org/10.1038/nbt.3043>
2. Kutateladze M, Adamia R. Bacteriophages as potential new therapeutics to replace or supplement antibiotics. *Trends Biotechnol.* 2010;28(12):591-595. <http://doi.org/10.1016/j.tibtech.2010.08.001>
3. Kter EM, De Vos D, Gvasalia G, Alavidze Z, Gogokhia L, Kuhl S, Abedon ST. Phage therapy in clinical practice: treatment of human infections. *Curr Pharm Biotechnol.* 2010;11(1):69-86. <http://doi.org/10.2174/138920110790725401>
4. Kutter EM., Kuhl SJ, Abedon ST. Re-establishing a place for phage therapy in western medicine. *Future Microbiol.* 2015;10(5):685-688. <http://doi.org/10.2217/fmb.15.28>
5. Lu TK, Collins JJ. Engineered bacteriophage targeting gene networks as adjuvants for antibiotic therapy. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2009;106(12):4629-4634. <http://doi.org/10.1073/pnas.0800442106>
6. Duplessis M, Moineau S. Identification of a genetic determinant responsible for host specificity in *Streptococcus thermophilus* bacteriophages. *Mol Microbiol.* 2001;41(2):325-336. <http://doi.org/10.1046/j.1365-2958.2001.02521.x>
7. Yehl K, Lemire S, Yang AC, Ando H, Mimeo M, Torres MT, de la Fuente-Nunez C, Lu TK. Engineering Phage Host-Range and Suppressing Bacterial Resistance through Phage Tail Fiber Mutagenesis. *Cell.* 2019;179(2):459-469.e9. <http://doi.org/10.1016/j.cell.2019.09.015>
8. Dunne M, Rumpf B, Tala M, Qabrati X, Ernst P, Shen Y, Sumrall E, Heeb L, Plückthun A, Loessner MJ, Kilcher S. Reprogramming Bacteriophage Host Range through Structure-Guided Design of Chimeric Receptor Binding Proteins. *Cell Rep.* 2019;29(5):1336-1350.e4. <http://doi.org/10.1016/j.celrep.2019.09.062>
9. Hupfeld M, Trasanidou D, Ramazzini L, Klumpp J, Loessner MJ, Kilcher S. A functional type II-A CRISPR-Cas system from *Listeria* enables efficient genome editing of large non-integrating bacteriophage. *Nucleic Acids Res.* 2018;46(13):6920-6933. <http://doi.org/10.1093/nar/gky544>
10. Ando H, Lemire S, Pires DP, Lu TK. Engineering Modular Viral Scaffolds for Targeted Bacterial Population Editing. *Cell Syst.* 2015;1(3):187-196. <http://doi.org/10.1016/j.cels.2015.08.013>
11. Martel B, Moineau S. CRISPR-Cas: an efficient tool for genome engineering of virulent bacteriophages. *Nucleic Acids Res.* 2014;42(14):9504-9513. <http://doi.org/10.1093/nar/gku628>
12. Lemay ML, Tremblay DM, Moineau S. Genome Engineering of Virulent Lactococcal Phages Using CRISPR-Cas9. *ACS Synth Biol.* 2017;6(7):1351-1358. <http://doi.org/10.1021/acssynbio.6b00388>
13. Dedrick RM, Guerrero-Bustamante CA, Garlena RA, Russell DA, Ford K, Harris K, Gilmour KC, Soothill J, Jacobs-Sera D, Schooley RT, Hatfull GF, Spencer H. Engineered bacteriophages for treatment of a patient with a disseminated drug-resistant *Mycobacterium abscessus*. *Nat Med.* 2019;25(5):730-733. <http://doi.org/10.1038/s41591-019-0437-z>
14. Huss P, Raman S. Engineered bacteriophages as programmable biocontrol agents. *Curr Opin Biotechnol.* 2020;61:116-121. <http://doi.org/10.1016/j.copbio.2019.11.013>
15. Burrowes BH, Molineux IJ, Fralick JA. Directed In Vitro Evolution of Therapeutic Bacteriophages: The Appellmans Protocol. *Viruses.* 2019;11(3):241. <http://doi.org/10.3390/v11030241>
16. Yehl K, Lemire S, Yang AC, Ando H, Mimeo M, Torres MT, de la Fuente-Nunez C, Lu TK. Engineering Phage Host-Range and Suppressing Bacterial Resistance through Phage Tail Fiber Mutagenesis. *Cell.* 2019;179(2):459-469.e9. <http://doi.org/10.1016/j.cell.2019.09.015>
17. Beck A, Wurch T, Bailly C, Corvaia N. Strategies and challenges for the next generation of therapeutic antibodies. *Nat Rev Immunol.*

- 2010;10(5):345-352. <http://doi.org/10.1038/nri2747>
18. Foltz IN, Karow M, Wasserman SM. Evolution and emergence of therapeutic monoclonal antibodies: what cardiologists need to know. *Circulation*. 2013;127(22):2222-2230. <http://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.113.002033>
  19. Ducancel F, Muller BH. Molecular engineering of antibodies for therapeutic and diagnostic purposes. *MAbs*. 2012;4(4):445-457. <http://doi.org/10.4161/mabs.20776>
  20. Igawa T, Tsunoda H, Kuramochi T, Sampei Z, Ishii S, Hattori K. Engineering the variable region of therapeutic IgG antibodies. *MAbs*. 2011;3(3):243-252. <http://doi.org/10.4161/mabs.3.3.15234>
  21. Eugster MR, Morax LS, Hüls VJ, Huwiler SG, Leclercq A, Lecuit M, Loessner MJ. Bacteriophage predation promotes serovar diversification in *Listeria monocytogenes*. *Mol Microbiol*. 2015;97(1):33-46. <http://doi.org/10.1111/mmi.13009>
  22. Sumrall ET, Shen Y, Keller AP, Rismondo J, Pavlou M, Eugster MR, Boulous S, Disson O, Thouvenot P, Kilcher S, Wollscheid B, Cabanes D, Lecuit M, Gründling A, Loessner MJ. Phage resistance at the cost of virulence: *Listeria monocytogenes* serovar 4b requires galactosylated teichoic acids for InIB-mediated invasion. *PLoS Pathog*. 2019;15(10):e1008032. <http://doi.org/10.1371/journal.ppat.1008032>
  23. Kolenbrander PE, Palmer RJ Jr, Periasamy S, Jakubovics NS. Oral multispecies biofilm development and the key role of cell-cell distance. *Nat Rev Microbiol*. 2010;8(7):471-480. <http://doi.org/10.1038/nrmicro2381>
  24. Tzipilevich E, Habusha M, Ben-Yehuda S. Acquisition of Phage Sensitivity by Bacteria through Exchange of Phage Receptors. *Cell*. 2017;168(1-2):186-199.e12. <http://doi.org/10.1016/j.cell.2016.12.003>
  25. Smirnov AV, Yunusova AM, Lukyanchikova VA, Battulin NR. CRISPR/Cas9, a universal tool for genomic engineering. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2016;20(4):493-510. 2016;20(4):493-510. (In Russ). <http://doi.org/10.18699/VJ16.175>
  26. Barrangou R, Fremaux C, Deveau H, Richards M, Boyaval P, Moineau S, Romero DA, Horvath P. CRISPR provides acquired resistance against viruses in prokaryotes. *Science*. 2007;315(5819):1709-1712. <http://doi.org/10.1126/science.1138140>
  27. Shen J, Zhou J, Chen GQ, Xiu ZL. Efficient Genome Engineering of a Virulent *Klebsiella* Bacteriophage Using CRISPR-Cas9. *J Virol*. 2018;92(17):e00534-18. <http://doi.org/10.1128/JVI.00534-18>
  28. Kiro R, Shitrit D, Qimron U. Efficient engineering of a bacteriophage genome using the type I-E CRISPR-Cas system. *RNA Biol*. 2014;11(1):42-44. <http://doi.org/10.4161/rna.27766>
  29. Box AM, McGuffie MJ, O'Hara BJ, Seed KD. Functional Analysis of Bacteriophage Immunity through a Type I-E CRISPR-Cas System in *Vibrio cholerae* and Its Application in Bacteriophage Genome Engineering. *J Bacteriol*. 2015;198(3):578-590. <http://doi.org/10.1128/JB.00747-15>
  30. Martel B, Moineau S. CRISPR-Cas: an efficient tool for genome engineering of virulent bacteriophages. *Nucleic Acids Res*. 2014;42(14):9504-9513. <http://doi.org/10.1093/nar/gku628>
  31. Lemay ML, Tremblay DM, Moineau S. Genome Engineering of Virulent Lactococcal Phages Using CRISPR-Cas9. *ACS Synth Biol*. 2017;6(7):1351-1358. <http://doi.org/10.1021/acssynbio.6b00388>
  32. Tao P, Wu X, Tang WC, Zhu J, Rao V. Engineering of Bacteriophage T4 Genome Using CRISPR-Cas9. *ACS Synth Biol*. 2017;6(10):1952-1961. <http://doi.org/10.1021/acssynbio.7b00179>
  33. Schilling T, Dietrich S, Hoppert M, Hertel R. A CRISPR-Cas9-Based Toolkit for Fast and Precise In Vivo Genetic Engineering of *Bacillus subtilis* Phages. *Viruses*. 2018;10(5):241. <http://doi.org/10.3390/v10050241>
  34. Shen J, Zhou J, Chen GQ, Xiu ZL. Efficient Genome Engineering of a Virulent *Klebsiella* Bacteriophage Using CRISPR-Cas9. *J Virol*. 2018;92(17):e00534-18. <http://doi.org/10.1128/JVI.00534-18>
  35. Bikard D, Euler CW, Jiang W, Nussenzweig PM, Goldberg GW, Duportet X, Fischetti VA, Marraffini LA. Exploiting CRISPR-Cas nucleases to produce sequence-specific antimicrobials. *Nat Biotechnol*. 2014;32(11):1146-1150. <http://doi.org/10.1038/nbt.3043>
  36. Kiro R, Shitrit D, Qimron U. Efficient engineering of a bacteriophage genome using the type I-E CRISPR-Cas system. *RNA Biol*. 2014;11(1):42-44. <http://doi.org/10.4161/rna.27766>
  37. Marinelli LJ, Hatfull GF, Piuri M. Recombineering: A powerful tool for modification of bacteriophage genomes. *Bacteriophage*. 2012;2(1):5-14. <http://doi.org/10.4161/bact.18778>
  38. Marinelli LJ, Piuri M, Swigonová Z, Balachandran A, Oldfield LM, van Kessel JC, Hatfull GF. BRED: a simple and powerful tool for constructing mutant and recombinant bacteriophage genomes. *PLoS One*. 2008;3(12):e3957. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0003957>
  39. Sharan SK, Thomason LC, Kuznetsov SG, Court DL. Recombineering: a homologous recombination-based method of genetic engineering. *Nat Protoc*. 2009;4(2):206-223. <http://doi.org/10.1038/nprot.2008.227>
  40. Thomason LC, Oppenheim AB, Court DL. Modifying bacteriophage lambda with recombineering. *Methods Mol Biol*. 2009;501:239-251. [http://doi.org/10.1007/978-1-60327-164-6\\_21](http://doi.org/10.1007/978-1-60327-164-6_21)
  41. Dedrick RM, Guerrero-Bustamante CA, Garlena RA, Russell DA, Ford K, Harris K, Gilmour KC, Soothill J, Jacobs-Sera D, Schooley RT, Hatfull GF, Spencer H. Engineered bacteriophages for treatment of a patient with a disseminated drug-resistant *Mycobacterium abscessus*. *Nat Med*. 2019;25(5):730-733. <http://doi.org/10.1038/s41591-019-0437-z>

## Сведения об авторах

**Багандова Калимат Магомедовна**, аспирант, младший научный сотрудник лаборатории клинической микробиологии и биотехнологии бактериофагов, ФБУН «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора» (125212, г. Москва, ул. Адмирала Макарова, д.10).

**Вклад в статью:** написание статьи.

**ORCID:** 0000-0001-5166-9677

**Зулькарнеев Эльдар Ринатович**, кандидат биологических наук, ФКУЗ «Противочумный центр» Роспотребнадзора (119121, г. Москва, ул. Погодинская, д. 10, стр. 4).

**Вклад в статью:** разработка концепции.

**ORCID:** 0000-0002-5920-8098

**Мизаева Тоита Эдалбековна**, аспирант, младший научный сотрудник лаборатории клинической микробиологии и биотехнологии бактериофагов, ФБУН «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора» (125212, г. Москва, ул. Адмирала Макарова, д.10).

**Вклад в статью:** поиск источников литературы.

**ORCID:** 0000-0002-0046-9226

## Authors

**Dr. Kalimat M. Bagandova**, MD, PhD student, Junior Research Fellow, Laboratory of Clinical Microbiology and Biotechnology of Bacteriophages, Gabrichevsky Moscow Research Institute of Epidemiology and Microbiology (10, Admirala Makarova Street, Moscow, 125212, Russian Federation)

**Contribution:** wrote the manuscript.

**ORCID:** 0000-0001-5166-9677

**Dr. Eldar R. Zulkarneev**, PhD, Senior Research Fellow, Anti-Plague Center of the Federal Service for the Oversight of Consumer Protection and Welfare (Building 4, 10, Pogodinskaya Street, Moscow, 119121, Russian Federation)

**Contribution:** conceived and designed the study.

**ORCID:** 0000-0002-5920-8098

**Dr. Toita E. Mizaeva**, MD, PhD student, Junior Research Fellow, Laboratory of Clinical Microbiology and Biotechnology of Bacteriophages, Gabrichevsky Moscow Research Institute of Epidemiology and Microbiology (10, Admirala Makarova Street, Moscow, 125212, Russian Federation)

**Contribution:** performed literature search and analysis.

**ORCID:** 0000-0002-0046-9226

**Воробьев Алексей Максимович**, аспирант, младший научный сотрудник лаборатории клинической микробиологии и биотехнологии бактериофагов ФБУН «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора» (125212, г. Москва, ул. Адмирала Макарова, д.10).

**Вклад в статью:** поиск источников литературы.

**ORCID:** 0000-0003-4724-2464

**Ефимова Ольга Георгиевна**, кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории клинической микробиологии и биотехнологии бактериофагов ФБУН «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора» (125212, г. Москва, ул. Адмирала Макарова, д.10).

**Вклад в статью:** формулирование выводов.

**ORCID:** 0000-0002-0288-2188

**Медведевская Мария Павловна**, аспирант, младший научный сотрудник лаборатории клинической микробиологии и биотехнологии бактериофагов ФБУН «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора» (125212, г. Москва, ул. Адмирала Макарова, д.10).

**Вклад в статью:** поиск источников литературы.

**ORCID:** 0000-0002-4321-7563

**Пасивкина Мария Антоновна**, аспирант, младший научный сотрудник лаборатории клинической микробиологии и биотехнологии бактериофагов ФБУН «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора» (125212, г. Москва, ул. Адмирала Макарова, д.10).

**Вклад в статью:** поиск источников литературы.

**ORCID:** 0000-0001-6223-1347

**Алешкин Андрей Владимирович**, член-корреспондент РАН, доктор биологических наук, профессор РАН, руководитель лаборатории клинической микробиологии и биотехнологии бактериофагов ФБУН «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора» (125212, г. Москва, ул. Адмирала Макарова, д.10).

**Вклад в статью:** утверждение окончательного варианта статьи.

**ORCID:** 0000-0001-6223-1347

Статья поступила: 18.08.2022 г.

Принята в печать: 31.08.2022 г.

Контент доступен под лицензией CC BY 4.0.

**Dr. Alexey M. Vorobyev**, MD, PhD student, Junior Research Fellow, Laboratory of Clinical Microbiology and Biotechnology of Bacteriophages, Gabrichevsky Moscow Research Institute of Epidemiology and Microbiology (10, Admirala Makarova Street, Moscow, 125212, Russian Federation)

**Contribution:** performed literature search and analysis.

**ORCID:** 0000-0003-4724-2464

**Dr. Olga G. Efimova**, MD, PhD, Leading Research Fellow, Laboratory of Clinical Microbiology and Biotechnology of Bacteriophages, Gabrichevsky Moscow Research Institute of Epidemiology and Microbiology (10, Admirala Makarova Street, Moscow, 125212, Russian Federation).

**Contribution:** literature analysis\$ text editing..

**ORCID:** 0000-0002-0288-2188

**Dr. Maria P. Medvedovskaya**, MD, PhD student, Junior Research Fellow, Laboratory of Clinical Microbiology and Biotechnology of Bacteriophages, Gabrichevsky Moscow Research Institute of Epidemiology and Microbiology (10, Admirala Makarova Street, Moscow, 125212, Russian Federation).

**Contribution:** performed literature search and analysis.

**ORCID:** 0000-0002-4321-7563

**Dr. Maria A. Pasivkina**, MD, PhD student, Junior Research Fellow, Laboratory of Clinical Microbiology and Biotechnology of Bacteriophages, Gabrichevsky Moscow Research Institute of Epidemiology and Microbiology (10, Admirala Makarova Street, Moscow, 125212, Russian Federation).

**Contribution:** performed literature search and analysis.

**ORCID:** 0000-0001-6223-1347

**Prof. Andrey V. Aleshkin**, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences; DSc, Professor, Head of the Laboratory of Clinical Microbiology and Biotechnology of Bacteriophages, Gabrichevsky Moscow Research Institute of Epidemiology and Microbiology (10, Admirala Makarova Street, Moscow, 125212, Russian Federation).

**Contribution:** editing and approval the manuscript.

**ORCID:** 0000-0001-6223-1347

Received: 18.08.2022

Accepted: 31.08.2022

Creative Commons Attribution CC BY 4.0.

УДК 616.831-008.64-052

<https://doi.org/10.23946/2500-0764-2022-7-3-64-73>

# ВНЕЦЕРЕБРАЛЬНЫЕ ПРОЯВЛЕНИЯ ОСТРОЙ ЦЕРЕБРАЛЬНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ У ПАЦИЕНТОВ В КРИТИЧЕСКОМ СОСТОЯНИИ

ЗАДВОРНОВ А.А.<sup>1\*</sup>, ГРИГОРЬЕВ Е.В.<sup>2</sup><sup>1</sup>ГАОУЗ «Кузбасская областная детская клиническая больница им. Ю. А. Атаманова», г. Кемерово, Россия<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации», г. Кемерово, Россия

## Резюме

Острая церебральная недостаточность (ОЦН) – критическое состояние, обусловленное утратой организмом высшей и базовой нервной деятельности, а также нейрональной регуляции деятельности жизненно важных органов и систем. Наряду с клиническими и лабораторными проявлениями повреждения головного мозга, острая церебральная недостаточность сопровождается и проявлениями со стороны жизненно важных органов и систем организма, что способно значительно осложнить течение критического состояния. В обзоре представлены современные сведения о частоте, патофизиологии, клинической картине вторичных органических повреждений дыхательной, сердечно-сосудистой, мочевыводящей, иммунной систем, желудочно-кишечного тракта и системы гемостаза при ОЦН, а также их профилактике и терапии. Отягощать течение ОЦН может и комплекс нейрогенных эндокринных расстройств, включающих гипопитуитаризм и нарушение секреции антидиуретического гормона с тяжелыми нарушениями водно-электролитного баланса. Гной-

но-септические осложнения в виде застойной пневмонии, вентикулита и осложненных пролежней требуют проведения комплекса мер, направленных на профилактику и терапию данных осложнений. Острая церебральная недостаточность является жизнеугрожающим состоянием, сопровождающимся «нейрогенной» полиорганной недостаточностью, развитие которой отягощает течение заболевания и повышает риски неблагоприятного исхода. «Нейрогенная» органная дисфункция требует от клиницистов проведения базового мониторинга витальных параметров, комплекса мер профилактики и терапии нейрогенных осложнений.

**Ключевые слова:** острое церебральное повреждение, полиорганная недостаточность, критическое состояние, гипопитуитаризм.

## Конфликт интересов

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

## Источник финансирования

Собственные средства.

## Для цитирования:

Задворнов А.А., Григорьев Е.В. Внецеребральные проявления острой церебральной недостаточности у пациентов в критическом состоянии. *Фундаментальная и клиническая медицина*. 2022;7(3): 64-73. <https://doi.org/10.23946/2500-0764-2022-7-3-64-73>

## \*Корреспонденцию адресовать:

Задворнов Алексей Анатольевич, 650056, Россия, г. Кемерово, ул. Ворошилова, д. 21. E-mail: air.42@ya.ru

© Задворнов А.А. и др.

## REVIEW ARTICLES

# EXTRACEREBRAL MANIFESTATIONS OF ACUTE CEREBRAL INSUFFICIENCY IN PATIENTS IN CRITICAL CONDITIONS

ALEXEY A. ZADVORNOV<sup>1\*</sup>, EVGENY V. GRIGORIEV<sup>2</sup><sup>1</sup>Kuzbass Regional Children's Clinical Hospital, Kemerovo, Russian Federation<sup>2</sup>Kemerovo State Medical University, Kemerovo, Russian Federation

## Abstract

Acute cerebral insufficiency is a life-threatening condition defined by a loss of basic and higher nervous activity, as well as neuronal regulation of vital organs. Along with the signs and symptoms of brain damage, acute cerebral insufficiency is often accompanied by manifestations from other vital organs (i.e., respiratory, cardiovascular, gastrointestinal, urinary and immune systems as well as haemostasis), significantly complicating the disease course. Among the critical consequences following acute cerebral insufficiency are: 1) neurogenic endocrine disorders including hypopituitarism and impaired secretion of antidiuretic hormone which are notable for electrolyte im-

balance; 2) healthcare-associated infections such as congestive pneumonia, ventriculitis, and pressure ulcers. In the worst-case scenario, acute cerebral insufficiency results in a multiple organ dysfunction syndrome. Here we describe epidemiology, pathophysiology, signs, symptoms, prevention, and treatment of vital organs in patients with acute cerebral insufficiency.

**Keywords:** acute brain injury; multiple organ dysfunction syndrome; life-threatening condition; hypopituitarism

### Conflict of Interest

None declared.

### Funding

There was no funding for this project.

◀ English

### For citation:

Alexey A. Zadvornov, Evgeny V. Grigoriev. Extracerebral manifestations of acute cerebral insufficiency in patients in critical condition. *Fundamental and Clinical Medicine*. (In Russ.).2022;7(3): 64-73 <https://doi.org/10.23946/2500-0764-2022-7-3-64-73>

### \*Corresponding author:

Dr. Aleksey A. Zadvornov, 21, Voroshilova Street, Kemerovo, 650056, Russian Federation, E-mail: air.42@ya.ru  
© Aleksey A. Zadvornov, et al.

## Введение

Острая церебральная недостаточность (ОЦН) является жизнеугрожающим состоянием, включающим комплекс симптомов, в том числе депрессию сознания и изменения его качества, нарушения функции афферентных и эфферентных систем центральной нервной системы, а также вегетативных функций [1]. ОЦН может развиваться вследствие церебральных и внецеребральных причин. К церебральным причинам относятся нозологии, характеризующиеся первичным поражением головного мозга гипоксического, травматического, воспалительного, токсического и дисметаболического генеза. К внецеребральным причинам относятся нозологии, характеризующиеся поражением прочих органов и систем, осложняющихся вторичной острой церебральной депрессией [1, 2].

Патогенез ОЦН включает в себя формирование патологических систем в ответ на воздействие этиологических факторов, что ведет к преобладанию процессов торможения над возбуждением и угнетению сознания [3]. Основным клиническим проявлением ОЦН является депрессия сознания и стволовых рефлексов, которые могут сопровождаться вегетативными нарушениями и судорожным синдромом, что вкуче приводит к развитию гипоксии и дисфункции сердечно-сосудистой системы, ведущих к гибели организма.

Однако не менее актуальны и внецеребральные проявления ОЦН, характеризующиеся вторичным нарушением других органов и систем, которые нередко носят жизнеугрожающий характер и требуют коррекции врачами интенсивной терапии. К таким проявлениям относят поражение дыхательной, сердечно-сосудистой, гастроинтестинальной, гемостатической и прочих систем.

В данном обзоре не рассматриваются органические повреждения, развивающиеся вследствие медиаторного шторма на фоне тяжелого церебрального повреждения, так как они являются неспецифичными для ОЦН. Также не рассматриваются ятрогенные органические повреждения, вызванные приемом лекарственных препаратов и лечебных воздействий, несмотря на то, что они могут сопровождать течение ОЦН и носить жизнеугрожающий характер.

#### Сердечно-сосудистая система

Нейрогенная сердечная дисфункция нередко сопровождает ОЦН [4]. Частота сердечной дисфункции при черепно-мозговой травме (ЧМТ) описана в интервале 13–74%, при субарахноидальном кровоизлиянии (САК) – 31% [5]. У 28% пациентов с ишемическим острым нарушением мозгового кровообращения (ОНМК) регистрируется снижение фракции выброса левого желудочка [6]. Наиболее распространенным проявлением сердечной дисфункции является шоковое состояние, патогенез которого включает в себя острую левожелудочковую недостаточность, гиповолемию, вазодилатацию либо их комбинацию. Шоковое состояние при ОЦН развивается преимущественно вследствие левожелудочковой недостаточности, вызванной стрессорным медиаторным штормом. Также возможно наличие гиповолемии на фоне массивной кровопотери при травматическом генезе ОЦН.

Однако описан и механизм нейрогенной кардиопатии, включающий в себя чрезмерную активацию симпатергической системы со стойким вазоспазмом коронарного бассейна, что сопровождается субэндокардиальным инфарктом миокарда [5]. Также описана теория церебрального катехоламинового шторма, опосредованного выбросом адренкортикотропного гормона (АКТГ), который возникает в первые дни после церебрального повреждения различной этиологии. Избыточное воздействие катехоламинов на миокард вызывает вазоспазм коронарного бассейна, повышает метаболическую потребность кардиомиоцитов, а также обладает непосредственным цитотоксическим эффектом на миокард [6]. Цитотоксический эффект опосредован избыточным выделением кальция в клетке с развитием кальциевого стресса ведущего к гибели кардиомиоцитов [6]. Массовая гибель кардиомиоцитов сопровождается выделением в кровь тропонина, который может использоваться как диагностический критерий

поражения миокарда [4]. Тяжесть нейрогенной сердечной дисфункции значительно усиливается у пациентов, имеющих кардиоваскулярные факторы риска, такие как атеросклероз сосудов коронарного бассейна, ишемическая болезнь сердца, перенесенный инфаркт миокарда и прочие заболевания.

Кроме острой нейрогенной кардиомиопатии у пациентов может наблюдаться кардиомиопатия Такоцубо (КТ), описанная Хикаро Сато в 1990-х годах, и которая не является истинной нейрогенной кардиомиопатией, так как может развиваться в ответ на любые формы стресса [7]. КТ характеризуется левожелудочковой дискинезией с формированием шарообразного расширения верхушки левого желудочка, напоминающей традиционную японскую ловушку для осьминогов Такоцубо. Клинические и параклинические проявления КТ включают в себя шоковое состояние, нарушения ритма, девиацию сегмента ST, удлинения QT, повышение уровня сывороточного тропонина и характерную эхокардиографическую картину [7]. Как и нейрогенная кардиомиопатия, КТ является обратимым состоянием, инволюция которого ассоциирована со снижением чрезмерной симпатергической активации.

В отличие от инфаркта миокарда, нейрогенная кардиопатия не сопровождается выраженной обструкцией сосудов коронарного бассейна, однако, учитывая выраженные микроциркуляторные нарушения, вероятно, требует вазодилатационной терапии нитратами.

Ввиду схожести клинической картины нейрогенной кардиопатии и КТ с острым коронарным синдромом допускается проведение стартовой терапии, направленной на его купирование. После валидации диагноза возможно проведение инотропной, антитромботической терапии, а также терапии, направленной на снижение преднагрузки (диуретики, нитраты) и улучшение коронарного кровотока (нитраты). У гемодинамически стабильных пациентов возможно применение бета-блокаторов [7].

Кроме кардиогенного, возможен и дистрибутивный шок при комбинации черепно-мозговой травмы со спинальной. Тяжелое нарушение симпатергической иннервации, развивающееся при спинальной травме, ведет к развитию вазоплегии и несоответствию объема циркулирующей крови объему сосудистого бассейна [8]. Шоковое состояние у пациентов с церебральным повреждением запускает порочный круг,

опосредованный снижением церебрального перфузионного давления, ведущий к прогрессированию ишемии головного мозга. Терапия дистрибутивного шока должна включать назначение вазопрессорной терапии, а также волемическое восполнение.

Церебральная ишемия миокарда может вызывать и развитие аритмий сердца, таких как фибрилляция предсердий, наджелудочковая и желудочковая тахикардия, экстрасистолия, что может потребовать проведения антиаритмической терапии [6]. Частота аритмий или электрокардиографических нарушений при ОНМК составляет 67–100%, жизнеугрожающих нарушений ритма – 5% [9].

Кроме артериальной гипотонии, при церебральном повреждении, сопровождающемся внутричерепной гипертензией, может встречаться и артериальная гипертония, вызванная активацией симпатергической системы и катехоламиновым штормом. Вторичная активация каротидных барорецепторов в ответ на артериальную гипертонию приводит к увеличению тonusа блуждающего нерва и развитию триады Кушинга (артериальная гипертония, брадикардия и брадикардия) [10].

#### **Дыхательная система**

Тяжелая ОЦН сопровождается нарушением ритма, глубины и частоты дыхания, что снижает минутный объем вентиляции. Дыхательная недостаточность, требующая дыхательной поддержки, развивается у 38,5–65% пациентов с САК [11]. Также у пациентов может присутствовать утрата гортанных и кашлевого рефлексов, что приводит к риску аспирации содержимым ротоглотки и желудка. Именно поэтому одним из показаний к интубации трахеи и искусственной вентиляции легких является депрессия сознания до уровня сопора с оценкой по шкале ком Глазго 8 баллов и ниже.

Кроме этого, при ОЦН может наблюдаться нейрогенный отек легких (НОЛ) – состояние, в соответствии с Берлинским определением 2012 года, являющееся формой острого респираторного дистресс-синдрома и характеризующееся выраженным острым накоплением жидкости в интерстиции легких. Клинически НОЛ проявляется картиной дыхательной недостаточности, рентгенологической картиной диффузной инфильтрации легких и не может быть объяснена сердечной недостаточностью, перегрузкой жидкостью или медиаторным штормом в постстрессорном периоде

[12]. Частота НОЛ у пациентов с САК составляет 31% и до 50% у пациентов с ЧМТ [13]. Центральным патогенетическим механизмом НОЛ является чрезвычайная активация адренорецепторов, развивающаяся при активации симпатергической системы и развитии катехоламинового шторма. Теория сдвига кровотока описывает перераспределение кровотока в условиях вазоспазма системного круга в сторону легочного с её волемической перегрузкой. Также имеются предположение о влиянии чрезмерной прямой активации легочной иннервации с развитием легочной вазоплегии и задержкой жидкости в легких [14]. Клиническая и рентгенологическая НОЛ сходна с картиной острого респираторного дистресс-синдрома. Различают раннюю форму НОЛ, развивающуюся в течение 30–60 минут после церебрального повреждения, и позднюю, развивающуюся в течение 12–24 часов. При этом ранняя форма НОЛ ассоциирована с более высокой летальностью, в связи с чем в некоторых источниках описывается как фульминантная [14].

Развивающаяся при НОЛ гипоксемия ведет к усилению церебрального повреждения. Терапия НОЛ должна включать в себя дыхательную поддержку, направленную на коррекцию гипоксемии и гиперкапнии. Ввиду рекруитабельности НОЛ возможно применение маневра рекруитмента легких, направленного на раскрытие коллабированных альвеол и поддержание их в расправленном состоянии. В случае рефрактерной гипоксемии возможно применение экстракорпоральной мембранной оксигенации.

Кроме того, у пациентов с ОЦН может развиваться повреждение легких, вызванное застойными явлениями, регургитацией и аспирацией желудочного содержимого, а также инфекционным процессом.

#### **Желудочно-кишечный тракт**

ОЦН может способствовать образованию нейрогенных стресс-язв желудка и двенадцатиперстной кишки, патогенез развития которых не совсем понятен. Имеются предположение о связи повреждения гипоталамо-гипофизарной системы со вторичным массивным выбросом глюкокортикостероидов, которые обладают ulcerогенными свойствами. Существует предположение о чрезмерной активации блуждающего нерва, ведущей к повышению кислотности желудка с образованием стресс-язв [15]. Имеются данные о корреляции частоты стресс-

язв с тяжестью внутричерепной гипертензии. Частота желудочных кровотечений у пациентов с ЧМТ достигает 17% [15], у пациентов с САК – 4,9% [16]. Терапия стресс-язв включает снижение кислотности желудочного сока (H<sub>2</sub>-блокаторы, блокаторы протонной помпы), а в случае желудочного кровотечения – его системная или местная коррекция, в том числе и с использованием хирургических методик.

Активация симпатoadреналовой системы снижает интестинальный кровоток и приводит к ишемии кишечника, которая в первую очередь повреждает наиболее метаболически-активный кишечный эпителий с его некрозом. Кишечное повреждение усиливается воздействием медиаторов воспаления, в частности, фактора некроза опухоли. Неблагоприятным следствием повреждения эпителия является мальабсорбция нутриентов и транслокация интестинальной микробиоты, при этом последняя может наблюдаться на ранних стадиях нейрогенного интестинального повреждения. Важную роль в транслокации микроорганизмов играет повышение парацеллюлярной проницаемости, обусловленной снижением экспрессии протеинов межклеточного контакта, в частности, окклюдина и ZO-1. Превышение межклеточного расстояния выше 0,25 нм делает эпителиальный барьер проницаемым для бактерий с их последующей транслокацией в кровоток.

Преобладание тонуса симпатической нервной системы, ишемия и воздействие медиаторов воспаления приводят к нарушению кишечной перистальтики, в тяжелых случаях – к парезу кишечника, что может потребовать перевода пациента на энтеральный голод и проведения парентерального питания.

ОЦН может сопровождаться дискинезией желудочно-кишечного тракта, которая может приводить к регургитации желудочного содержимого с его последующей аспирацией в незащищенные дыхательные пути.

У пациентов, выходящих из состояния острой церебральной недостаточности, могут сохраняться нарушения стволовых рефлексов, в результате чего пациент будет иметь картину глоточной или пищеводной дисфагии. Клинически дисфагия проявляется поперхиванием пищей или водой при глотании [18]. Кроме того, при длительной и значимой аспирации у пациента может развиться аспирационная пневмония.

### Метаболические и эндокринные нарушения

Острое церебральное повреждение, сопровождающееся картиной ОЦН, часто приводит к нейрогенной активации симпатергической системы и развитию катехоламинового шторма. Гиперкатаболизм, развивающийся вследствие этого, ведет к развитию нутритивного дефицита с отрицательным азотным балансом и потерей мышечной массы [19]. Гиперкатаболизм требует проведения гиперкалорийной нутритивной поддержки, соответствующей метаболическим потребностям организма.

Еще одной проблемой гиперкатаболизма является дисгликемия, чаще всего проявляющаяся гипергликемией, наличие которой ассоциировано с более неблагоприятным прогнозом у пациентов и требует проведения инсулинотерапии [20]. Вследствие анатомо-физиологических особенностей новорожденных и грудных детей острое церебральное повреждение может сопровождаться развитием гипогликемии, усиливающей поражение головного мозга и требующей введения глюкозы [21]. В случае рефрактерной гипогликемии необходимо применение глюкагона.

Гиперкатаболизм вкупе с поражением терморегулирующих центров, расположенных в гипоталамусе, может приводить к развитию гипертермии центрального генеза, наличие которой ухудшает прогноз заболевания и требует проведения комплексного целевого управления температурой [22].

Нарушение работы гипоталамо-гипофизарной оси ведет к развитию питуитарного дефицита, характеризующегося недостаточной секрецией рилизинг-факторов гипоталамуса с третичной щитовидной, надпочечниковой и соматотропной недостаточностью [23].

Дефицит функции коры надпочечников развивается вследствие снижения секреции кортиколиберина и АКТГ с третичным дефицитом глюкокортикоидов (кортизола) и минералокортикоидов (альдостерона). Дефицит кортизола проявляется артериальной гипотензией, протекающей по типу дистрибутивного шока. Дефицит альдостерона проявляется картиной гипонатриемией с гиперкалиемией, требующих соответствующей коррекции электролитного баланса [24]. Диагностика дефицита гормонов надпочечников включает в себя определение уровня кортизола, альдостерона и АКТГ. Заместительная терапия должна проводиться толь-

ко при валидации надпочечниковой недостаточности кортикостероидными препаратами с глюко- и минералокортикоидными свойствами.

Гипотиреоз развивается на фоне дефицита синтеза тиреолиберина и тиреотропного гормона с третичным дефицитом синтеза тироксина и трийодтиронина. Клинически третичный гипотиреоз проявляется симптомами, частично сходными с симптомами острой стадии ОЦН, в связи с чем они могут быть своевременно не диагностированы. Клиническая картина гипотиреоза включает нарушение сознания, отеки, дисфункцию миокарда, мышечную слабость и атрофию кожи [25]. Диагностика включает определение концентрации сывороточного тироксина и трийодтиронина, а также тиреотропного гормона. При выявлении вторичного гипотиреоза необходимо начать заместительную терапию левотироксином.

Третичный дефицит соматотропного гормона не имеет существенных проявлений в остром периоде ОЦН, однако после купирования ОЦН может приводить к развитию когнитивных дисфункций, ожирению, снижению мышечной массы и повышенной утомляемости [5].

Поражение гипоталамо-гипофизарной оси ведет к гипо- либо гиперсекреции антидиуретического гормона (АДГ, он же вазопрессин) с развитием центрального несахарного диабета, либо синдрома неадекватной секреции антидиуретического синдрома (СНСАГ, он же синдром Пархона, несахарный антидиабет, гипергидропексический синдром).

Центральный несахарный диабет развивается вследствие дефицита секреции АДГ с картиной полиурии, гипернатриемии и гипертонической дегидратации [26]. Его частота при ЧМТ составляет 14,8%. Диагностика данного состояния должна включать определение уровня сывороточного АДГ. Подтвержденный центральный несахарный диабет требует проведения заместительной терапии вазопрессином.

СНСАГ характеризуется избыточным высвобождением АДГ с развитием олигурии и гипонатриемии, сопровождающихся артериальной гипотонией и генерализованными отеками [25, 27]. Данное заболевание по клинической картине сходно с картиной шокового состояния, что вынуждает клиницистов начинать инотропную и вазоконстрикторную терапию. Задержка жидкости и гипонатриемия сопровождаются прогрессированием отека мозга, усиливающим

церебральное повреждение. Для верификации СНСАГ требуется определение уровня сывороточного АДГ. Терапия носит поддерживающий характер с ограничением жидкости, введением препаратов натрия. Обсуждается специфическая терапия ваптанами, селективными антагонистами вазопрессиновых рецепторов V2R [28].

Ввиду истощения запасов возможно снижение секреции АДГ с последующей конвертацией СНСАГ в центральный несахарный диабет, для своевременного выявления которого пациентам с ОЦН необходим ежедневный контроль сывороточных электролитов.

Также выделяют церебральный сольтеряющий синдром, клиническая картина которого включает гиповолемию и гипонатриемия [29]. Патогенез данного состояния не связан с секрецией АДГ и, по-видимому, носит комплексный характер. Предполагается, что он развивается вследствие гиперсекреции мозгового натрийуретического пептида и адреномедуллина, а также дисфункции симпатической и ренин-ангиотензин-альдостероновой систем. Ввиду сложности дифференцировки между церебральным сольтеряющим синдромом и СНСАГ в литературе имеются ограниченные данные о частоте развития данных состояний. Однако известно, что гипонатриемия встречается у 40–57% пациентов с САК, 13,7–51% – с ЧМТ и 12–43% – с ОНМК [30]. Терапия церебрального сольтеряющего синдрома должна включать восполнение волемического дефицита и введение препаратов натрия.

#### **Мочевыделительная система**

Кроме вышеперечисленных дизурических нарушений, у пациентов с ОЦН, особенно при наличии спинального повреждения, может развиваться дисфункция вегетативной нервной системы, ведущая к стойкому спазму сфинктера уретры. Развивающийся нейрогенный мочевой пузырь ведет к инфравезикальной обструкции с острой задержкой мочи, требующей катетеризации мочевого пузыря. На фоне нарушения уродинамики повышаются риски инфекции мочевыводящих путей, что осложняет течение ОЦН [17].

#### **Иммунная система**

Чрезмерная церебральная активация симпатoadrenalовой системы способствует сокращению селезенки, имеющей преимущественно симпатергическую иннервацию, что сопровождается выбросом нейтрофилов и повышении

ем концентрации сывороточных провоспалительных цитокинов. В дальнейшем, спустя 3–5 дней, происходит трансформация фазы активации иммунной системы в стадию иммунодепрессии, характеризующейся синтезом противовоспалительных цитокинов и снижением количества лейкоцитов [31]. Имеется предположение, что иммунодепрессия может играть важную роль в снижении тяжести нейровоспаления, повреждения гематоэнцефалического гормона и вторичного церебрального повреждения [31]. Вместе с тем фаза иммунодепрессии может играть неблагоприятную роль в развитии гнойно-септических осложнений, отягчающих течение ОЦН.

#### **Система гемостаза**

Нарушения гемостаза широко описаны при различных состояниях, сопровождающих ОЦН. Так, частота коагулопатии при тяжелой ЧМТ может достигать 60% [5]. Коагуляционные нарушения могут быть представлены как гипокоагуляцией, сопровождающейся кровотечениями, так и гиперкоагуляцией с тромбоэмболическими нарушениями [32]. Патогенез коагуляционных нарушений при ОЦН не до конца ясен. Имеется несколько гипотез, включающих гипотезы тканевого тромбопластина, протеина С, активации тромбоцитов и тромбоцитарных микрочастиц.

Ткань головного мозга богата тканевым тромбопластином (тканевой фактор свертывания, фактор свертывания III), трансмембранным гликопротеином, массивное высвобождение которых при церебральном повреждении приводит к активации внешнего пути свертывания. Тромбопластин-ассоциированная коагулопатия протекает сходно с картиной диссеминированного внутрисосудистого свертывания и включает как фазу гипокоагуляции, так и гиперкоагуляции, а также может сопровождаться тромбоцитопенией.

Протеин С является протеолитическим ферментом, синтезируемым в печени, который в условиях церебрального повреждения, сопровождающегося диссеминированным внутрисосудистым свертыванием, может чрезмерно активироваться с развитием гиперфибринолиза и повышения рисков кровотечений. В условиях гиперфибринолиза основным фибринолитическим протеином является плазмин, активирующийся из плазминогена посредством либо тканевого активатора плазминогена, либо урокиназоподобными активаторами. Последующее исто-

щение запасов протеина С, особенно в условиях дефицита витамина К, ведет к угнетению фибринолитической системы с развитием тромбоэмболических осложнений.

Также при ОЦН может наблюдаться тромбоцитопения, патогенез которой до конца не ясен [32]. Ключевую роль в активации тромбоцитов играет фактор активации тромбоцитов (1-О-гексадецил-2-ацетил-SN-глицеро-3-фосфолин), синтезируемый во многих клетках организма. Головной и спинной мозг имеют наибольшие запасы фактора активации тромбоцитов, и при гипоксическом, ишемическом, либо травматическом поражении головного мозга происходит 20-кратное возрастание его концентрации. Некоторые антагонисты фактора активации тромбоцитов в экспериментальных моделях способствовали снижению тяжести отека головного мозга, постишемической гиперемии и внутрисосудистых микротромбозов. Однако в настоящий момент недостаточно клинических данных, позволяющих судить о безопасности и эффективности данных препаратов, в том числе вследствие потенциального риска прогрессирования внутричерепных кровоизлияний при их наличии.

В условиях ОЦН на фоне активации тромбоцитов происходит активное высвобождение тромбоцитарных микрочастиц (микровезикул), мембрана которых богата факторами активации коагуляционного гемостаза, включая тканевой фактор и фосфатидилсерин. Последний является мощным катализатором коагуляции, что делает микровезикулы активатором тромбообразования. Имеются данные о повышении содержания тромбоцитарных микрочастиц в крови и спинномозговой жидкости у пациентов с ЧМТ [33].

Кроме того, активными прокоагулянтными свойствами обладают анионные фосфолипиды, обильно присутствующие в ткани головного мозга, такие как фосфатидилсерин и фосфатидилхолин, которые в норме представлены на внутреннем слое билипидной мембраны клетки. Стресс-индуцированная активация клеток приводит к экспозиции анионных фосфолипидов на внешней стороне мембраны с последующей активацией тромбина.

И гиперкоагуляция, и гипокоагуляция являются факторами вторичного церебрального повреждения, усиливающего первичное. Обильные микротромбозы в церебральном кровотоке ведут к прогрессированию ишемии головного

мозга, в то время как гипокоагуляционное состояние опасно геморрагическими осложнениями, как внутримозговыми со сдавлением паренхимы головного мозга, так и внечерепными с развитием геморрагического шока, сопровождающегося церебральной ишемией.

#### Гнойно-септические осложнения

Для течения ОЦН также характерен высокий риск гнойно-септических осложнений, отягощающих течение заболевания. Угнетение кашлевого рефлекса, аспирация содержимым ротоглотки и желудка, иммунодепрессия, искусственная вентиляция легких, инфицирование госпитальными штаммами бактерий, а также гипостаз у лежачих больных могут привести к развитию пневмонии. Пневмония развивается у 20,4% пациентов с ЧМТ [34]. Развитие внутрибольничной пневмонии значительно отягощает течение ОЦН и требует проведения комплекса мер, направленных на снижение риска её развития. Картина пневмонии характеризуется нарастанием дыхательной недостаточности, инфекционного токсикоза и очаговыми изменениями в легких.

ОЦН, сопровождающая тяжелую ЧМТ с ликвореей либо с наличием наружного вентри-

кулярного дренажа, может осложниться развитием менингита или вентрикулита, отягощающих течение ОЦН [35].

Также актуальной проблемой у пациентов с ОЦН является высокий риск развития тяжелых пролежней, которые могут осложняться их инфицированием.

Наиболее тяжелым инфекционным осложнением является сепсис, частота которого достигает 70% у пациентов с ЧМТ и значительно осложняет прогноз у пациентов с ОЦН [36].

В связи с вышеперечисленным ОЦН является состоянием, сопровождающимся высоким риском гнойно-септических осложнений, требующим проведение антибиотикопрофилактики.

#### Заключение

ОЦН является жизнеугрожающим состоянием, сопровождающимся дисфункцией многих органов и систем, отягощающей течение заболевания и повышающей риски неблагоприятного исхода. Нейрогенная органная дисфункция требует от клиницистов комплекса мер, направленных на их профилактику, а также мониторинг всех параметров для своевременного их выявления и лечения.

#### Литература:

1. Александрович Ю.С., Пшениснов К.В. Общие рекомендации по диагностике и терапии острой церебральной недостаточности в неонатальном периоде. В кн.: *Неотложная неврология новорожденных и детей раннего возраста*. Санкт-Петербург: СпецЛит, 2017. С. 11-57.
2. Шилов В.В., Александров М.В., Васильев С.А., Александрова Т.В., Черный В.С. Острая церебральная недостаточность при тяжелых отравлениях. Medline.ru. *Российский биомедицинский журнал*. 2010;11(1):315-321.
3. Белкин А.А., Зислин Б.Д., Аврамченко А.А., Алашеев А.М., Сельский Д.В., Громов В.С., Доманский Д.С., Инюшкин С.Н., Почепко Д.В., Рудник Е.И., Солдатов А.С. Синдром острой церебральной недостаточности как концепция нейрореаниматологии. *Анестезиология и реаниматология*. 2008;2:4-8.
4. Громов В.С., Левит А.Л., Белкин А.А., Шилко Ю.В., Праздничкова Е.В. Цереброкardiaльные проявления при острой церебральной недостаточности различного генеза: дифференциальная диагностика и лечебная тактика. *Патология кровообращения и кардиохирургия*. 2014;18(3):48-52. <http://doi.org/10.21688/1681-3472-2014-3-48-52>
5. Rachfalska N, Putowski Z, Krzych EJ. Distant Organ Damage in Acute Brain Injury. *Brain Sci*. 2020;10(12):1019. <http://doi.org/10.3390/brainsci10121019>
6. Battaglini D, Robba C, Lopes da Silva A, Dos Santos Samary C, Leme Silva P, Dal Pizzol F, Pelosi P, Rocco PRM. Brain-heart interaction after acute ischemic stroke. *Crit Care*. 2020;24(1):163. <http://doi.org/10.1186/s13054-020-02885-8>
7. Amin HZ, Amin LZ, Pradipta A. Takotsubo Cardiomyopathy: A Brief Review. *J Med Life*. 2020;13(1):3-7. <http://doi.org/10.25122/jml-2018-0067>
8. Biering-Sørensen F, Biering-Sørensen T, Liu N, Malmqvist L, Wecht JM, Krassioukov A. Alterations in cardiac autonomic control in spinal cord injury. *Auton Neurosci*. 2018;209:4-18. <http://doi.org/10.1016/j.autneu.2017.02.004>
9. Chen Z, Venkat P, Seyfried D, Chopp M, Yan T, Chen J. Brain-Heart Interaction: Cardiac Complications After Stroke. *Circ Res*. 2017;121(4):451-468. <http://doi.org/10.1161/CIRCRESA-NA.117.311170>
10. Dinallo S, Waseem M. *Cushing Reflex*. 2021 Mar 31. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2021.
11. Towner JE, Rahmani R, Zammit CG, Khan IR, Paul DA, Bhalla T, Roberts DE. Mechanical ventilation in aneurysmal subarachnoid hemorrhage: systematic review and recommendations. *Crit Care*. 2020;24(1):575. <http://doi.org/10.1186/s13054-020-03269-8>
12. Finsterer J. Neurological Perspectives of Neurogenic Pulmonary Edema. *Eur Neurol*. 2019;81(1-2):94-102. <http://doi.org/10.1159/000500139>
13. Lin X, Xu Z, Wang P, Xu Y, Zhang G. Role of PiCCO monitoring for the integrated management of neurogenic pulmonary edema following traumatic brain injury: A case report and literature review. *Exp Ther Med*. 2016;12(4):2341-2347. <http://doi.org/10.3892/etm.2016.3615>
14. Zhao J, Xuan NX, Cui W, Tian BP. Neurogenic pulmonary edema following acute stroke: The progress and perspective. *Biomed Pharmacother*. 2020;130:110478. <http://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110478>
15. Alain BB, Wang YJ. Cushing's ulcer in traumatic brain injury. *Chin J Traumatol*. 2008;11(2):114-119. [http://doi.org/10.1016/s1008-1275\(08\)60024-3](http://doi.org/10.1016/s1008-1275(08)60024-3)
16. Ali D, Barra ME, Blunck J, Brophy GM, Brown CS, Caylor M, Clark SL, Hensler D, Jones M, Lamer-Rosen A, Levesque M, Mahmoud LN, Mahmoud SH, May C, Nguyen K, Panos N, Roels C, Shewmaker J, Smetana K, Traeger J, Shadler A, Cook AM. Stress-Related Gastrointestinal Bleeding in Patients with Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage: A Multicenter Retrospective Observational Study. *Neurocrit Care*. 2021;35(1):39-45. <http://doi.org/10.1007/s12028-020-01137-5>
17. Panicker JN, Sakakibara R. Lower Urinary Tract and Bowel Dysfunction in Neurologic Disease. *Continuum (Minneapolis)*. 2020;26(1):178-199. <http://doi.org/10.1212/CON.0000000000000824>

18. Solomon NP, Dietsch AM, Dietrich-Burns K. Predictors of swallowing outcomes in patients with combat-injury related dysphagia. *J Trauma Acute Care Surg.* 2020;89(2S Suppl 2):S192-S199. <http://doi.org/10.1097/TA.0000000000002623>
19. Лейдерман И.Н., Белкин А.А., Рахимов Р.Т., Липовка Н.С., Белкин В.А. Особенности нутритивного статуса и белково-энергетического обмена пациентов, перенесших критическое состояние церебрального генеза, на этапе ОРИТ-специализированного центра медицинской реабилитации. *Вестник Уральской медицинской академической науки.* 2018;15(1):12-19. <http://doi.org/10.22138/2500-0918-2018-15-1-12-19>
20. Tsai YC, Wu SC, Hsieh TM, Liu HT, Huang CY, Chou SE, Su WT, Hsu SY, Hsieh CH. Association of Stress-Induced Hyperglycemia and Diabetic Hyperglycemia with Mortality in Patients with Traumatic Brain Injury: Analysis of a Propensity Score-Matched Population. *Int J Environ Res Public Health.* 2020;17(12):4266. <http://doi.org/10.3390/ijerph17124266>
21. Rudolph AM. Cerebral glucose deficiency versus oxygen deficiency in neonatal encephalopathy. *J Neonatal Perinatal Med.* 2018;11(2):115-120. <http://doi.org/10.3233/NPM-17109>
22. Pegoli M, Zurlo Z, Bilotta F. Temperature management in acute brain injury: A systematic review of clinical evidence. *Clin Neurol Neurosurg.* 2020;197:106165. <http://doi.org/10.1016/j.clineuro.2020.106165>
23. Gasco V, Cambria V, Bioletto F, Ghigo E, Grottolli S. Traumatic Brain Injury as Frequent Cause of Hypopituitarism and Growth Hormone Deficiency: Epidemiology, Diagnosis, and Treatment. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2021;12:634415. <http://doi.org/10.3389/fendo.2021.634415>
24. Fan E, Skippen PW, Sargent MA, Cochrane DD, Chanoine JP. Central adrenal insufficiency following traumatic brain injury: a missed diagnosis in the critically injured. *Childs Nerv Syst.* 2017;33(12):2205-2207. <http://doi.org/10.1007/s00381-017-3536-5>
25. Tudor RM, Thompson CJ. Posterior pituitary dysfunction following traumatic brain injury: review. *Pituitary.* 2019;22(3):296-304. <http://doi.org/10.1007/s11102-018-0917-z>
26. Gempeler A, Orrego-González E, Hernandez-Casanas A, Castro AM, Aristizabal-Mayor JD, Mejia-Mantilla JH. Incidence and Effect of Diabetes Insipidus in the Acute Care of Patients with Severe Traumatic Brain Injury. *Neurocrit Care.* 2020;33(3):718-724. <http://doi.org/10.1007/s12028-020-00955-x>
27. Журавков, Ю.Л., Королева А.А. Гипонатриемия при острой церебральной недостаточности. *Военная медицина.* 2014;4(33):5-6.
28. Puma A, Brugnara M, Cavarzere P, Zaffanello M, Piacentini G, Gaudio R. Case Report: Long-Term Tolvaptan Treatment in a Child With SI-ADH and Suprasellar Arachnoid Cyst. *Front Pediatr.* 2021;9:684131. <http://doi.org/10.3389/fped.2021.684131>
29. Tenny S, Thorell W. *Cerebral Salt Wasting Syndrome.* 2021. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2021.
30. Cui H, He G, Yang S, Lv Y, Jiang Z, Gang X, Wang G. Inappropriate Antidiuretic Hormone Secretion and Cerebral Salt-Wasting Syndromes in Neurological Patients. *Front Neurosci.* 2019;13:1170. <http://doi.org/10.3389/fnins.2019.01170>
31. Needham EJ, Helmy A, Zanier ER, Jones JL, Coles AJ, Menon DK. The immunological response to traumatic brain injury. *J Neuroimmunol.* 2019;332:112-125. <http://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2019.04.005>
32. Fletcher-Sandersjö A, Thelin EP, Maegele M, Svensson M, Bellander BM. Time Course of Hemostatic Disruptions After Traumatic Brain Injury: A Systematic Review of the Literature. *Neurocrit Care.* 2021;34(2):635-656. <http://doi.org/10.1007/s12028-020-01037-8>
33. Maegele M. Coagulopathy after traumatic brain injury: incidence, pathogenesis, and treatment options. *Transfusion.* 2013;53 Suppl 1:28S-37S. <http://doi.org/10.1111/trf.12033>
34. Robba C, Rebora P, Banzato E, Wiegers EJA, Stocchetti N, Menon DK, Citerio G; Collaborative European NeuroTrauma Effectiveness Research in Traumatic Brain Injury Participants and Investigators. Incidence, Risk Factors, and Effects on Outcome of Ventilator-Associated Pneumonia in Patients With Traumatic Brain Injury: Analysis of a Large, Multicenter, Prospective, Observational Longitudinal Study. *Chest.* 2020;158(6):2292-2303. <http://doi.org/10.1016/j.chest.2020.06.064>
35. Lenski M, Biczok A, Neufischer K, Tonn JC, Briegel J, Thon N. Significance of cerebrospinal fluid inflammatory markers for diagnosing external ventricular drain-associated ventriculitis in patients with severe traumatic brain injury. *Neurosurg Focus.* 2019;47(5):E15. <http://doi.org/10.3171/2019.8.FOCUS19407>
36. Anderson D, Kutsogiannis DJ, Sligl WI. Sepsis in Traumatic Brain Injury: Epidemiology and Outcomes. *Can J Neurol Sci.* 2020;47(2):197-201. <http://doi.org/10.1017/cjn.2019.320>

## References:

1. Aleksandrovich YuS, Pshenishov KV. Obshchie rekomendatsii po diagnostike i terapii ostroy tserebral'noy nedostatochnosti v neonatal'nom periode. V kn.: *Neotlozhnaya nevrologiya novorozhdennykh i detey rannego vozrasta.* Saint Petersburg: SpetsLit, 2017:11-57. (In Russ).
2. Shilov VV, Alexandrov MV, Vasilev SA, Aleksandrova TV, Chernyi VS. Acute cerebral failure at the serious poisoning. *Medline.ru. Rossiyskiy biomeditsinskiy zhurnal.* 2010;11(1):315-321 (In Russ).
3. Belkia AA, Zislín BD, Avramchenko AA, Alasheyev AM, Belsky DV, Gromov VS, Domansky DS, Inyushkin SN, Pochepko DV, Rudnik Ye-Ni, Soldatov AS. Acute cerebral insufficiency syndrome as a concept of neuro-resuscitation. *Russian journal of Anaesthesiology and Reanimatology (Anesteziologiya i Reanimatologiya).* 2008;2:4-8. (In Russ).
4. Gromov VS, Levit AL, Belkin AA, Shilko YuV, Prazdnichkova YeV. Cerebrocardial manifestations in patients with acute cerebral failure of different origin: differential diagnosis and therapeutic strategy (clinical observations). *Circulation pathology and cardiac surgery.* 2014;18(3):48-52. <http://doi.org/10.21688/1681-3472-2014-3-48-52> (In Russ).
5. Rachfalska N, Putowski Z, Krzych EJ. Distant Organ Damage in Acute Brain Injury. *Brain Sci.* 2020;10(12):1019. <http://doi.org/10.3390/brainsci10121019>
6. Battaglini D, Robba C, Lopes da Silva A, Dos Santos Samary C, Leme Silva P, Dal Pizzol F, Pelosi P, Rocco PRM. Brain-heart interaction after acute ischemic stroke. *Crit Care.* 2020;24(1):163. <http://doi.org/10.1186/s13054-020-02885-8>
7. Amin HZ, Amin LZ, Pradipta A. Takotsubo Cardiomyopathy: A Brief Review. *J Med Life.* 2020;13(1):3-7. <http://doi.org/10.25122/jml-2018-0067>
8. Biering-Sørensen F, Biering-Sørensen T, Liu N, Malmqvist L, Wecht JM, Krassioukov A. Alterations in cardiac autonomic control in spinal cord injury. *Auton Neurosci.* 2018;209:4-18. <http://doi.org/10.1016/j.autneu.2017.02.004>
9. Chen Z, Venkat P, Seyfried D, Chopp M, Yan T, Chen J. Brain-Heart Interaction: Cardiac Complications After Stroke. *Circ Res.* 2017;121(4):451-468. <http://doi.org/10.1161/CIRCRESA-HA.117.311170>
10. Dinallo S, Waseem M. *Cushing Reflex.* 2021 Mar 31. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2021.
11. Towner JE, Rahmani R, Zammit CG, Khan IR, Paul DA, Bhalla T, Roberts DE. Mechanical ventilation in aneurysmal subarachnoid hemorrhage: systematic review and recommendations. *Crit Care.* 2020;24(1):575. <http://doi.org/10.1186/s13054-020-03269-8>
12. Finsterer J. Neurological Perspectives of Neurogenic Pulmonary Edema. *Eur Neurol.* 2019;81(1-2):94-102. <http://doi.org/10.1159/000500139>
13. Lin X, Xu Z, Wang P, Xu Y, Zhang G. Role of PiCCO monitoring for the integrated management of neurogenic pulmonary edema following traumatic brain injury: A case report and literature review. *Exp Ther Med.* 2016;12(4):2341-2347. <http://doi.org/10.3892/etm.2016.3615>
14. Zhao J, Xuan NX, Cui W, Tian BP. Neurogenic pulmonary edema following acute stroke: The progress and perspective. *Biomed Pharmacother.* 2020;130:110478. <http://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110478>
15. Alain BB, Wang YJ. Cushing's ulcer in traumatic brain injury. *Chin J Traumatol.* 2008;11(2):114-119. [http://doi.org/10.1016/s1008-1275\(08\)60024-3](http://doi.org/10.1016/s1008-1275(08)60024-3)

16. Ali D, Barra ME, Blunck J, Brophy GM, Brown CS, Caylor M, Clark SL, Hensler D, Jones M, Lamer-Rosen A, Levesque M, Mahmoud LN, Mahmoud SH, May C, Nguyen K, Panos N, Roels C, Shewmaker J, Smetana K, Traeger J, Shadler A, Cook AM. Stress-Related Gastrointestinal Bleeding in Patients with Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage: A Multicenter Retrospective Observational Study. *Neurocrit Care*. 2021;35(1):39-45. <http://doi.org/10.1007/s12028-020-01137-5>
17. Panicker JN, Sakakibara R. Lower Urinary Tract and Bowel Dysfunction in Neurologic Disease. *Continuum (Minneapolis)*. 2020;26(1):178-199. <http://doi.org/10.1212/CON.0000000000000824>
18. Solomon NP, Dietsch AM, Dietrich-Burns K. Predictors of swallowing outcomes in patients with combat-injury related dysphagia. *J Trauma Acute Care Surg*. 2020;89(2S Suppl 2):S192-S199. <http://doi.org/10.1097/TA.0000000000002623>
19. Leiderman IN, Belkin AA, Rakhimov RT, Lipovka NS, Belkin VA. Key peculiarities of protein-energy metabolism and nutritional status impairment of cerebral ICU patients during early rehabilitation period in specialized medical center. *Journal of urol medical academic science*. 2018;15(1):12-19. (In Russ).
20. Tsai YC, Wu SC, Hsieh TM, Liu HT, Huang CY, Chou SE, Su WT, Hsu SY, Hsieh CH. Association of Stress-Induced Hyperglycemia and Diabetic Hyperglycemia with Mortality in Patients with Traumatic Brain Injury: Analysis of a Propensity Score-Matched Population. *Int J Environ Res Public Health*. 2020;17(12):4266. <http://doi.org/10.3390/ijerph17124266>
21. Rudolph AM. Cerebral glucose deficiency versus oxygen deficiency in neonatal encephalopathy. *J Neonatal Perinatal Med*. 2018;11(2):115-120. <http://doi.org/10.3233/NPM-17109>
22. Pegoli M, Zurlo Z, Bilotta F. Temperature management in acute brain injury: A systematic review of clinical evidence. *Clin Neurol Neurosurg*. 2020;197:106165. <http://doi.org/10.1016/j.clineuro.2020.106165>
23. Gasco V, Cambria V, Bioletto F, Ghigo E, Grotoli S. Traumatic Brain Injury as Frequent Cause of Hypopituitarism and Growth Hormone Deficiency: Epidemiology, Diagnosis, and Treatment. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2021;12:634415. <http://doi.org/10.3389/fendo.2021.634415>
24. Fan E, Skippen PW, Sargent MA, Cochrane DD, Chanoine JP. Central adrenal insufficiency following traumatic brain injury: a missed diagnosis in the critically injured. *Childs Nerv Syst*. 2017;33(12):2205-2207. <http://doi.org/10.1007/s00381-017-3536-5>
25. Tudor RM, Thompson CJ. Posterior pituitary dysfunction following traumatic brain injury: review. *Pituitary*. 2019;22(3):296-304. <http://doi.org/10.1007/s11102-018-0917-z>
26. Gempeler A, Orrego-González E, Hernandez-Casas A, Castro AM, Aristizabal-Mayor JD, Mejia-Mantilla JH. Incidence and Effect of Diabetes Insipidus in the Acute Care of Patients with Severe Traumatic Brain Injury. *Neurocrit Care*. 2020;33(3):718-724. <http://doi.org/10.1007/s12028-020-00955-x>
27. Zhuravkov YuL, Koroleva AA. Hyponatremia in acute cerebral insufficiency. *Military medicine*. 2014;4(33):5-6. (In Russ).
28. Puma A, Brugnara M, Cavarzere P, Zaffanello M, Piacentini G, Gaudino R. Case Report: Long-Term Tolvaptan Treatment in a Child With SIADH and Suprasellar Arachnoid Cyst. *Front Pediatr*. 2021;9:684131. <http://doi.org/10.3389/fped.2021.684131>
29. Tenny S, Thorell W. *Cerebral Salt Wasting Syndrome*. 2021. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021.
30. Cui H, He G, Yang S, Lv Y, Jiang Z, Gang X, Wang G. Inappropriate Antidiuretic Hormone Secretion and Cerebral Salt-Wasting Syndromes in Neurological Patients. *Front Neurosci*. 2019;13:1170. <http://doi.org/10.3389/fnins.2019.01170>
31. Needham EJ, Helmy A, Zanier ER, Jones JL, Coles AJ, Menon DK. The immunological response to traumatic brain injury. *J Neuroimmunol*. 2019;332:112-125. <http://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2019.04.005>
32. Fletcher-Sandersjö A, Thelin EP, Maegele M, Svensson M, Bellander BM. Time Course of Hemostatic Disruptions After Traumatic Brain Injury: A Systematic Review of the Literature. *Neurocrit Care*. 2021;34(2):635-656. <http://doi.org/10.1007/s12028-020-01037-8>
33. Maegele M. Coagulopathy after traumatic brain injury: incidence, pathogenesis, and treatment options. *Transfusion*. 2013;53 Suppl 1:28S-37S. <http://doi.org/10.1111/trf.12033>
34. Robba C, Rebora P, Banzato E, Wieggers EJA, Stocchetti N, Menon DK, Citerio G; Collaborative European NeuroTrauma Effectiveness Research in Traumatic Brain Injury Participants and Investigators. Incidence, Risk Factors, and Effects on Outcome of Ventilator-Associated Pneumonia in Patients With Traumatic Brain Injury: Analysis of a Large, Multicenter, Prospective, Observational Longitudinal Study. *Chest*. 2020;158(6):2292-2303. <http://doi.org/10.1016/j.chest.2020.06.064>
35. Lenski M, Biczok A, Neufischer K, Tonn JC, Briegel J, Thon N. Significance of cerebrospinal fluid inflammatory markers for diagnosing external ventricular drain-associated ventriculitis in patients with severe traumatic brain injury. *Neurosurg Focus*. 2019;47(5):E15. <http://doi.org/10.3171/2019.8.FOCUS19407>
36. Anderson D, Kutsogiannis DJ, Sliag WI. Sepsis in Traumatic Brain Injury: Epidemiology and Outcomes. *Can J Neurol Sci*. 2020;47(2):197-201. <http://doi.org/10.1017/cjn.2019.320>

## Сведения об авторах

**Задворнов Алексей Анатольевич**, кандидат медицинских наук, врач анестезиолог-реаниматолог отделения реанимации и интенсивной терапии новорожденных ГАУЗ «Кубзбасская областная детская клиническая больница им. Ю. А. Атаманова» (650056, Россия, г. Кемерово, ул. Ворошилова, д. 21).

**Вклад в статью:** анализ источников литературы и написание статьи.

**ORCID:** 0000-0001-5549-873x

**Григорьев Евгений Валерьевич**, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой анестезиологии, реаниматологии, травматологии и ортопедии ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (650056, Россия, г. Кемерово, ул. Ворошилова, д. 22а).

**Вклад в статью:** анализ источников литературы и утверждение текста статьи.

**ORCID:** 0000-0001-8370-3083

Статья поступила: 25.05.2022 г.

Принята в печать: 31.08.2022 г.

Контент доступен под лицензией CC BY 4.0.

## Authors

**Dr. Alexey A. Zadornov**, MD, PhD, anaesthesiologist and critical care physician, Neonatal Intensive Care Unit, Kuzbass Regional Children's Clinical Hospital (21, Voroshilova Street, Kemerovo, 650056, Russian Federation).

**Contribution:** performed literature search and analysis; wrote the manuscript.

**ORCID:** 0000-0001-5549-873x

**Prof. Evgeny V. Grigoriev**, MD, DSc, Professor, Head of the Department of Anesthesiology, Critical Care Medicine, Traumatology and Orthopaedics, Kemerovo State Medical University (22a, Voroshilova Street, Kemerovo, 650056, Russian Federation).

**Contribution:** wrote the manuscript.

**ORCID:** 0000-0001-8370-3083

Received: 25.05.2022

Accepted: 31.08.2022

Creative Commons Attribution CC BY 4.0.

УДК [615.375:616.24-08]:578.834.1  
<https://doi.org/10.23946/2500-0764-2022-7-3-74-84>

# ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ИММУНОСУПРЕССОРОВ И ИХ АЭРОЗОЛЬНОЙ ДОСТАВКИ В ЛЕГКИЕ ПРИ ЛЕЧЕНИИ COVID-19 (АНАЛИТИЧЕСКИЙ ОБЗОР)

КОБЫЛЯНСКИЙ В.И. \*

ФГБУ «Научно-исследовательский институт пульмонологии Федерального медико-биологического агентства России», г. Москва, Россия

## Резюме

Одним из приоритетных направлений современной медицины является повышение эффективности лечения COVID-19, являющегося причиной тяжелых осложнений, часто обуславливающих летальный исход. С учетом патофизиологических особенностей заболевания, характеризующегося частым наличием гипериммунного ответа на патоген, определённый потенциал в этом плане заложен в средствах иммуносупрессивного действия (СИСД). Наиболее перспективными из них признаны иммунобиологические препараты, обладающие прецизионным иммуносупрессивным действием, к которым относятся моноклональные антитела (МКАТ). Однако появились единичные работы, предлагающие использование цитостатиков, в том числе и в ингаляционном виде, от применения которых с целью лечения воспаления дыхательных путей (ДП), как хорошо известно, отказались еще в 1990-е годы в силу их малой эффективности и сопряженности с целым рядом грозных побочных эффектов. Определение целесообразности использования данной группы препаратов с современных позиций – цель обзора. Рассмотрены возможности и некоторых

других СИСД, в том числе и иммунобиологических препаратов, составляющих тренд в современной медицине. Дан анализ эффективности воздействия различных подгрупп СИСД, в том числе и при ингаляционном их введении в ДП. Отражены методы и подходы их использования, преимущества и недостатки, оценка целесообразности и перспективы их применения. Эффективность цитостатиков и ингибиторов кальциневрина при лечении воспаления ДП при COVID-19 остаётся не подтвержденной и бесперспективной. Перспективными средствами в этом плане являются биологические препараты, включая моноклональные антитела и средства пуринаргической регуляции.

**Ключевые слова:** COVID-19, воспаление, цитокины, цитостатики, ингибиторы кальциневрина, иммуносупрессоры, моноклональные антитела, пуринаргическая регуляция, аэрозоль, регуляторные Т-клетки.

## Конфликт интересов

Автор декларирует отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

## Источник финансирования

Собственные средства.

## Для цитирования:

Кобылянский В.И. Возможности использования иммуносупрессоров и их аэрозольной доставки в легкие при лечении COVID-19 (аналитический обзор). *Фундаментальная и клиническая медицина*. 2022;7(3): 74-84. <https://doi.org/10.23946/2500-0764-2022-7-3-74-84>

## \*Корреспонденцию адресовать:

Кобылянский Вячеслав Иванович, 115682, Россия, г. Москва, Ореховый б-р, д. 28, E-mail: [kobylyansky@mail.ru](mailto:kobylyansky@mail.ru)  
© Кобылянский В.И.

## REVIEW ARTICLE

# IMMUNOSUPPRESSIVE DRUGS AND THEIR AEROSOL DELIVERY FOR COVID-19 TREATMENTS

VYACHESLAV I. KOBLYANSKY \*

Research Institute of Pulmonology, Federal Medical and Biological Agency of Russian Federation, Moscow, Russian Federation

## Abstract

Despite numerous efforts of healthcare, the incidence of COVID-19 and its fatal complications remains unacceptably high. As COVID-19 pathophysiology is notable for an uncurbed immune response, its treatment protocols routinely include immunosuppressive drugs such as corticosteroids, cytostatic drugs, calcineurin inhibitors, and monoclonal antibodies. Here we review the efficacy of the latter 3 drug classes, in particular inhalation preparations, in COVID-19 treatment and SARS-CoV-2 elimination as well as their potential advantages and drawbacks. Efficacy of cytostatic drugs

and calcineurin inhibitors in the treatment of airway inflammation in COVID-19 remains unconfirmed. Promising agents in this regard are biologics, including monoclonal antibodies and purinergic agents.

**Keywords:** COVID-19, inflammation, cytokines, cytostatic drugs, calcineurin inhibitors, immunosuppressive drugs, monoclonal antibodies, purinergic agents, aerosols, regulatory T cells.

### Conflict of Interest

None declared.

### Funding

There was no funding for this project.

[◀ English](#)

### For citation:

Vyacheslav I. Koblyansky. Immunosuppressive drugs and their aerosol delivery for COVID-19 treatment. *Fundamental and Clinical Medicine*. (In Russ.). 2022;7(3): 74-84. <https://doi.org/10.23946/2500-0764-2022-7-3-74-84>

### \*Corresponding author:

Dr. Vyacheslav I. Koblyansky, 28, Orekhovy Boulevard, Moscow, 115682, Russian Federation, E-mail: [koblyansky@mail.ru](mailto:koblyansky@mail.ru)  
© Vyacheslav I. Koblyansky

## Введение

Начиная с декабря 2019 года мир поразила пандемия COVID-19, вызванная вирусом тяжелого острого респираторного синдрома (SARS-CoV-2). Отсутствие специфического противовирусного лечения COVID-19 и способность SARS-CoV-2 вызывать тяжелую иммунно-воспалительную реакцию обуславливает трудно контролируемое лечение, длительную госпитализацию и высокий уровень смертности. Характерной особенностью патогенеза COVID-19 является повышение уровня цитокинов, нередко до критического уровня, что образно еще называют «цитокиновым штормом» [1, 2]. При этом подобное состояние обуславливает системное повреждение микрососудов с полиорганной недостаточностью и выраженный острый респираторный дистресс-синдром с высокой летальностью [3]. Более 50% пациентов с COVID-19 нуждались в респираторной поддержке из-за подобного иммунного ответа, предрасполагающего к развитию тяжелой рас-

пространенной пневмонии [4]. Поэтому стратегия лечения COVID-19, помимо противовирусного, предусматривает направленность на купирование медиаторов воспаления и требует совершенствования, так как имеющиеся способы и подходы не удовлетворяют клиницистов.

С этой позиции определенный интерес представляют средства разного механизма действия, но одной направленности, снижающие гипериммунную реакцию со стороны органа-мишени на патоген, которая имеет место при COVID-19. Учитывая общую направленность всех этих средств на ингибирование гипериммунного ответа, они в рабочем порядке объединены в общую группу средств иммуносупрессорного действия (СИСД). Имеются данные, что подобные средства снижают уровень интерлейкинов (ИЛ) и купируют T2 воспаление дыхательных путей (ДП), в частности, при бронхиальной астме. Часть из них действует как антипролиферативно, блокируя процессы репликации, так и иммуносупрессивно, ока-

зывая воздействие на Т- и В-лимфоциты. К ним относят цитостатики. Часть – ингибирует активность кальциневрина, передающего сигнал от Т-клеточного рецептора цитокиновым промоторам. Часть – способна с высокой степенью специфичности связываться с антигеном и характерно взаимодействовать с иммунной системой, адресно снижая ее активность. Её представляют моноклональные антитела (МКАТ). Часть – обладает возможностями вмешиваться в передачу внутриклеточных сигналов и депрессивно влиять на активацию иммукомпетентных клеток, например, средства пуринергической регуляции (СПР). И если анализ возможностей использования некоторых СИСД недавно проведен относительно тяжелой бронхиальной астмы [5], то касательно COVID-19 он не осуществлялся.

Цель обзора – анализ эффективности СИСД разного механизма действия и их аэрозольной доставки в легкие при лечении COVID-19.

Для анализа использовались полнотекстовые литературные источники, включая оригинальные исследования и обзорные работы, найденные в базах данных PubMed, Embase, Cochrane, Index Medicus, открытых источниках по патентам, а также Clinical Trials.gov с использованием таких ключевых слов и словосочетаний, как COVID-19, воспаление, цитокины, цитостатики, ингибиторы кальциневрина, иммуносупрессоры, моноклональные антитела, пуринергическая регуляция, аэрозоль, регуляторные Т-клетки. В анализ были включены 55 публикаций.

#### **Средства иммуносупрессорного действия и их аэрозольная доставка в легкие при лечении COVID-19**

Как известно, COVID-19 представляет собой двухфазное заболевание. Ранняя фаза характеризуется интенсивной репликацией вируса SARS-CoV-2 на фоне широкой экспрессии основных связанных с инфекцией генов человека ACE2, TMPRSS2 и CTSB/L в тканях респираторного и желудочно-кишечного тракта. Последующая, поздняя фаза характеризуется неконтролируемым гипервоспалительным состоянием (называемым еще образно «цитокиновым штормом») из-за широкого органотропизма SARS-CoV-2. Это состояние характеризуется гиперцитокинемией, включая фактор некроза опухоли- $\alpha$ , гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор, ИЛ-1 и ИЛ-6, интерферон (ИФН)- $\gamma$ , и повреждением

тканей, а также активацией системы свертывания, приводящей к протромботическому состоянию. Основными составляющими подхода к решению проблемы лечения COVID-19 являются прекращение прогрессирования репликации вируса SARS-CoV-2 и раннее купирование его гипервоспалительной фазы, определяющей тяжесть состояния пациента и летальность. Однако лечение противовоспалительными препаратами не приносит ожидаемого эффекта и может сопровождаться серьезными побочными эффектами. В этом плане представляют интерес СИСД, представленные различными группами препаратов.

#### **Цитостатики и ингибиторы кальциневрина**

Использование в пульмонологии СИСД разных механизмов их воздействия с целью контроля над воспалительным процессом, который может протекать и с гипериммунным состоянием, началось еще с 1970 года прошлого столетия с цитостатиков и ингибиторов кальциневрина, использующихся традиционно для лечения злокачественных заболеваний и в трансплантологии [6]. К ним, например, можно отнести, циклофосфан, мелфалан и циклоспорин. Однако потенциал их оказался явно недостаточным и не позволял компенсировать их побочные эффекты, одним из которых является выраженная карциногенная активность [7]. С целью повышения безопасности их использования разработаны технологии их аэрозольной доставки в легкие для повышения локальных концентраций данных средств и снижения эффективных доз. Данные технологии совершенствовались разными путями на протяжении десятилетий. Так, препараты переводились из гидрофобного состояния, характеризующегося низкой биодоступностью, в гидрофильное состояние, обеспечивающее проникновение действующего вещества через клеточные мембраны [8]. С той же целью применялись и другие сольбилизаторы, такие как пропиленгликоль или этанол [9]. Однако они вызывают гипергидратацию слизистой оболочки ДП, а также подавляют активность ресничек, что нарушает мукоцилиарный клиренс и ведет к развитию бронхолегочной патологии [8–11]. Поэтому предложены другие составы аэрозолей, предусматривающие применение липосом или наноносителей, что исключает эти негативные влияния, а также способствует улучшению степени проникновения и равномерности отложения ингалирован-

ного препарата в ДП, его пролонгированному высвобождению и действию, а следовательно, и повышению эффективности лечения [12, 13]. Эффективность аэрозолей цитостатиков может быть повышена также путем предварительной оптимизации бронхиальной проходимости и/или выбора режима ингаляции на основании параметров дыхания пациента и работы ингалятора [14, 15]. Однако, несмотря и на эти усовершенствования, осталась неподтвержденной эффективность лечения воспаления в ДП с помощью цитостатиков и ингибиторов кальциневрина, в частности, при бронхиальной астме [5]. С начала 2000-х годов исследования по воздействию цитостатиков и ингибиторов кальциневрина в области пульмонологии были прекращены в силу их бесперспективности. Исключение составили единичные работы, в которых был отражен положительный эффект при их использовании для лечения тяжелой астмы [16-18]. По мнению авторов этой работы, положительный эффект достигался 100-кратным уменьшением эффективной дозы препаратов за счет простого линейного разведения их физиологическим раствором, так как, по их представлению, этим нивелируется вредоносный эффект обычной дозы и сохраняется иммуносупрессорный эффект, который нарастает. Вместе с тем анализ свидетельствует о наличии в этих работах существенных артефактов. Во-первых, не учитывается целый ряд ключевых рассмотренных выше факторов, влияющих на эффективность воздействия ингалированного препарата (аэродинамические свойства воздухоносных путей и ингалируемого аэрозоля, физико-химические свойства ингалянта, режим ингаляции по дыханию и работе ингалятора, характер патологии и др.). Во-вторых, отсутствуют адекватные группы сравнения, не обосновано формирование и применение доз препаратов, используемых на уровне гомеопатических, не принятых традиционной наукой, а также имеет место значительный их необъяснимый разброс [16-18]. Поэтому наличие положительного результата в данном случае, когда следовало бы ожидать обратного, в том числе и относительно результатов более совершенных в методологическом и технологическом плане работах, вызывает соответствующие сомнения. Однако подобный подход с использованием низких доз цитостатиков и наличием все тех же недостатков был (также) предложен авторами данных работ и в последующем при

лечении воспаления ДП, но при COVID-19, целесообразность чего вызывает также весомые сомнения [19]. Попытки использования цитостатиков и ингибиторов кальциневрина при COVID-19 в аспекте предполагаемого иммуносупрессорного эффекта привлекательна, учитывая и то, что с экономических позиций цитостатики и ингибиторы кальциневрина – более дешёвая группа препаратов относительно других СИСД. Но при этом нельзя не согласиться с мнением исследователей, что ценовой критерий при отсутствии должного эффекта при их использовании теряет смысл, тем более, что он априори не может быть главенствующим при такой тяжелой, смертельно опасной патологии, как COVID-19, когда на фоне агрессивного воспалительного ответа соотношение польза/риск является определяющим [20-23]. При этом необходимо иметь в виду, что эффект воздействия при использовании цитостатиков при COVID-19, согласно их фармакодинамике и, в отличие от бронхиальной астмы, направлен на две фазы заболевания. Прежде всего, он касается ранней его фазы и ориентирован на ингибирование репликации вируса, что требует значительного повышения их концентрации, сопряженного с серьёзными побочными эффектами [20-22]. Тогда как при подходе с использованием, наоборот, низких доз цитостатиков и ингибиторов кальциневрина подобный целевой лечебный эффект, по сути, исключается. При этом отметим, что данная лечебная компонента при бронхиальной астме не предусмотрена, поскольку патогенез при данном страдании иной. Мало того, при воздействии низких доз данных препаратов на поздней фазе COVID-19, характеризующейся неконтролируемым гипервоспалительным состоянием, как правило, указывают на истощение Тreg клеток, что обуславливает гипериммунный ответ, не соответствующий цели, предусматривающей купирование гипериммунного состояния. При этом, несмотря на снижение доз цитостатиков, наряду с возможным отдаленным риском карциногенного эффекта, особенно при использовании их ингаляционным путем, остаются те же недостатки, которые имеют место при попытках использовать цитостатики ингаляционным путем с целью терапии бронхиальной астмы [7]. На них останавливаться не будем, так как они проанализированы и отражены в литературе и выше [5].

Некоторые подобные недостатки имеет также экспериментальная часть работы, прове-

денная на небольшом числе наблюдений и декларирующая предположения, гипотезы и не нашедшая подтверждения у других исследователей [23–24]. В отличие от неё, практически все работы, посвященные воздействию небольших доз цитостатиков, указывают на их истощающее регуляторные Т-клетки влияние, которое способствует повышенному иммунному ответу, что не соответствует цели терапии [23–25].

Этому соответствовало отсутствие клинических доказательств эффективности данных препаратов при цитокиновом шторме или остром респираторном дистресс-синдроме, обуславливающих тяжесть заболевания, как и при лечении бронхиальной астмы, несмотря на то, что она также сопровождается цитокинемией, но в меньшей степени, чем при COVID-19 [5, 25].

Поэтому попытки некоторых исследователей использовать цитостатики при COVID-19 – более тяжелой и проблематичной патологии, чем астма, являются явно нецелесообразными [26]. В этом случае создается весьма неоптимальная клиническая ситуация, когда при уменьшении лечебной компоненты воздействия цитостатика (на начальную и наличие некоторого обратного его эффекта на позднюю фазу), по сути, на обеих фазах патогенеза COVID-19, связанного с необоснованным, более чем 100-кратным уменьшением его эффективной дозы, сохраняются побочные эффекты, в частности, карциногенный.

#### **Моноклональные антитела и средства пуринергической регуляции**

Вместе с тем необходимо иметь в виду, что за последние годы появились средства прямую и специфически блокирующие или модифицирующие действие провоспалительных ИЛ, оказывая прецизионный гипоиммунный эффект, в частности, *моноклональные антитела* [27]. Это предусматривает купирование T2 воспаления и повышение эффективности лечения. Антагонисты ИЛ рецепторов относительно хорошо переносятся, но противопоказаны при гиперчувствительности к ним и лицам с нарушениями функции печени. Использование ИЛ имеет некоторую общность для больных астмой и COVID-19, и здесь просматривается определенная логика, учитывая наличие известной общности в иммунном ответе. Последняя проявляется в существенном повышении при обоих заболеваниях уровня ИЛ, играющих ключевую роль в патогенезе T2 воспаления, ха-

рактерного для этих заболеваний. На это указывает тот факт, что предполагаемая предрасположенность к COVID-19 у больных бронхиальной астмой не наблюдалась. По крайней мере, бронхиальная астма не была идентифицирована как фактор риска тяжелого COVID-19 в серии случаев из Китая [28]. Не исключено также, что это является следствием того, что препараты, входящие в комплекс лечения при астме, в частности, кортикостероиды, могут оказывать существенное положительное влияние на биологический ответ и у больных COVID-19. Однако надо иметь в виду, что патогенетические модели воспаления при COVID-19 и бронхиальной астме имеют различия. И экстраполяция одного и того же подхода к лечению воспаления, как и однотипность результатов подобного лечения, весьма сомнительна при таких принципиально патогенетически разных заболеваниях, как бронхиальная астма, бронхоэктатическая болезнь, хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) и COVID-19, даже если между ними и имеется определенное сходство,

В августе 2021 года, по данным Astra Zene-са, было проведено предварительное испытание фазы №3 препарата AZD7442, являющегося первой комбинацией антител (невакцинной), модифицированной для обеспечения долгосрочной защиты от COVID-19. Эта комбинация двух антител длительного действия – тикагавимаба (AZD8895) и илгавимаба (AZD1061), полученных из В-клеток выздоравливающих пациентов после вируса SARS-Cov-2, согласно декларации компании, обеспечивает снижение риска развития симптоматического COVID-19 на 77% [29]. Комбинации и других антител, связывающихся с коронавирусом и предотвращающих его доступ к клеткам дыхательной системы, предлагается и другими компаниями, в частности, Regeneron и Roche [30]. В июле 2021 года ВОЗ на основании результатов 27 клинических исследований, включивших более 10 000 пациентов, рекомендовала использовать блокаторы рецепторов ИЛ-6 у пациентов с тяжелым и критическим COVID-19 для подавления цитокинового шторма, что особенно хорошо работает при совместном использовании с кортикостероидами [31].

Вместе с тем результаты различных исследований, касающихся эффективности МКАТ, характеризуются неоднозначностью. Так, наиболее изученный и актуальный по механизму действия, блокирующий рецептор ИЛ-6, тоцилизу-

маб, по данным одних исследователей, дает явный положительный эффект [32], тогда как, по другим результатам, данного эффекта по показателям смертности не отмечается [33]. По данным ретроспективного когортного исследования отечественных ученых, как более раннее введение тоцилизумаба у неинтубированных пациентов с тяжелой формой COVID-19 пневмонией, так и поздняя инфузия препарата после начала ИВЛ не сопровождались снижением летальности от всех причин [34]. Вероятно, такая неоднозначность связана с различиями в методологии этих исследований и учете особенностей патологического процесса, на фоне которых вводился тоцилизумаб. Так, например, установлено, что на ответную реакцию при воздействии данного препарата влияют пороговые уровни С-реактивного белка, которая отличается от реакции в ответ на кортикостероиды, что указывает на целесообразность определённого вышеупомянутого совместного назначения данных препаратов [31, 35]. При этом кортикостероиды значительно снижают смертность в том случае, когда у пациента наблюдается интенсивная системная воспалительная реакция, оцениваемая по относительно высокому содержанию С-реактивного белка. Но в то же время имело место указание на возможно более высокую смертность при их назначении пациентам с низкой системной воспалительной реакцией после поправки на основные факторы риска, уже описанные в литературе [35]. Наряду с этим тоцилизумаб продемонстрировал положительный эффект у пациентов с значительно более низким пороговым значением С-реактивного белка по сравнению с кортикостероидами. Это предполагает и обосновывает более оптимальным совместное, поэтапное назначение данных препаратов. Такое представление находит подтверждение в данных ВОЗ, отраженных выше и указывающих на повышение эффективности лечения при сочетанном применении МКАТ и кортикостероидов, что, очевидно, связано с более широким диапазоном влияния, охватывающим разные пороговые уровни С-реактивного белка.

Важно отметить, что антагонисты ИЛ рецепторов обладают комплексом разнонаправленных положительных терапевтических влияний. Так, все больше данных демонстрируют участие тромбоцитов в различных заболеваниях легких. Например, у больных бронхиальной астмой воспаление дыхательных путей в

значительной мере связано с внутрисосудистой активацией тромбоцитов, которые способствуют активации и инфильтрации эозинофилов и Т-клеток в стенку бронхов [36]. Агрегация тромбоцитов и тромбоз – два важных патогенных фактора, обусловленных COVID-19. Помимо участия в рекрутинге и трансмиграции иммунных клеток в воспаленную ткань, активированные тромбоциты также высвобождают множество воспалительных молекул, которые поддерживают активацию и рекрутирование иммунных клеток, а также увеличение проницаемости сосудов и провоспалительную среду [37]. Тромбоциты экспрессируют воспалительные и иммунные реакции, в том числе и интерлейкиновые и лейкотриеновые рецепторы и, соответственно, использование их антагонистов может оказывать положительный терапевтический эффект, особенно в сочетании с антитромбоцитарными препаратами [38]. При этом они могут уменьшать повреждение не только ткани легкого, но и нервной системы, почек и других органов и систем, которые часто проявляются осложнениями при COVID-19.

Исследования относительно аэрозольтерапии на основе антител подтвердили, что это эффективный и безопасный подход к профилактике и лечению заболеваний дыхательных путей. Введение нейтрализующих антител на модели пневмонии с использованием вируса гриппа интраназальным и аэрозольным путями их доставки показало лучшую защиту и более высокий терапевтический эффект по сравнению с системными путями и позволило контролировать позднюю стадию инфекции с помощью значительно сниженной дозы введенного препарата [39]. При этом оценка эффективности аэрозольной доставки моноклональных антител в ДП свидетельствовала, что целевые концентрации вводимого препарата в два раза превышали те, которые достигаются после внутривенной доставки и являются фармакологически более действенными и эффективными, несмотря на уменьшение исходного количества препарата, вводимого системным путем и сводящего на нет возможность побочных эффектов. В июне 2021 года было сообщено об ингаляционном применении нового моноклонального антитела, демонстрирующего высокую аффинность к шиповидному белку всех штаммов вируса, для лечения COVID-19 – AUG-3387, являющегося продуктом совместной деятельности компаний Augmenta Bioworks и TFF Pharmaceuticals Inc.

Он предназначен для лечения уже инфицированных SARS-Cov2, которые имеют высокий риск тяжелого заболевания, но еще не были госпитализированы, а также для профилактики инфекции SARS-Cov2 у лиц с высоким риском тяжелого заболевания. Это предусматривает разработку технологии тонкоплочной заморозки для производства сухих высокодисперсных по (среднемассовый AAD –  $3,4 \pm 0,73$  мкм) порошковых составов для ингаляционной доставки непосредственно в ДП [40].

В последнее время приобретает популярность **пуринергическая регуляция** физиологических и патологических процессов и реакций, включая воспаление, опухолевый рост, реакции отторжения трансплантата и др., которая осуществляется благодаря пуринергической сигнальной системе. Данная система выполняет ключевую роль в регуляции межклеточных взаимодействий в микроциркуляторном русле и представляет собой систему взаимодействия АТФ и его метаболитов с соответствующими рецепторами – поверхностными рецепторными молекулами, участвующими в регулировании уровня внеклеточной АТФ. Последняя участвует в иницировании воспаления за счет разных механизмов, включая ускорение активации Т-клеток, повышение синтеза и секреции провоспалительных цитокинов [41]. Поэтому средства, обладающие эффектами, противоположными влиянию АТФ за счет ингибирования соответствующих рецепторов, рассматриваются как весьма эффективные для инактивирования воспалительного процесса и с позиции некоторых классификаций относятся к иммуносупрессорам [42]. В результате воздействия подобных средств, в частности, аденозина, ограничивается иммунный ответ, так как подавляется адгезия лейкоцитов к эндотелиальным клеткам микроциркуляторного русла, снижается передача внутриклеточных сигналов к нейтрофилам и их активация, а следовательно, и продукция активных форм кислорода нейтрофилами и угнетается синтез и секреция провоспалительных цитокинов [43, 44]. Все это в конечном итоге способствует купированию Th2 воспаления и снижению потребности в кортикостероидах, столь уместных для терапии COVID-19. Наряду с этим аденозин способствует выходу противовоспалительного IL-10 из моноцитов, а также запускает продукцию фактора роста эндотелия сосудов (VEGF), являющегося мощным индуктором ангиогенеза и сосудистой прони-

цаемости [45]. Большинство данных эффектов реализуется через A2-рецепторы, которые экспрессируются при воспалительном процессе в различных клетках иммунной системы, включая лимфоциты, макрофаги, дендритные клетки, гранулоциты. Супрессивный эффект аденозина в значительной мере опосредован через эти рецепторы (A2A и A2B), что было продемонстрировано на модели сепсиса, характеризующегося, как показал анализ, схожестью цитокинового статуса с COVID-19 [46, 47]. Однако отсутствие избирательности действия и широкий спектр действия данного препарата на организм человека повышает вероятность развития побочных эффектов, что ставит вопрос о совершенствовании возможностей использования данного препарата.

Подчеркнем, что препараты из группы средств пуринергической регуляции, в частности аденозин, также обладают комплексом положительных терапевтических влияний, расширяющих возможности лечения COVID-19. Так, например, транспорт аденозина может быть направлен на повышение его уровня и снижение активации тромбоцитов, уменьшение тромбоза и ослабления воспаления для улучшения результатов терапии COVID-19, при котором значительный удельный вес смертей связан с нарушением свертывания крови и тромбоза [48, 49]. Еще одним важным механизмом действия аденозина является то, что он активирует рецепторы A2b на апикальной мембране реснитчатых клеток, вызывая изменения во внутриклеточных вторичных мессенджерах, которые способствуют высвобождению хлоридов и ингибируют абсорбцию натрия. В результате вода попадает в просвет дыхательных путей, восстанавливается перилиарный слой слизистого покрытия дыхательных путей, стимулируется частота биения ресничек [50, 51]. Это, в свою очередь, способствует нормализации мукоцилиарного клиренса, нарушения которого, в том числе и по причине нарушений пуринергической регуляции, являются ведущим патогенетическим звеном как при хронической обструктивной патологии легких, включая бронхиальную астму и ХОБЛ, так и при остром поражении легких, в частности при COVID-19 [52, 53]. Тем более, что при COVID-19 имеются существенные предпосылки для нарушения взаимодействия мукоцилиарного и альвеолярного клиренсов, обеспечивающее элиминацию вируса SARS-Cov-2, что еще в большей степени способствует его проникнове-

нию и патогенному воздействию [2]. Используя регуляторные эффекты аденозина на медиаторы воспаления с целью его уменьшения и улучшения прогноза, для исключения побочных эффектов была внедрена ингаляционная технология его целевой доставки в легкие при COVID-19. В результате удалось уменьшить тяжесть воспаления и сократить продолжительность пребывания пациентов данного контингента в стационаре [54]. Однако исследования носят единичный и предварительный характер и проведены на относительно небольшой группе больных. В настоящее время осуществляются более масштабные клинические испытания данного препарата, которые, возможно, смогут более объективно представить перспективу его использования в клинике [55].

## Заключение

Терапевтический подход, предусматривающий использование СИСД для лечения воспаления в дыхательных путях при COVID-19, потенциально носит перспективный характер. Однако не все из этих средств характеризуются целесообразностью использования. Так, относительно незначительный эффект при применении цитостатиков и ингибиторов кальциневрина наряду с наличием у них системных побоч-

ных эффектов и неизученностью характерного для цитостатиков карциногенного эффекта не позволяют использовать их, в том числе и путем аэрозольтерапии с применением низких доз. В первую очередь, это касается методов, не учитывающих факторов, влияющих на легочную депозицию ингалируемых средств, их физико-химические свойства и пр. и определяющих эффект воздействия данных препаратов. Однако и усовершенствованные технологии их аэрозольной доставки имеют подобные результаты при их использовании, в том числе и при менее проблемном воспалении, в частности при астме. Значительный оптимизм и перспективы в этом плане вносят возможности использования биологических препаратов, включая моноклональные антитела, средства пуринаргической регуляции, обеспечивающие прямое, прецизионное воздействие на клетки воспаления. При этом они не связаны с теми побочными эффектами, которые характерны для цитостатиков и ингибиторов кальциневрина, а также со специальными условиями их использования, и отличаются обладают не монодействием, а мультикомплексом лечебного влияния. Однако механизмы их действия и целесообразность более широкого применения в клинике лишь предстоит определить в полной мере.

## Литература:

1. Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, Zhang L, Fan G, Xu J, Gu X, Cheng Z, Yu T, Xia J, Wei Y, Wu W, Xie X, Yin W, Li H, Liu M, Xiao Y, Gao H, Guo L, Xie J, Wang G, Jiang R, Gao Z, Jin Q, Wang J, Cao B. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet*. 2020;395(10223):497-506. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30183-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30183-5)
2. Кобылянский В.И. Морфофункциональные изменения в проводящих и респираторных отделах бронхолегочной системы при COVID-19 (аналитический обзор). *Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение*. 2021;10(2):69-77. <https://doi.org/10.33029/2305-3496-2021-10-2-69-77>
3. Hojyo S, Uchida M, Tanaka K, Hasebe R, Tanaka Y, Murakami M, Hirano T. How COVID-19 induces cytokine storm with high mortality. *Inflamm Regen*. 2020;40:37. <https://doi.org/10.1186/s41232-020-00146-3>
4. Fehr AR, Perlman S. Coronaviruses: an overview of their replication and pathogenesis. *Methods Mol Biol*. 2015;1282:1-23. [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2438-7\\_1](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2438-7_1)
5. Кобылянский В.И. Возможности использования иммуносупрессоров и их аэрозольной доставки в легкие при лечении тяжелой бронхиальной астмы. *Клиническая фармакология и терапия*. 2022. (31) 2: 69-75. <https://doi.org/10.32756/0869-5490-2022-2-69-75>
6. Немчинов Н.Н. Применение тиофосфамида при лечении больных бронхиальной астмой. *Врачебное дело*. 1973;9:9-11.
7. Тюляндин С.А., Самойленко И.В., Измерова Н.И., Кузьмина Л.П., Королева Е.П., Тихонова Г.И. Руководство для медицинского персонала по безопасному обращению с противоопухолевыми препаратами. Москва: НИИ медицины труда РАН; 2012. Ссылка активна на 06.07.2022. [https://rosoncoweb.ru/standarts/medical\\_staff/001.pdf6](https://rosoncoweb.ru/standarts/medical_staff/001.pdf6)
8. Fukaya H, Iimura A, Hoshiko K, Fuyumuro T, Noji S, Nabeshima T. A cyclosporin A/maltosyl-alpha-cyclodextrin complex for inhalation therapy of asthma. *Eur Respir J*. 2003;22(2):213-219. <https://doi.org/10.1183/09031936.03.00018202>
9. Yuan Y, Che X, Zhao M, Wang Y, Liu Y, Schwendeman A, Li S. Development of cyclosporine A microemulsion for parenteral delivery. *J Microencapsul*. 2015;32(3):273-280. <https://doi.org/10.3109/02652048.2015.1010461>
10. Cyclosporine formulations for use in the prevention or treatment of pulmonary chronic graft rejection. *European patent application*. 2015;EP 3069711 A1 20160921 (EN).
11. Bustamante-Marin XM, Ostrowski LE. Cilia and Mucociliary Clearance. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2017;9(4):a028241. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a028241>
12. Trammer B, Amann A, Haltner-Ukomadu E, Tillmanns S, Keller M, Högger P. Comparative permeability and diffusion kinetics of cyclosporine A liposomes and propylene glycol solution from human lung tissue into human blood ex vivo. *Eur J Pharm Biopharm*. 2008;70(3):758-764. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2008.07.00112>
13. Ahmad J, Akhter S, Rizwanullah M, Amin S, Rahman M, Ahmad MZ, Rizvi MA, Kamal MA, Ahmad FJ. Nanotechnology-based inhalation treatments for lung cancer: state of the art. *Nanotechnol Sci Appl*. 2015;8:55-66. <https://doi.org/10.2147/NSA.S49052>
14. Соколов Е.И., Стефани Д.В., Филонов В.К., Муромцев А.В. *Способ лечения бронхиальной астмы*. Патент СССР на изобретение №701639. 05.12.1979. Бюл. №45. Ссылка активна на 18 августа 2020. <https://patents.su/2-701639-sposob-lecheniya-bronkhialnojj-astmy.html>
15. Кобылянский В.И., Артюшкин А.В. *Способ аэрозольтерапии*. Патент СССР на изобретение №1524904 А1. 30.11.1989. Бюл. №44. Ссылка активна на 18 августа 2020. <https://patents.su/3-1524904-sposob-aehrozolterapii.html>

16. Соколов Е.И., Зыков К.А., Пухальский А.Л., Цыпленкова В.Г., Шевелев В.И. Ингаляции ультрамалых доз алкирующих препаратов в лечении бронхиальной астмы. *Пульмонология*. 2002;3:82-88.
17. Соколов Е.И., Зыков К.А., Шилкин Г.М., Гришина Т.И., Шевелев В.И., Пухальский А.Л., Цыпленкова В.Г. *Препарат для лечения бронхиальной астмы и способ ее лечения*. Патент РФ №2162322. С1. 03.02.2000. Ссылка активна на 18 августа 2020. file:///C:/Users/79236/Desktop/ПРЕПАРАТ\_ДЛЯ\_ЛЕЧЕНИЯ\_БРОНХИАЛЬНОЙ\_АСТМЫ\_И\_СПОСОБ\_ЕЕ\_ЛЕЧЕНИЯ.pdf.
18. Pukhalsky AL, Shmarina GV. Stimulatory and protective effects of alkylating agents applied in ultra-low concentrations. *Pharmacology*. 2001;62(3):129-132. <https://doi.org/10.1159/000056084>
19. Синицын Е.А., Зыкова А.А., Шамин Р.В., Рвачева А.В., Богатырева А.О., Шаповаленко Т.В., Марьин Г.Г., Зыков К.А. Эффективность и безопасность применения ингаляций ультранизких доз мелфалана в лечении госпитализированных пациентов с COVID-19. *Acta Biomedica Scientifica*. 2022;7(2):12-23. <https://doi.org/10.29413/ABS.2022-7.2.2>
20. Enderby C, Keller CA. An overview of immunosuppression in solid organ transplantation. *Am J Manag Care*. 2015;21(1 Suppl):s12-23.
21. de Wilde AH, Falzarano D, Zevenhoven-Dobbe JC, Beugeling C, Fett C, Martellaro C, Posthuma CC, Feldmann H, Perlman S, Snijder EJ. Alisporivir inhibits MERS- and SARS-coronavirus replication in cell culture, but not SARS-coronavirus infection in a mouse model. *Virus Res*. 2017;228:7-13. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2016.11.011>
22. Revannasiddaiah S, Kumar Devadas S, Palassery R, Kumar Pant N, Maka VV. A potential role for cyclophosphamide in the mitigation of acute respiratory distress syndrome among patients with SARS-CoV-2. *Med Hypotheses*. 2020;144:109850. <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2020.109850>
23. Panoskaltis N. Are all cytokine storms the same? *Cancer Immunol Immunother*. 2021;70(4):887-892. <https://doi.org/10.1007/s00262-020-02822-2>
24. Wang H, Wang Z, Cao W, Wu Q, Yuan Y, Zhang X. Regulatory T cells in COVID-19. *Aging Dis*. 2021;12(7):1545-1553. <https://doi.org/10.14336/AD.2021.0709>
25. Flores C, Fouquet G, Moura IC, Maciel TT, Hermine O. Lessons to Learn From Low-Dose Cyclosporin-A: A New Approach for Unexpected Clinical Applications. *Front Immunol*. 2019;10:588. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.00588>
26. Bołtuć K, Bielejewska A, Coloma-Millar A, Dziugiel R, Bociek A, Perkowska-Ptasińska A, Jaroszyński A. Case Report: Cyclophosphamide in COVID-19 - when an absolute contraindication is an absolute necessity. *F1000Res*. 2021;10:829. <https://doi.org/10.12688/f1000research.55625.2>
27. Busse WW. Biological treatments for severe asthma: A major advance in asthma care. *Allergol Int*. 2019;68(2):158-166. <https://doi.org/10.1016/j.alit.2019.01.004>
28. Jackson DJ, Busse WW, Bacharier LB, Kattan M, O'Connor GT, Wood RA, Visness CM, Durham SR, Larson D, Esnault S, Ober C, Gergen PJ, Becker P, Togias A, Gern JE, Altman MC. Association of respiratory allergy, asthma, and expression of the SARS-CoV-2 receptor ACE2. *J Allergy Clin Immunol*. 2020;146(1):203-206.e3. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2020.04.009>
29. Rachel A. Astra Zeneca to seek regulatory approval for COVID-19 prevention antibody. *BioPharma*. 2021. Available at: <https://www.biopharma-reporter.com/Article/2021/08/20/AstraZeneca-to-look-for-regulatory-approval-for-COVID-19-prevention-antibody>. Accessed: 18 August, 2020.
30. Bym J. First monoclonal antibody treatment for COVID-19 approved for use in UK. *BioPharma*. 2021. Available at: <https://www.biopharma-reporter.com/Article/2021/08/20/First-mono-clonal-antibody-treatment-for-COVID-19-approved-for-use-in-UK>. Accessed: 18 August, 2020.
31. Bym J. WHO endorses IL-6 receptor blockers for COVID-19, Roche engaging with agency on guideline implications. *BioPharma*. 2021. Available at: <https://www.biopharma-reporter.com/Article/2021/07/07/WHO-endorses-IL-6-receptor-blockers-for-COVID-19-Roche-engaging-with-agency-on-guideline-implications>. Accessed: 18 August, 2020.
32. Radulescu A, Istrate A, Muntean M. Treatment with Tocilizumab in Adult Patients with Moderate to Critical COVID-19 Pneumonia: A Single-Center Retrospective Study. *Int J Infect Dis*. 2022;117:1-7. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2022.01.048>
33. Hermine O, Mariette X, Tharaux PL, Resche-Rigon M, Porcher R, Ravaut P; CORIMUNO-19 Collaborative Group. Effect of Tocilizumab vs Usual Care in Adults Hospitalized With COVID-19 and Moderate or Severe Pneumonia: A Randomized Clinical Trial. *JAMA Intern Med*. 2021;181(1):32-40. <https://doi.org/10.1001/jamainternmed.2020.682034>
34. Моисеев С.В., Авдеев С.Н., Тао Е.А., Бровко М.Ю., Яворовский А.Г., Умбетова К.Т., Буланов Н.М., Зыкова А.С., Акулкина Л.А., Смирнова И.Г., Фомин В.В. Эффективность тоцилизумаба у пациентов с COVID-19, госпитализированных в ОРИТ: ретроспективное когортное исследование. *Клиническая фармакология и терапия*. 2020;29(4):17-22 <https://doi.org/10.32756/0869-5490-2020-4-17-25>
35. Keller MJ, Kitsis EA, Arora S, Chen JT, Agarwal S, Ross MJ, Tomer Y, Southern W. Effect of Systemic Glucocorticoids on Mortality or Mechanical Ventilation in Patients With COVID-19. *J Hosp Med*. 2020;15(8):489-493. <https://doi.org/10.12788/jhm.3497>
36. Trinh HKT, Nguyen TVT, Choi Y, Park HS, Shin YS. The synergistic effects of clopidogrel with montelukast may be beneficial for asthma treatment. *J Cell Mol Med*. 2019;23(5):3441-3450. <https://doi.org/10.1111/jcmm.14239>
37. Jayarangaiah A, Kariyanna PT, Chen X, Jayarangaiah A, Kumar A. COVID-19-Associated Coagulopathy: An Exacerbated Immunothrombosis Response. *Clin Appl Thromb Hemost*. 2020;26:1076029620943293. <https://doi.org/10.1177/1076029620943293>
38. Серебряная Н.Б., Шанин С.Н., Фомичева Е.Е., Якуцени П.П. Тромбоциты как активаторы и регуляторы воспалительных иммунных реакций. Часть 2. Тромбоциты как участники иммунных реакций. *Медицинская иммунология*. 2019;21(1):9-20. <https://doi.org/10.15789/1563-0625-2019-1-9-20>
39. Leyva-Grado VH, Tan GS, Leon PE, Yondola M, Palese P. Direct administration in the respiratory tract improves efficacy of broadly neutralizing anti-influenza virus monoclonal antibodies. *Antimicrob Agents Chemother*. 2015;59(7):4162-4172. <https://doi.org/10.1128/AAC.00290-15>
40. Byrne J. Inhaled mAb therapy against COVID-19 in the works: 'The product is not dependent on cold chain distribution and storage. *BioPharma*. 2021. Available at: <https://www.biopharma-reporter.com/Article/2021/06/25/Inhaled-mAb-therapy-against-COVID-19-in-the-works-The-product-is-not-dependent-on-cold-chain-distribution-and-storage>. Accessed: 18 August, 2020.
41. Faas MM, Sáez T, de Vos P. Extracellular ATP and adenosine: The Yin and Yang in immune responses? *Mol Aspects Med*. 2017;55:9-19. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2017.01.002>
42. Оковитый С.В. Клиническая фармакология иммуносупрессантов. *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии*. 2003;20(2):2-34.
43. Barletta KE, Ley K, Mehrad B. Regulation of neutrophil function by adenosine. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2012;32(4):856-864. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.111.226845>
44. Le TT, Berg NK, Harting MT, Li X, Eltzschig HK, Yuan X. Purinergic signaling in pulmonary inflammation. *Front Immunol*. 2019;10:1633. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01633>
45. Hill LM, Gavala ML, Lenertz LY, Bertics PJ. Extracellular ATP may contribute to tissue repair by rapidly stimulating purinergic receptor X7-dependent vascular endothelial growth factor release from primary human monocytes. *J Immunol*. 2010;185:3028-3034.
46. Гусев Е.Ю., Зотова Н.В., Лазарев М.А. Цитокиновый ответ и другие отличительные особенности критических фаз системного воспаления при сепсисе. *Медицинская иммунология*. 2014;16(2):173-182. <https://doi.org/10.15789/1563-0625-2014-2-173-182>
47. Сивак К.В., Васин А.В., Егоров В.В., Цветков В.Б., Кузьмич Н.Н., Савина В.А., Киселев О.И. Аденозиновый рецептор А2А как лекарственная мишень для терапии сепсиса. *Молекулярная биология*. 2016;50(2):231-245 <https://doi.org/10.7868/S0026898416020233>
48. Tang N, Li D, Wang X, Sun Z. Abnormal coagulation parameters are associated with poor prognosis in patients with novel coronavirus pneumonia. *J Thromb Haemost*. 2020;18(4):844-847. <https://doi.org/10.1111/jth.14768>
49. Tang N, Bai H, Chen X. Anticoagulant treatment is associated with decreased mortality in severe coronavirus disease 2019 patients with coagulopathy. *J Thromb Haemost*. 2020;18(5):1094-1099. <https://doi.org/10.1111/jth.14817>

50. Lazarowski ER, Boucher RC. Purinergic receptors in airway epithelia. *Curr Opin Pharmacol.* 2009;9(3):262-267. <https://doi.org/10.1016/j.coph.2009.02.004>
51. Davis CW, Lazarowski E. Coupling of airway ciliary activity and mucin secretion to mechanical stresses by purinergic signaling. *Respir Physiol Neurobiol.* 2008;163(1-3):208-213. <https://doi.org/10.1016/j.resp.2008.05.015>
52. Varani K, Caramori G, Vincenzi F. Alteration of Adenosine Receptors in Patients with Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Am J Respir Crit Care Med.* 2006;173(4):398-406. <https://doi.org/10.1164/rccm.200506-869OC>
53. Кобьялянский В.И. *Мукоцилиарная система. Фундаментальные и прикладные аспекты.* Москва: БИНОМ, 2008. 418 с.
54. Spiess BD, Sitkovsky M, Correale P, Gravenstein N, Garvan C, Morey TE, Fahy BG, Hendeles L, Pliura TJ, Martin TD, Wu V, Astrom C, Nelson DS. Case Report: Can Inhaled Adenosine Attenuate COVID-19? *Front Pharmacol.* 2021;12:676577. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.676577>
55. The ARCTIC Trial: Aerosolized Inhaled Adenosine Treatment in Patients With Acute Respiratory Distress Syndrome (ARDS) The Caused by COVID-19. 2021. Available at: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04588441>. Accessed: 18 August, 2020.

## References:

1. Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, Zhang L, Fan G, Xu J, Gu X, Cheng Z, Yu T, Xia J, Wei Y, Wu W, Xie X, Yin W, Li H, Liu M, Xiao Y, Gao H, Guo L, Xie J, Wang G, Jiang R, Gao Z, Jin Q, Wang J, Cao B. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet.* 2020;395(10223):497-506. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30183-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30183-5)
2. Kobylansky VI. Morphofunctional changes in the conducting and respiratory parts of the bronchopulmonary system in COVID-19 (analytical review). *Infectious Diseases: News, Opinions, Training.* 2021;10(2):69-77. (In Russ). <https://doi.org/10.33029/2305-3496-2021-10-2-69-77>
3. Hojyo S, Uchida M, Tanaka K, Hasebe R, Tanaka Y, Murakami M, Hirano T. How COVID-19 induces cytokine storm with high mortality. *Inflamm Regen.* 2020;40:37. <https://doi.org/10.1186/s41232-020-00146-3>
4. Fehr AR, Perlman S. Coronaviruses: an overview of their replication and pathogenesis. *Methods Mol Biol.* 2015;1282:1-23. [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2438-7\\_1](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2438-7_1)
5. Kobylansky VI. Possibilities of using immunosuppressants and their aerosol delivery to the lungs in the treatment of severe bronchial asthma. *Clinical pharmacology and therapy.* 2022. (31) 2: 69-75 (In Russ) <https://doi.org/10.32756/0869-5490-2022-2-69-75>.
6. Nemchinov NN. Primenenie tiofosfamida pri lechenii bol'nykh bronkhial'noy astmoy. *Vrachebnoe delo.* 1973;9:9-11. (In Russ).
7. Tyulyandin SA, Samoylenko IV, Izmerova NI, Kuz'mina LP, Koroleva EP, Tikhonova GI. Rukovodstvo dlya meditsinskogo personala po bezopasnomu obrashcheniyu s protivopukhlevymi preparatami. Moscow : NII meditsiny truda RAN; 2012. (In Russ). Available at: [https://rosnecoweb.ru/standarts/medical\\_staff/001.pdf](https://rosnecoweb.ru/standarts/medical_staff/001.pdf). Accessed: June 6, 2022.
8. Fukaya H, Iimura A, Hoshiko K, Fuyumuro T, Noji S, Nabeshima T. A cyclosporin A/maltosyl-alpha-cyclodextrin complex for inhalation therapy of asthma. *Eur Respir J.* 2003;22(2):213-219. <https://doi.org/10.1183/09031936.03.00018202>
9. Yuan Y, Che X, Zhao M, Wang Y, Liu Y, Schwendeman A, Li S. Development of cyclosporine A microemulsion for parenteral delivery. *J Microencapsul.* 2015;32(3):273-280. <https://doi.org/10.3109/02652048.2015.1010461>
10. Cyclosporine formulations for use in the prevention or treatment of pulmonary chronic graft rejection. *European patent application.* 2015;EP 3069711 A1 20160921 (EN).
11. Bustamante-Marin XM, Ostrowski LE. Cilia and Mucociliary Clearance. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2017;9(4):a028241. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a028241>
12. Trammer B, Amann A, Haltner-Ukomadu E, Tillmanns S, Keller M, Högger P. Comparative permeability and diffusion kinetics of cyclosporine A liposomes and propylene glycol solution from human lung tissue into human blood ex vivo. *Eur J Pharm Biopharm.* 2008;70(3):758-764. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2008.07.00112>
13. Ahmad J, Akhter S, Rizwanullah M, Amin S, Rahman M, Ahmad MZ, Rizvi MA, Kamal MA, Ahmad FJ. Nanotechnology-based inhalation treatments for lung cancer: state of the art. *Nanotechnol Sci Appl.* 2015;8:55-66. <https://doi.org/10.2147/NSA.S49052>
14. Sokolov EI, Stefani DV, Filonov VK, Muromtsev AV. *Sposob lecheniya bronkhial'noy astmy.* Patent SSSR №701639. 05.12.1979. Bull №45. Available at: <https://patents.su/2-701639-sposob-lecheniya-bronkhialnoj-astmy.html>. Accessed: 18 August, 2020. (In Russ.)
15. Kobylansky VI, Artyushkin AV. *Sposob aerosol'terapii.* Patent SSSR na izobretenie №1524904 A1. 30.11.1989. Available at: <https://patents.su/3-1524904-sposob-aehrozolterapii.html>. Accessed: 18 August, 2020. (In Russ.)
16. Sokolov EI, Zykov KA, Pukhal'skiy AL, Tsyplenkova VG, Shevelev VI. Ingalyatsii ul'tramalykh doz alkiryuyushchikh preparatov v lechenii bronkhial'noy astmy. *Pulmonologiya.* 2002;3:82-88. (In Russ).
17. Sokolov EI, Zykov KA, Shilkin GM, Grishina TI, Shevelev VI, Pukhal'skiy AL, Tsyplenkova VG. *Preparat dlya lecheniya bronkhial'noy astmy i sposob ee lecheniya.* Patent RF na izobretenie №2162322. C1. 03.02.2000. Available at: <https://www.patent.gov.ru/Document/req/doc/2162322/req.pdf?reqid=1&reqfrom=publ>. Accessed: 18 August, 2020. (In Russ).
18. Pukhalsky AL, Shmarina GV. Stimulatory and protective effects of alkylating agents applied in ultra-low concentrations. *Pharmacology.* 2001;62(3):129-132. <https://doi.org/10.1159/000056084>
19. Sinitsyn EA, Zykova AA, Shamin RV, Rvacheva AV, Bogatyreva AO, Shapovalenko TV, Maryin GG, Zykov KA. Efficacy and safety of ultra-low dose inhaled melphalan in the treatment of hospitalized patients with COVID-19. *Acta biomedical scientifica.* 2022; 7(2): 12-23. (In Russ). <https://doi.org/10.29413/ABS.2022-7.2.2>
20. Enderby C, Keller CA. An overview of immunosuppression in solid organ transplantation. *Am J Manag Care.* 2015;21(1 Suppl):s12-23.
21. de Wilde AH, Falzarano D, Zevenhoven-Dobbe JC, Beugeling C, Fett C, Martellaro C, Posthuma CC, Feldmann H, Perlman S, Snijder EJ. Alisporivir inhibits MERS- and SARS-coronavirus replication in cell culture, but not SARS-coronavirus infection in a mouse model. *Virus Res.* 2017;228:7-13. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2016.11.011>
22. Revannasiddaiah S, Kumar Devadas S, Palassery R, Kumar Pant N, Maka VV. A potential role for cyclophosphamide in the mitigation of acute respiratory distress syndrome among patients with SARS-CoV-2. *Med Hypotheses.* 2020;144:109850. <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2020.109850>
23. Panoskaltis N. Are all cytokine storms the same? *Cancer Immunol Immunother.* 2021;70(4):887-892. <https://doi.org/10.1007/s00262-020-02822-2>
24. Wang H, Wang Z, Cao W, Wu Q, Yuan Y, Zhang X. Regulatory T cells in COVID-19. *Aging Dis.* 2021;12(7):1545-1553. <https://doi.org/10.14336/AD.2021.0709>
25. Flores C, Fouquet G, Moura IC, Maciel TT, Hermine O. Lessons to Learn From Low-Dose Cyclosporin-A: A New Approach for Unexpected Clinical Applications. *Front Immunol.* 2019;10:588. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.00588>
26. Boćuć K, Bielejewska A, Coloma-Millar A, Dziugiel R, Bociek A, Perkowska-Ptasińska A, Jaroszyński A. Case Report: Cyclophosphamide in COVID-19 - when an absolute contraindication is an absolute necessity. *F1000Res.* 2021;10:829. <https://doi.org/10.12688/f1000research.55625.2>
27. Busse WW. Biological treatments for severe asthma: A major advance in asthma care. *Allergol Int.* 2019;68(2):158-166. <https://doi.org/10.1016/j.alit.2019.01.004>
28. Jackson DJ, Busse WW, Bacharier LB, Kattan M, O'Connor GT, Wood RA, Visness CM, Durham SR, Larson D, Esnault S, Ober C, Gergen PJ, Becker P, Togias A, Gern JE, Altman MC. Association of respiratory allergy, asthma, and expression of the SARS-CoV-2 receptor ACE2. *J Allergy Clin Immunol.* 2020;146(1):203-206.e3. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2020.04.009>

29. Rachel A. Astra Zeneca to seek regulatory approval for COVID-19 prevention antibody. *BioPharma*. 2021. Available at: <https://www.biopharma-reporter.com/Article/2021/08/20/AstraZeneca-to-seek-regulatory-approval-for-COVID-19-prevention-antibody>. Accessed: 18 August, 2020.
30. Byrn J. First monoclonal antibody treatment for COVID-19 approved for use in UK. *BioPharma*. 2021. Available at: <https://www.biopharma-reporter.com/Article/2021/08/20/First-monoclonal-antibody-treatment-for-COVID-19-approved-for-use-in-UK>. Accessed: 18 August, 2020.
31. Byrn J. WHO endorses IL-6 receptor blockers for COVID-19, Roche engaging with agency on guideline implications. *BioPharma*. 2021. Available at: <https://www.biopharma-reporter.com/Article/2021/07/07/WHO-endorses-IL-6-receptor-blockers-for-COVID-19-Roche-engaging-with-agency-on-guideline-implications>. Accessed: 18 August, 2020.
32. Radulescu A, Istrate A, Muntean M. Treatment with Tocilizumab in Adult Patients with Moderate to Critical COVID-19 Pneumonia: A Single-Center Retrospective Study. *Int J Infect Dis*. 2022;117:1-7. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2022.01.048>
33. Hermine O, Mariette X, Tharaux PL, Resche-Rigon M, Porcher R, Ravaud P; CORIMUNO-19 Collaborative Group. Effect of Tocilizumab vs Usual Care in Adults Hospitalized With COVID-19 and Moderate or Severe Pneumonia: A Randomized Clinical Trial. *JAMA Intern Med*. 2021;181(1):32-40. <https://doi.org/10.1001/jamainternmed.2020.682034>
34. Moiseev SV, Avdeev SN, Tao EA, Brovko MYU, Yavorovsky AG, Umbetova KT, Bulanov NM, Zykova AS, Akulkina LA, Smirnova IG, Fomin VV. Efficacy of tocilizumab in the intensive care unit patients with covid-19: a retrospective cohort study. *Klinicheskaya farmakologiya i terapiya*. 2020;29(4):17-22 <https://doi.org/10.32756/0869-5490-2020-4-17-25>(In Russ.)
35. Keller MJ, Kitsis EA, Arora S, Chen JT, Agarwal S, Ross MJ, Tomer Y, Southern W. Effect of Systemic Glucocorticoids on Mortality or Mechanical Ventilation in Patients With COVID-19. *J Hosp Med*. 2020;15(8):489-493. <https://doi.org/10.12788/jhm.3497>
36. Trinh HKT, Nguyen TVT, Choi Y, Park HS, Shin YS. The synergistic effects of clopidogrel with montelukast may be beneficial for asthma treatment. *J Cell Mol Med*. 2019;23(5):3441-3450. <https://doi.org/10.1111/jcmm.14239>
37. Jayarangaiah A, Kariyanna PT, Chen X, Jayarangaiah A, Kumar A. COVID-19-Associated Coagulopathy: An Exacerbated Immunothrombosis Response. *Clin Appl Thromb Hemost*. 2020;26:1076029620943293. <https://doi.org/10.1177/1076029620943293>
38. Serebryanaya NB, Shanin SN, Fomicheva EE, Yakutseni PP. Blood platelets as activators and regulators of inflammatory and immune reactions. Part 2. Thrombocytes as participants of immune reactions. *Medical Immunology*. 2019;21(1):9-20. <https://doi.org/10.15789/1563-0625-2019-1-9-20>(In Russ.)
39. Leyva-Grado VH, Tan GS, Leon PE, Yondola M, Palese P. Direct administration in the respiratory tract improves efficacy of broadly neutralizing anti-influenza virus monoclonal antibodies. *Antimicrob Agents Chemother*. 2015;59(7):4162-4172. <https://doi.org/10.1128/AAC.00290-15>
40. Bryne J. Inhaled mAb therapy against COVID-19 in the works: 'The product is not dependent on cold chain distribution and storage. *BioPharma*. 2021. Available at: <https://www.biopharma-reporter.com/Article/2021/06/25/Inhaled-mAb-therapy-against-COVID-19-in-the-works-The-product-is-not-dependent-on-cold-chain-distribution-and-storage>. Accessed: 18 August, 2020.
41. Faas MM, Sáez T, de Vos P. Extracellular ATP and adenosine: The Yin and Yang in immune responses? *Mol Aspects Med*. 2017;55:9-19. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2017.01.002>.
42. Okovityy SV. Klinicheskaya farmakologiya immunosupresantov. *Obzory po klinicheskoy farmakologii i lekarstvennoy terapii*. 2003;20(2):2-34. (In Russ.)
43. Barletta KE, Ley K, Mehrad B. Regulation of neutrophil function by adenosine. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2012;32(4):856-864. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.111.226845>
44. Le TT, Berg NK, Harting MT, Li X, Eltzschig HK, Yuan X. Purinergic signaling in pulmonary inflammation. *Front Immun*. 2019;10:1633. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01633>
45. Hill LM, Gavala ML, Lenertz LY, Bertics PJ. Extracellular ATP may contribute to tissue repair by rapidly stimulating purinergic receptor X7-dependent vascular endothelial growth factor release from primary human monocytes. *J Immunol*. 2010;185:3028-3034.
46. Gusev Evgeny Yu, Zotova NV, Lazareva MA. Cytokine response and other differences between critical phases of sepsis-associated systemic inflammation *Medical Immunology (Russia)*. 2014;16(2):173-182. <https://doi.org/10.15789/1563-0625-2014-2-173-182>(In Russ.)
47. Sivaka KV, Vasina AV, Egorova VV, Tsvetkova VB, Kuzmicha NN, Savinaa VA, Kiseleva OI. Adenosine a2a receptor as a drug target for treatment of sepsis. *Molekulyarnaya biologiya*. 2016;50(2):231-245 <https://doi.org/10.7868/S0026898416020233>(In Russ.)
48. Tang N, Li D, Wang X, Sun Z. Abnormal coagulation parameters are associated with poor prognosis in patients with novel coronavirus pneumonia. *J Thromb Haemost*. 2020;18(4):844-847. <https://doi.org/10.1111/jth.14768>
49. Tang N, Bai H, Chen X. Anticoagulant treatment is associated with decreased mortality in severe coronavirus disease 2019 patients with coagulopathy. *J Thromb Haemost*. 2020;18(5):1094-1099. <https://doi.org/10.1111/jth.14817>
50. Lazarowski ER, Boucher RC. Purinergic receptors in airway epithelia. *Curr Opin Pharmacol*. 2009;9(3):262-267. <https://doi.org/10.1016/j.coph.2009.02.004>
51. Davis CW, Lazarowski E. Coupling of airway ciliary activity and mucin secretion to mechanical stresses by purinergic signaling. *Respir Physiol Neurobiol*. 2008;163(1-3):208-213. <https://doi.org/10.1016/j.resp.2008.05.015>
52. Varani K, Caramori G, Vincenzi F. Alteration of Adenosine Receptors in Patients with Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Am J Respir Crit Care Med*. 2006;173(4):398-406. <https://doi.org/10.1164/rccm.200506-869OC>
53. Kobylanskiy VI. *Mukotsiliarnaya sistema*. Fundamental'nye i prikladnye aspekty. Moskva: BINOM; 2008. (In Russ.)
54. Spiess BD, Sitkovsky M, Correale P, Gravenstein N, Garvan C, Morey TE, Fahy BG, Hendeles L, Pliura TJ, Martin TD, Wu V, Astrom C, Nelson DS. Case Report: Can Inhaled Adenosine Attenuate COVID-19? *Front Pharmacol*. 2021;12:676577. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.676577>
55. The ARCTIC Trial: Aerosolized Inhaled Adenosine Treatment in Patients With Acute Respiratory Distress Syndrome (ARDS) The Caused by COVID-19. 2021. Available at: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04588441>. Accessed: 18 August, 2020.

## Сведения об авторе

**Кобылянский Вячеслав Иванович**, доктор медицинских наук, профессор образовательного центра ФГБУ «Научно-исследовательский институт пульмонологии Федерального медико-биологического агентства России» (115682, Россия, г. Москва, Ореховый б-р, д. 28).  
ORCID: 0000-0002-1523-9669

Статья поступила: 25.07.2022 г.

Принята в печать: 31.08.2022 г.

Контент доступен под лицензией CC BY 4.0.

## Author

**Prof. Vyacheslav I. Kobylansky, MD, DSc, Professor, Educational Centre, Research Institute of Pulmonology, Federal Medical and Biological Agency of Russian Federation (28, Orekhovy Boulevard, Moscow, 115682, Russian Federation).**  
ORCID: 0000-0002-1523-9669

Received: 25.07.2022

Accepted: 31.08.2022

Creative Commons Attribution CC BY 4.0.

УДК 612.014.24-076.5

<https://doi.org/10.23946/2500-0764-2022-7-3-85-96>

# ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ В ПРАКТИКЕ СОВРЕМЕННЫХ МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ. ЧАСТЬ III: ЧИСЛОВЫЕ АНОМАЛИИ КАРИОТИПА ЧЕЛОВЕКА

ВОЛКОВ А.Н.<sup>1\*</sup>, РЫТЕНКОВА О.И.<sup>2</sup><sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Кемерово, Россия<sup>2</sup>ГАУЗ «Кузбасская областная клиническая больница имени С.В. Беляева» г. Кемерово, Россия

## Резюме

Числовые аномалии кариотипа являются следствием геномных мутаций. В отличие от генных и хромосомных аномалий, геномные мутации не приводят к нарушению структуры ДНК или хромосом. Причиной числовых изменений кариотипа является нарушение механизма расхождения хромосом в ходе мейоза или митоза. Как и прочие мутации, геномные мутации являются естественным механизмом повышения генетического разнообразия у потомства. При этом у человека обычно наблюдаются негативные эффекты любых численных отклонений от нормы, по этой причине цитогенетическое исследование анеуплоидий является важным диагностическим инструментом в медицинской генетике.

Изменение числа половых хромосом обычно не является летальным. Спектр выявляемых отклонений у носителя – от непостоянных нарушений репродукции при нормальном фенотипе до пороков развития некоторых внутренних органов, бесплодия и тяжелых интеллектуальных нарушений. Анеуплоидии аутосом всегда несут угрозу жизни и здоровью. Совместимыми с живорождением являются только аутосомные трисомии по 13, 18, 21 и 22 хромосомам, имеются единичные сообщения о рождении детей с полиплоидиями. При этом прогноз жизни относительно благоприятный только в случае с трисомией 21, приводящей к формированию синдрома Дауна. Прочие анеуплоидии обычно приводят к спонтанному прерыванию беременности в ранние сроки и регистрируются в образцах абортного материала.

В связи с этим цитогенетический анализ хро-

мосомных анеуплоидий применяется для установления генетических причин аномалий и пороков развития в постнатальном периоде, задержки речевого и психомоторного развития, нарушения репродукции у взрослых. Особое значение имеет цитогенетический анализ кариотипа эмбрионов в пренатальном периоде. В предлагаемой лекции анализируется механизм формирования геномных мутаций и их разнообразие. Рассматриваются возможные медицинские последствия наличия различных типов анеуплоидий. Вниманию читателя предлагаются синдромы, связанные с изменением числа хромосом в кариотипе. Описание иллюстрируется реальными изображениями кариотипов пациентов.

Лекция ориентирована, прежде всего, на студентов медико-биологических специальностей, молодых специалистов, планирующих использовать в своей практической деятельности цитогенетические методы исследований, и врачей, сталкивающихся с необходимостью анализировать и интерпретировать результаты цитогенетического анализа. Для усвоения обсуждаемого материала рекомендуется ознакомление с предыдущей лекцией цикла.

**Ключевые слова:** цитогенетический анализ, кариотип, геномные мутации, анеуплоидии

### Конфликт интересов

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

### Источник финансирования

Собственные средства

### Для цитирования:

Волков А.Н., Рытенкова О.И. Цитогенетические методы в практике современных медико-биологических исследований. ЧАСТЬ III: числовые аномалии кариотипа человека. *Фундаментальная и клиническая медицина*. 2022;7(3): 85-96. <https://doi.org/10.23946/2500-0764-2022-7-3-85-96>

### \*Корреспонденцию адресовать:

Волков Алексей Николаевич, 650056, Россия, г. Кемерово, ул. Ворошилова, д. 22а, E-mail: [volkov\\_alex@rambler.ru](mailto:volkov_alex@rambler.ru)

© Волков А.Н., Рытенкова О.И.

## LECTURES

# CYTOGENETIC TECHNIQUES IN CURRENT BIOMEDICAL RESEARCH. PART III: NUMERICAL ALTERATIONS OF HUMAN KARYOTYPE

ALEXEY N. VOLKOV <sup>1\*</sup>, OKSANA I. RYTENKOVA <sup>2</sup>

<sup>1</sup>Kemerovo State Medical University, Kemerovo, Russian Federation

<sup>2</sup>Kuzbass Regional Clinical Hospital, Kemerovo, Russian Federation

**English ▶****Abstract**

Numerical abnormalities of karyotype are the result of genome mutations. Unlike gene and chromosomal abnormalities, genome mutations do not disrupt the structure of DNA or chromosomes. The cause of numerical changes in the karyotype is a violation of the mechanism of chromosome segregation during meiosis or mitosis. Like other mutations, genome mutations are a natural mechanism for increasing of genetic diversity in offspring. At the same time, humans usually have negative effects of any numerical deviations from the norm, for this reason, cytogenetic examination of aneuploidies is an important diagnostic tool in medical genetics.

A change in the number of sex chromosomes is usually not lethal. The spectrum of detected deviations in the carrier is from inconstant impairment of reproduction but a normal phenotype to malformations of some internal organs, infertility and severe intellectual disabilities. Aneuploidies of autosomes are always a threat to life and health. Only autosomal trisomies on chromosomes 13, 18, 21 and 22 are compatible with live birth, there are solitary reports of the birth of children with polyploidies. At the same time, the prognosis of life is relatively favorable only in the case of trisomy 21, leading to the formation of Down syndrome. Other aneuploidies usually lead to spontaneous termination of pregnancy in the early stages and are discovered in samples of abortion material.

In this regard, cytogenetic analysis of chromosomal aneuploidies is used to establish the genetic cause of anomalies and malformations in the postnatal period, delays in speech and psychomotor development, reproduction disorders in adults. Of particular importance is the cytogenetic analysis of the karyotype of embryos in the prenatal period. The proposed lecture analyzes the mechanism of formation of genomic mutations and their diversity. The possible medical consequences of the presence of various types of aneuploidies are considered. To the reader attention is offered syndromes associated with a change in the number of chromosomes in the karyotype. The description is illustrated by real images of patient karyotypes.

The lecture is aimed primarily at students of medical and biological specialties, young specialists who plan to use cytogenetic research methods in their practical activities, and doctors who are faced with the need to analyze and interpret the results of cytogenetic analysis. To assimilate the material under discussion, it is recommended to familiarize yourself with the previous lecture of the cycle.

**Keywords:** cytogenetic analysis, karyotype, genome mutations, aneuploidies

**Conflict of Interest**

None declared.

**Funding**

There was no funding for this project.

**For citation:**

Alexey N. Volkov, Oksana I. Rytenkova. Cytogenetic techniques in current biomedical research. PART III: numerical alterations of human karyotype. *Fundamental and Clinical Medicine*. (In Russ.). 2022;7(3): 85-96. <https://doi.org/10.23946/2500-0764-2022-7-3-85-96>

**\*Corresponding author:**

Dr. Alexey N. Volkov, 22a, Voroshilova Street, Kemerovo, 650056, Russian Federation, E-mail: [volkov\\_alex@rambler.ru](mailto:volkov_alex@rambler.ru)

©Dr. Alexey N. Volkov, Oksana I. Rytenkova.

## Введение

Числовые изменения кариотипа биологического вида относят к так называемым геномным мутациям. При этом речи не идет о каких-либо структурных нарушениях хромосом. Нормальный кариотип, характерный для типичной клетки данного организма, называется эуплоидным. Любые изменения числа хромосом будут считаться анеуплоидиями. Хромосомы каждой пары нормальной диплоидной клетки по определению находятся в состоянии дисомии. Потеря одной хромосомы приводит к формированию моносомии, а утрата обеих – к нуллизомии. Появление одной дополнительной хромосомы приводит к трисомии, двух – к тетрасомии и т.д. Частным случаем анеуплоидии является полиплоидия, при которой увеличивается число всех хромосом кариотипа. Так, при триплоидии вместо стандартного диплоидного хромосомного набора  $2n$  (у человека –  $2n=46$ ) наблюдается  $3n$  хромосом (у человека –  $3n=69$ ) или, иначе говоря, выявляется трисомия по каждой хромосоме [1–5].

Геномные мутации являются таким же естественным событием как генные и хромосомные мутации. Это позволяет говорить об их необходимом участии в постоянной модификации генома биологических видов в ходе эволюции. Сам процесс становления диплоидного кариотипа взамен гаплоидного может рассматриваться как ключевое эволюционное событие, повысившее надежность генетического аппарата и открывшее новые возможности для комбинативной изменчивости.

Анализ случаев различных анеуплоидий у человека показывает, что численные аномалии хромосом имеют широкий спектр физиологических и морфологических эффектов – от самопроизвольного прекращения развития организма в пренатальном периоде до практически нейтральных проявлений в постнатальном периоде. Общей закономерностью является неблагоприятный прогноз жизни и здоровью при численных аномалиях аутосом и относительно мягкие или корригируемые медицинскими средствами аномалии при анеуплоидиях половых хромосом [6–30]. В данной лекции будут рассмотрены механизмы формирования числовых аномалий кариотипа человека, их разнообразие, влияние на здоровье и возможности цитогенетического анализа при исследовании таких геномных мутаций.

**Механизм формирования геномных мутаций**

Как было отмечено в предыдущей лекции, для формирования хромосомных мутаций необходим разрыв хромосом(ы) с последующим воссоединением их свободных концов. Для генных мутаций также характерно изменение химической структуры нуклеиновой кислоты. Очевидно, что внешние факторы, способные физически воздействовать на первичную структуру ДНК, будут являться потенциальными мутагенами, вызывая мутации двух перечисленных типов. С этой точки зрения геномные мутации можно рассматривать как обособленное явление, так как при этом не наблюдается каких-либо структурных изменений в самих хромосомах.

Наиболее частой причиной геномных мутаций является нарушение процесса сегрегации (расхождения) хромосом в ходе клеточного деления. Данные события могут происходить как в мейозе, так и в митозе. При нарушении расхождения хромосом в мейозе образуются анеуплоидные гаметы, которые в случае оплодотворения дают анеуплоидные зиготы [2–4]. Такая зигота при дальнейшем дроблении порождает генетически аномальные бластомеры (т.е. все будущие клетки зародышевой линии и соматические клетки) (**рисунок 1**). Организм, развивающийся из таких клеток, будет иметь полную, или регулярную, анеуплоидию. Симптомы хромосомной аномалии будут выражены в наибольшей степени.

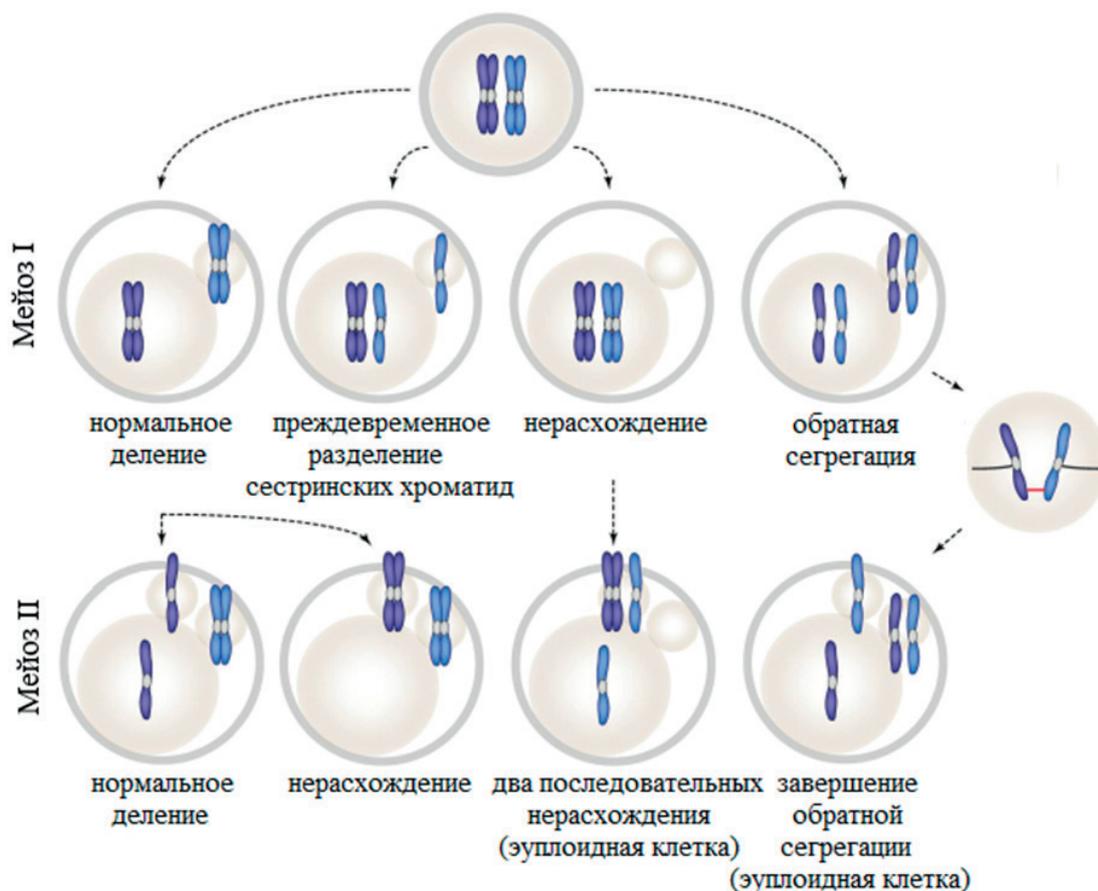
Нарушение сегрегации хромосом может произойти и на более поздних стадиях индивидуального развития, начиная с первого деления зиготы. При этом доля образующихся анеуплоидных клеток может варьировать, что определяет разную степень фенотипического проявления произошедшей мутации [1, 5]. Так, в случае нерасхождения хромосом в ходе митотического деления одного из двух бластомеров ожидаемая доля генетически несбалансированных клеток составит 50%. В дальнейшем это соотношение может измениться в пользу нормальных клеток, если часть анеуплоидных бластомеров перестанет функционировать и погибнет. В общем, чем позднее происходит нарушение расхождения, тем меньшая доля клеток организма будет поражена и тем слабее будут выражены проявления генетической аномалии. Считается, что при соотношении нормальных и аномальных клеток 10/1 фенотипические признаки геномной мутации могут быть неразличимы. Организм, имеющий клоны нормальных и генетически ано-

Рисунок 1.

Нарушения расхождения хромосом в мейозе, ведущие к формированию анеуплоидных клеток [2]

Figure 1.

Nondisjunction of chromosomes in meiosis, leading to the formation of aneuploid cells [2]



мальных клеток, называется мозаичным. Так же будет называться и форма соответствующей хромосомной аномалии.

Помимо указанных нарушений расхождения хромосом, ведущих к анеуплоидиям, обнаружены и другие механизмы их формирования. В ряде случаев сегрегация имеет место, но происходит несвоевременно или неправильно. Например, иногда происходит преждевременное разделение сестринских хроматид уже в первом делении мейоза. С другой стороны, несколько последовательных ошибок сегрегации могут нивелировать взаимный эффект с восстановлением сбалансированного гаплоидного карриотипа в конечной клетке [1–5].

Для объяснения обсуждаемых аномалий необходимо знать молекулярный механизм взаимодействия и разделения гомологичных хромосом и сестринских хроматид при делении. На протяжении длительного времени они связаны белками-когезинами, а при формировании веретена деления к центромерной части хроматид присоединяются микротрубочки. Дальнейшее сокращение микротрубочек приведет к разделению хромосом или хроматид, но толь-

ко в том случае, если при этом происходит синхронное разрушение когезиновых замков. Если прочность связи между хромосомами или хроматидами преобладает над напряжением, развиваемым микротрубочками, наблюдается нерасхождение элементов. Напротив, при преждевременном разрушении когезиновых комплексов может происходить несвоевременный распад хромосом на хроматиды.

Известно, что вероятность всех типов нарушения деления клетки увеличивается с возрастом. Генетический анализ ооцитов у женщин разных возрастных групп позволил выявить действие всех перечисленные механизмов формирования анеуплоидий. При этом частота преждевременного разделения хроматид с возрастом увеличивается наиболее заметно и с какого-то момента начинает преобладать над нерасхождением хромосом и хроматид. Исследователи склонны приписывать это постепенной утратой хромосомами когезинов без их своевременного восстановления. Кроме того, по мере старения клетки возникают ошибки формирования веретена деления, что повышает частоту нерасхождения хромосом в ооцитах [2].

Считается, что груз геномных мутаций у человека на стадии гаметогенеза и раннего пренатального развития очень велик. До 30% ооцитов и до 2,5% сперматозоидов могут иметь анеуплоидный кариотип вследствие нарушения сегрегации хромосом в предшествовавших делениях. Доля клеток с несбалансированным кариотипом в раннем эмбриогенезе ожидаемо увеличивается [2]. Теоретически, вероятность формирования хромосомных аномалий должна возрастать пропорционально общему количеству клеточных циклов. Однако, благодаря естественному отбору и избирательной элиминации, частота аномальных кариотипов у новорожденных минимальна.

Через все стадии внутриутробного отбора легче проходят эмбрионы с числовыми аномалиями половых хромосом. Аномалии числа аутосом в кариотипе в основном не совместимы с жизнью. Одной из важнейших задач цитогенетики человека является отслеживание мутационных событий на разных стадиях онтогенеза с целью установления генетических причин нарушения развития или гибели организма. Полученные данные необходимы для анализа здоровья, оптимизации медицинской помощи населению, определения рисков здоровью и жизни, а в некоторых случаях – и для предупреждения рождения потомства с грубыми и(или) летальными пороками развития.

#### Числовые аномалии половых хромосом у человека

Наиболее распространенные синдромы с аномалиями числа половых хромосом включают синдром Клайнфельтера (47,XXY), синдром Тернера (45,X), синдром дисомии по Y-хромосоме

(47,XY<sub>2</sub>Y) и синдром трисомии по X-хромосоме (47,XXX). Данные аномалии встречаются как в полной форме, так и в мозаичных вариантах, в сочетании с нормальными клетками в одном организме. Кроме того, у отдельных пациентов наблюдается увеличение числа X- или Y-хромосом по сравнению с типовым патологическим кариотипом. Суммарная популяционная частота перечисленных аномалий составляет приблизительно 1 на 400 новорожденных [6].

Синдром Клайнфельтера, вероятно, является наиболее распространенной хромосомной болезнью среди мужчин с оценочной частотой 0,1-0,2% в общей популяции и около 3% среди мужчин с бесплодием [7]. В наиболее типичном случае кариотип пациента 47,XXY (рисунок 2). Количество X-хромосом может быть и больше, при этом тяжесть клинических проявлений болезни усиливается, а отклонения в строении гениталий выявляются даже в пренатальном периоде в ходе УЗ-обследования плода. Для носителей аномалии характерна общая феминизация облика, гинекомастия, метаболические нарушения. Практически все имеют проблемы с обучением и поведением вследствие отклонений в развитии головного мозга [7–10]. Из-за неспецифического характера нарушений большая часть пациентов остается нераспознанной до пубертатного периода или даже возраста вступления в брак. Наиболее острой проблемой таких мужчин является нарушение развития семенников и сопутствующие этому азооспермия и бесплодие. Благодаря усилиям современной репродуктивной медицины часть пациентов с синдромом Клайнфельтера стала способна иметь потомство [7, 11].

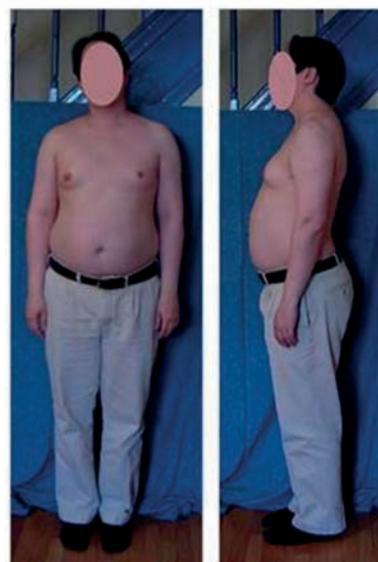
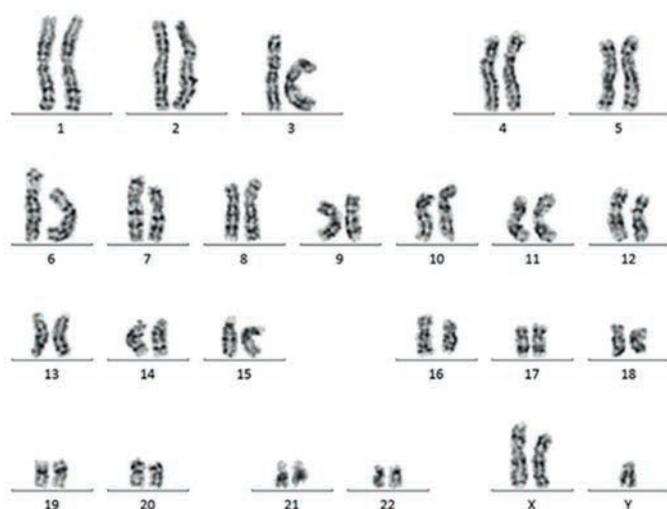


Рисунок 2.

Кариотип и фенотип пациента с синдромом Клайнфельтера

Figure 2.

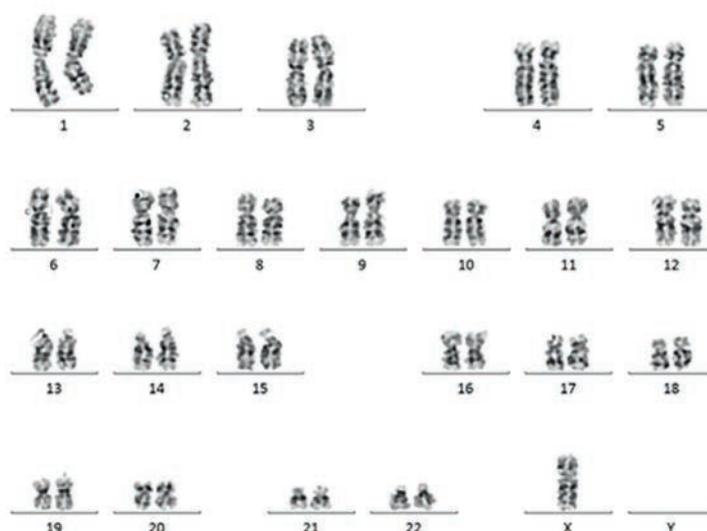
Karyotype and phenotype of a patient with Klinefelter syndrome

Рисунок 3.

Кариотип и фенотип пациентки с синдромом Тернера

Figure 3.

Karyotype and phenotype of a patient with Turner syndrome



Если дополнительная X-хромосома в мужском кариотипе способствует общей феминизации организма, то потеря одной X-хромосомы существенно нарушает нормальное развитие женского организма, особенно в части развития репродуктивной системы, и формирует типичный облик пациента с синдромом Тернера (рисунок 3). Суммарная частота аномалии оценивается в 1:1500-2500 у женщин, что сопоставимо с частотой предыдущего синдрома [6, 12].

Фенотип больных характеризуется низким ростом, широкой и уплощенной грудной клеткой, характерной крыловидной складкой на шее, выраженными лицевыми дисморфиями. Аномалии внутренних органов более выражены, чем при синдроме Клайнфельтера: часто встречаются пороки сердечно-сосудистой системы, почек. Отмечается дисфункция эндокринных органов [13]. Поражение репродуктивной системы имеет разную степень выраженности, вплоть до формирования фиброзного тяжа вместо гонад, матка обычно сильно редуцирована. Очевидно, что все женщины с синдромом Тернера страдают аменореей и имеют первичное бесплодие.

Когнитивная функция у пациенток находится на среднем уровне, с хорошими вербальными способностями, но с отставанием в формировании пространственно-визуальных навыков, абстрактным мышлением и скорости выполнения действий. Отмечается дефицит внимания, гиперактивность и высокая тревожность. Все это препятствует достижению высоких успехов в обучении, создает проблемы в эмоциональной

сфере, усложняет социализацию [12, 13].

Синдром полисомии по Y-хромосоме, по разным данным, встречается с частотой 1 на 1000-5500 мужчин [6, 9, 14]. Абсолютное большинство выявленных лиц имеет хромосомный набор 47,XY<sub>2</sub> с одной добавочной Y-хромосомой, хотя встречаются также носители большего их числа, а также пациенты с мозаичной формой анеуплоидии. Из-за нечеткости клинических симптомов аномалии (и во многих случаях их отсутствии) идентификация и учет носителей мутации затруднительны. Наиболее частыми признаками полисомии Y являются высокий рост пациентов, задержка речевого и интеллектуального развития, сложности в обучении, повышенный риск отклонений в поведении [10, 15].

Большинство (около 85%) мужчин с кариотипом 47,XY<sub>2</sub> выявляются генетиками не на основании фенотипических отклонений, а в связи с возникающей репродуктивной проблемой. При этом средний возраст таких пациентов составляет около 17 лет. Хотя многие носители аномалии способны иметь детей, риск бесплодия в этой группе в 4 раза превышает популяционный. Многочисленные исследования показали, что показатели спермограммы у мужчин с добавочными Y-хромосомами варьируют от нормоспермии до азооспермии, часто с повышенным уровнем хромосомных аномалий [16, 17].

Синдром трисомии по X-хромосоме, или трипло-X, встречается с приблизительной частотой 1:1000 среди лиц женского пола [6, 14]. Как и в предыдущем случае, носительницы

аномалии часто остаются нераспознанными на протяжении всей жизни, поскольку не обладают специфическими фенотипическими признаками. Наблюдения за динамикой раннего развития девочек с кариотипом 47,XXX часто показывают высокий темп роста и физического развития. В отдельных случаях выявляются лицевые дисморфии, гипотония, клинодактилия, аномалии уrogenитальной системы. Взрослые женщины с синдромом трипло-Х часто характеризуются высоким ростом и несколько сниженной массой тела. Заметных анатомических и физиологических отклонений, как правило, не выявляется. Половое развитие и дальнейшее воспроизводство у большинства протекают нормально [19].

Общепризнанно, что речевое и общее интеллектуальное развитие пациенток с полисомией по Х-хромосоме обычно замедленное. В детском и подростковом возрасте они имеют дефицит произвольного внимания, более застенчивы, склонны отказываться от операции, предрасположены к тревожности, депрессии, психотическим расстройствам. С этого момента носительницы аномалии могут начать испытывать трудности с обучением, коммуникацией и социализацией. У многих выявляются проблемы с пространственной координацией, неуклюжесть в движениях, что для многих становится препятствием для активного участия в творческой и спортивной деятельности [10, 18].

Таким образом, изменение числа половых хромосом в кариотипе обычно не сопровождается тяжелыми и(или) несовместимыми с жизнью пороками развития, хотя такие анеуплоидии нередко регистрируются при цитогенетическом исследовании материала от спонтанных абортусов. В ряде случаев носители аномалий фенотипически неотличимы от прочих индивидуумов. Наиболее универсальными отклонениями являются задержка психомоторного развития, когнитивные нарушения той или иной степени, умственная отсталость, девиантное поведение и пр. Могут обнаруживаться аномалии сердечно-сосудистой системы, эндокринные нарушения. Однако основным поводом обращения к врачу-генетику у таких лиц являются репродуктивные нарушения.

#### **Аутосомные анеуплоидии – угроза жизни и здоровью человека**

В отличие от предыдущей группы хромосомных аномалий, анеуплоидии аутосом явля-

ются острой медицинской проблемой, так как сопровождаются тяжелыми пороками развития и снижением жизнеспособности носителей. Большинство подобных аномалий приводит к раннему прекращению развития беременности и спонтанному аборту в период до 7–9-й недели беременности [19, 20]. Из всех возможных числовых аномалий аутосом у новорожденных регистрируются только трисомии по 13, 18, 21 и 22 хромосомам. Имеются единичные сообщения о рождении детей с полиплоидиями. Во всех случаях фиксируются многочисленные пороки развития различных систем органов, обычно несовместимые с дальнейшим развитием плода. Так, медиана продолжительности жизни новорожденных с кариотипом 47,XX,+22 или 47,XY,+22 составляет лишь 4 дня [21]. Внимание медицинских генетиков в основном сосредоточено на трисомиях по 13, 18 и 21 хромосомам, совместимых с жизнью.

Трисомия по 21 хромосоме, вызывающая в постнатальном периоде синдром Дауна, является наиболее частой числовой аномалией аутосом у новорожденных обоих полов. Популяционная частота мутации составляет около 1:800. По современным данным, 96% случаев связаны с полной или регулярной формой трисомии (**рисунок 4**); 3–4% пациентов являются носителями деривативной хромосомы, возникшей в результате Робертсоновской транслокации с участием хромосомы 21; наконец, 1–2% больных имеют мозаичный вариант с клонами нормальных и аномальных клеток [22].

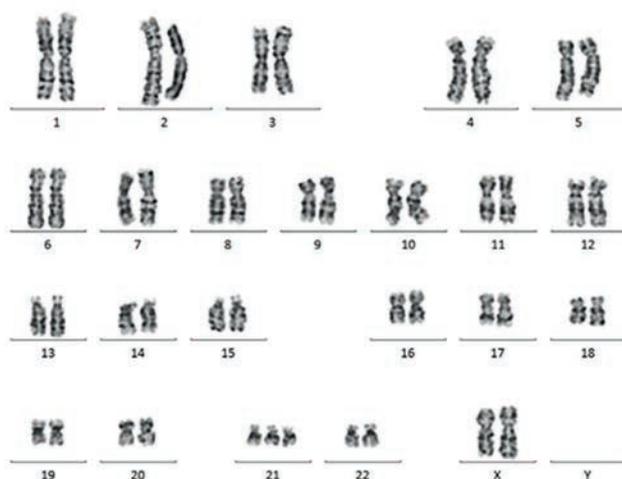
Для новорожденных с синдромом Дауна характерны специфические морфологические признаки: увеличенный язык (макроглоссия), монголоидный разрез глаз, широкая и плоская переносица, орбитальный гипертелоризм, хорошо заметные шейные (воротниковые) складки и др. При этом у большинства детей отмечаются многочисленные врожденные пороки развития, которые требуют немедленного медицинского вмешательства. Это, прежде всего, пороки сердца и крупных артерий. Недостаточность дыхательной системы выражается в относительном укорочении дыхательных путей, стенозе трахеи, что в сочетании с микрогнатией и макроглоссией создает условия для развития обструктивной болезни дыхательных путей и может вызвать апноэ сна с летальным исходом. Другим следствием дыхательной недостаточности является высокий риск инфекционных заболеваний на всем протяжении жизни больных [22, 23].

Рисунок 4.

Кариотип и фенотип пациента с синдромом Дауна

Figure 4.

Karyotype and phenotype of a patient with Down syndrome



Более половины пациентов испытывают проблемы с эндокринной системой, в частности – снижение функции щитовидной железы. Это отчасти может объяснить склонность пациентов к ожирению, а также нарушение психомоторного и интеллектуального развития. С другой стороны, частыми являются аутоиммунные состояния, включая болезнь Хашимото, диабет 1 типа, ювенильный идиопатический артрит и др. У пациентов с синдромом Дауна часто встречается нарушение гемопоэза: транзиторные миелопролиферативные расстройства в младенчестве и железодефицитная анемия в детском возрасте. Отмечается повышенная заболеваемость лейкемией. Функция иммунитета, как правило, снижена [22].

Все без исключения носители трисомии 21 демонстрируют нарушения психомоторного развития, умственную отсталость, когнитивные расстройства. Кроме того, большинство пациентов испытывают проблемы со слухом и зрением. Все это объясняет безрезультатность обучения в большинстве случаев, трудности с социализацией, неспособность к самообслуживанию. Большинство пациентов, доживших до 40 лет, имеют гистопатологические признаки болезни Альцгеймера и быстро прогрессирующую деменцию. Хотя успехи современной медицины помогают устранить или компенсировать многие пороки развития у больных синдромом Дауна, продолжительность жизни в этой группе в среднем на 18 лет меньше, чем в общей популяции [23]. При этом пораженные лица на протяжении всей жизни нуждаются в опеке со стороны родных и(или) социальных служб.

Прогноз жизни и здоровья у пациентов с синдромом Эдвардса (кариотип 46,XX,+18 или 46,XY,+18) и синдромом Патау (кариотип 46,XX,+13 или 46,XY,+13) пессимистичный (рисунок 5). Новорожденные с синдромом Эдвардса в основном погибают в течение первых двух недель жизни, и лишь 8–10% младенцев доживают до конца первого года жизни [24]. Продолжительность жизни пациентов с синдромом Патау составляет 7–10 дней, 90% новорожденных умирает в течение первого года [25]. Встречаемость двух трисомий среди новорожденных около 1/8000 и менее 1/12000 соответственно. При этом частота аномалии в раннем пренатальном периоде значительно выше. Ее дальнейшее снижение происходит вследствие естественной гибели эмбрионов и самопроизвольного выкидыша в ранние сроки беременности, а также в результате медицинских аборт, проводимых по результатам пренатальной генетической диагностики состояния плода [26].

В обоих случаях у новорожденных наблюдаются задержка роста и развития, гипотония, многочисленные аномалии и пороки органов. Наиболее универсальными фенотипическими маркерами патологии являются микрогнатия, орбитальный гипертелоризм, страбизм, эпикант, низко расположенные и деформированные ушные раковины, короткая шея, заметные шейные складки, флексорная деформация пальцев и др. Часто выявляются пороки сердца, паховая и пупочная грыжи. У младенцев мужского пола обычно наблюдается крипторхизм.

Вместе с тем есть и специфические признаки, позволяющие различить две анеуплоидии

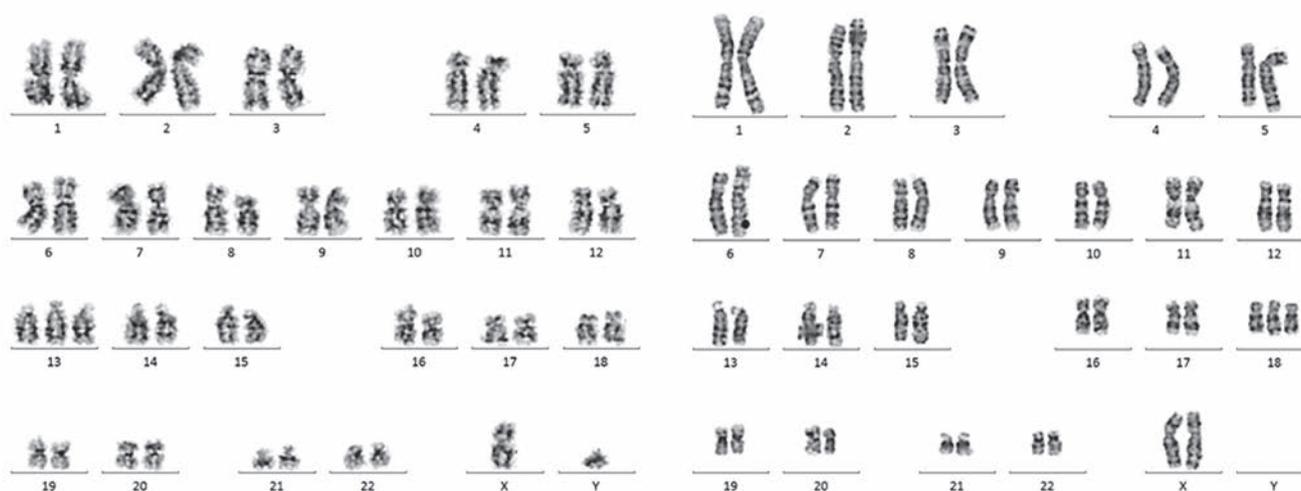


Рисунок 5.

Кариотипы с трисомией по 13 (слева) и 18 (справа) хромосомам

Figure 5.

Karyotypes with trisomies on 13 (left) and 18 (right) chromosomes

до проведения подтверждающего цитогенетического исследования. Для носителей трисомии 18 более характерен вытянутый череп, укороченная грудина, «стопа-качалка» с выступающей пяточной костью. При трисомии 13 чаще наблюдается микроцефалия, голопрозэнцефалия, аномалии глаз (микрофтальмия, колобома), расщелина неба, полидактилия.

Основными угрозами жизни для пациентов с аутосомными трисомиями являются врожденные пороки сердца, дыхательная недостаточность, поражение головного и спинного мозга. Многие пациенты нуждаются в хирургических операциях по поводу атрезии пищевода и других аномалий пищеварительной системы. Многолетний анализ выживаемости носителей полных трисомий по 13 и 18 хромосомам показывает, что, несмотря на очевидный прогресс реаниматологии и экстренной хирургии новорожденных, появление современных протоколов ухода за тяжелыми больными и соответствующего опыта, ожидаемая продолжительность жизни большинства больных данной группы (более 90%) по-прежнему едва превышает 1 год [26, 27].

В связи с этим в большинстве развитых стран запущены программы по пренатальному скринингу аутосомных трисомий и других аномалий плода различного генеза с целью их раннего выявления и прекращения беременности. Данный подход позволяет сохранить социальное и психологическое благополучие в семьях, где могли бы родиться дети с тяжелыми и(или) неизлечимыми пороками развития. При этом также существенно снижается генетический груз в популяции, уменьшается материально-техническая нагрузка на систему здравоохранения и общество в целом [28, 29]. Опыт

проведения скрининга показывает совпадение интересов государственной системы здравоохранения и участниц, так как более 85% беременных женщин принимают решение о прекращении беременности при выявлении хромосомных аномалий у плода [30].

#### Геномные мутации и проблема невынашивания беременности

Говоря о геномных мутациях у человека, нельзя обойти стороной вопрос женской репродукции. Дело в том, что хромосомные аномалии, по-видимому, являются основной причиной спонтанного прерывания беременности у женщин в сроке до 7–8 недель. Многочисленные исследования показывают, что более четверти всех беременностей не завершаются деторождением по разным причинам. Основные потери эмбрионов происходят в ранние сроки. При этом до 70% образцов спонтанных абортусов несут хромосомные аномалии. Очевидно, это является следствием интенсивного мутационного процесса у человека как биологического вида на данном этапе онтогенеза. Неудачные генетические комбинации элиминируются естественным образом задолго до рождения [19, 20].

Цитогенетическое исследование абортного материала представляет большой практический и научный интерес. Выявление структурных хромосомных аномалий у плода дает повод для проведения цитогенетического обследования родителей с целью установления возможного носителя в семье и анализа медицинских рисков для последующих беременностей. В случае выявления числовых аномалий кариотипа прогноз для последующих беременностей обычно оптимистичный, так как такие мутации считаются спонтанным событием и, вероятнее все-

го, не связаны с какими-либо функциональными репродуктивными нарушениями у супругов.

С фундаментальной биологической точки зрения исследование хромосомных аномалий в абортном материале интересно, так как позволяет раскрыть особенности функционирования кариотипа на разных этапах онтогенеза человека. Обращает на себя внимание широкий спектр хромосомных и геномных мутаций, приводящих к внутриутробной гибели эмбриона (таблица 1). Фактически, любая трисомия может оказаться летальной в течение беременности. Это касается как анеуплоидий по половым хромосомам, так и аутосомам. Дальнейшее развитие эмбриона зависит от сочетания различных эндогенных и экзогенных факторов. Однако непереносимое условие – сохранение дисомии по всем хромосомам за исключением половых, а также хромосом 13, 18, 21 и 22.

Вместе с тем, полное отсутствие в изученном материале моносомий по аутосомам может свидетельствовать о наличии внутриутробной гибели эмбрионов на еще более ранних стадиях развития, что с трудом поддается учету и цитогенетическому исследованию. Среди эмбрионов, преодолевших этот этап отбора, остается

минимальное количество носителей хромосомных аномалий несовместимых с жизнью.

Для того чтобы объяснить столь значительный вклад хромосомных нарушений в прекращение развития эмбриона, необходимо принять во внимание срок замирания беременности. По нашим данным, средняя величина этого показателя составляет 6,6 недель при предельных значениях 4 - 13 недель [19]. Этот период совпадает со временем раннего (активного) органогенеза. Происходит закладка осевого комплекса (хорда, нервная трубка, сомиты), выделение и формирование зачатков практически всех органов и систем, формирование дефинитивной плаценты. Очевидно, нарушение четкой работы наследственного аппарата из-за хромосомных аномалий в этой период может послужить достаточной причиной для прекращения дальнейшего развития эмбриона.

В заключение данной лекции следует отметить, что цитогенетическое исследование остается «золотым стандартом» изучения хромосом человека в норме и при патологиях. Основными показателями для проведения такого анализа являются пороки развития в постнатальном периоде, нарушение речевого и психомоторного развития

Таблица 1.

Частота различных хромосомных аномалий при неразвивающейся беременности [19]

Table 1.

Frequency of various chromosomal abnormalities in non-developing pregnancy [19]

Тип аномалии Anomaly type	Частота среди всех аномалий Frequency among all anomalies n (%)
<b>простые анеуплоидии, в т.ч.:</b> <b>simple aneuploidies, including:</b>	<b>24 (68,6)</b>
47,XX,+16 и 47,XY,+16	6 (17,1)
45,X	3 (8,6)
47,XXY	2 (5,7)
47,XX,+2 и 47,XY,+2	2 (5,7)
47,XX,+8	2 (5,7)
47,XX,+13	2 (5,7)
47,XX,+3	1 (2,9)
47,XX,+6	1 (2,9)
47,XX,+7	1 (2,9)
47,XX,+15	1 (2,9)
47,XY,+18	1 (2,9)
47,XY,+21	1 (2,9)
47,XY,+22	1 (2,9)
<b>двойные анеуплоидии, в т.ч.:</b> <b>double aneuploidies, including:</b>	<b>3 (8,6)</b>
48,XX,+16,+18	1 (2,9)
48,XY,+16,+20	1 (2,9)
48,XY,+16,+21	1 (2,9)
<b>полиплоидии, в т.ч.:</b> <b>polyploidies, including:</b>	<b>6 (17,1)</b>
69,XXX и 69,XXY	5 (14,3)
92,XXYY	1 (2,9)
<b>хромосомные aberrации, в т.ч.:</b> <b>chromosome aberrations, including:</b>	<b>2 (5,7)</b>
mos47,XY,+mar[9]/46,XY[11]	1 (2,9)
46,XY,der(14)t(14;15)(p11;q22),mat	1 (2,9)

у детей, бесплодие у взрослых. Сочетание классического цитогенетического анализа с современными методами пренатальной диагностики позволяет изучить кариотип даже во внутриутробном периоде онтогенеза. Это исследование является ключевым этапом пренатального скрининга,

направленного на выявление тяжелых пороков развития эмбриона и плода. Таким образом, цитогенетический анализ и сопутствующие медицинские технологии дают уникальную возможность изучения генетического здоровья не только нынешнего, но и грядущего поколения.

## Литература:

- Nagaoka SI, Hassold TJ, Hunt PA. Human aneuploidy: mechanisms and new insights into an age-old problem. *Nat Rev Genet.* 2012;13(7):493-504. <https://doi.org/10.1038/nrg3245>
- Wartosch L, Schindler K, Schuh M, Gruhn JR, Hoffmann ER, McCoy RC, Xing J. Origins and mechanisms leading to aneuploidy in human eggs. *Prenat Diagn.* 2021;41(5):620-630. <https://doi.org/10.1002/pd.5927>
- Thomas C, Cavazza T, Schuh M. Aneuploidy in human eggs: contributions of the meiotic spindle. *Biochem Soc Trans.* 2021;49(1):107-118 <https://doi.org/10.1042/BST20200043>
- Bell AD, Mello CJ, Nemes J, Brumbaugh SA, Wysoker A, McCarroll SA. Insights about variation in meiosis from 31,228 human sperm genomes. *Nature.* 2020;583(7815):259-264. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2347-0>
- Shi Q, Qiu Y, Xu C, Yang H, Li C, Li N, Gao Y, Yu C. Next-generation sequencing analysis of each blastomere in good-quality embryos: insights into the origins and mechanisms of embryonic aneuploidy in cleavage-stage embryos. *J Assist Reprod Genet.* 2020;37(7):1711-1718. <https://doi.org/10.1007/s10815-020-01803-9>
- Berglund A, Viuff MH, Skakkebaek A, Chang S, Stochholm K, Gravholt CH. Changes in the cohort composition of Turner syndrome and severe non-diagnosis of Klinefelter, 47,XXX and 47,XYY syndrome: a nationwide cohort study. *Orphanet J Rare Dis.* 2019;14(1):16. <https://doi.org/10.1186/s13023-018-0976-2>
- Shiraishi K, Matsuyama H. Klinefelter syndrome: From pediatrics to geriatrics. *Reprod Med Biol.* 2019;18(2):140-150. <https://doi.org/10.1002/rmb2.12261>
- Akcan N, Poyrazoğlu Ş, Baş F, Bundak R, Darendeliler F. Klinefelter syndrome in childhood: variability in clinical and molecular findings. *J Clin Res Pediatr Endocrinol.* 2018;10(2):100-107. <https://doi.org/10.4274/jcrpe.5121>
- Волков А.Н., Рытенкова О.И., Лысенко Д.И., Луговой К.А. Цитогенетика репродуктивных нарушений у мужчин. *Медицина в Кузбассе.* 2017;16(1):18-23.
- Bouw N, Swaab H, Tartaglia N. The impact of sex chromosome trisomies (XXX, XXY, XYY) on early social cognition: social orienting, joint attention, and theory of mind. *Arch Clin Neuropsychol.* 2022;37(1):63-77. <https://doi.org/10.1093/arclin/acab042>
- Chen W, Bai MZ, Yang Y, Sun Di, Wu S, Sun J, Wu Y, Feng Y, Wei Y, Chen Z, Zhang Z. ART strategies in Klinefelter syndrome. *J Assist Reprod Genet.* 2020;37(9):2053-2079. <https://doi.org/10.1007/s10815-020-01818-2>
- Hutaff-Lee C, Bennett E, Howell S, Tartaglia N. Clinical developmental, neuropsychological, and social emotional features of Turner syndrome. *Am J Med Genet C Semin Med Genet.* 2019;181(1):126-134. <https://doi.org/10.1002/ajmg.c.31687>
- Huang AC, Olson SB, Maslen CL. A Review of recent developments in Turner syndrome research. *J Cardiovasc Dev Dis.* 2021;8(11):138. <https://doi.org/10.3390/jcdd8110138>
- Samango-Sprouse C, Kirkcaldy E, Hall MP, Lawson P, Demko Z, Zneimer SM. Incidence of X and Y chromosomal aneuploidy in a large child bearing population. *PLoS ONE.* 2016;11(8):e0161045. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0161045>
- Urbanus E, Swaab H, Tartaglia N, Cordeiro L. The behavioral profile of children aged 1–5 years with sex chromosome trisomy (47,XXX, 47,XXY, 47, XYY). *Am J Med Genet C Semin Med Genet.* 2020;184(2):444-455. <https://doi.org/10.1002/ajmg.c.31788>
- Davis SM, Bloy L, Roberts TPL, Kowal K, Alston A, Tahsin A, Truxon A, Ross JL. Testicular function in boys with 47,XYY and relationship to phenotype. *Am J Med Genet C Semin Med Genet.* 2020;184(2):371-385. <https://doi.org/10.1002/ajmg.c.31790>
- Zhang X, Liu X, Xi Q, Zhu H, Li L, Liu R, Yu Y. Reproductive outcomes of 3 infertile males with XYY syndrome: Retrospective case series and literature review. *Medicine (Baltimore).* 2020;99(9):e19375. <http://doi.org/10.1097/MD.00000000000019375>
- Otter M, Schrandt-Stumpel C, Curfs L. Triple X syndrome: a review of the literature. *Eur J Hum Genet.* 2010;18(3):265-271. <http://doi.org/10.1038/ejhg.2009.109>
- Волков А.Н., Рытенкова О.И., Бабарыкина Т.А., Лысенко Д.И. Цитогенетическая диагностика хромосомных аномалий при неразвивающейся беременности. *Клиническая лабораторная диагностика.* 2017;62(9):553-556. <http://doi.org/10.18821/0869-2084-2017-62-9-553-556>
- Волков А.Н., Начева Л.В. Случай гипертриплоидии у абортуса при неразвивающейся беременности. *Фундаментальная и клиническая медицина.* 2020;5(1):99-102. <https://doi.org/10.23946/2500-0764-2020-5-1-99-102>
- Heinrich T, Nanda I, Rehn M, Zollner U, Friauff E, Wirbelauer J, Grimm T, Schmid M. Live-born trisomy 22: patient report and review. *Mol Syndromol.* 2012;3(6):262-269. <http://doi.org/10.1159/000346189>
- Bull MJ. Down syndrome. *N Engl J Med.* 2020;382(24):2344-2352. <http://doi.org/10.1056/NEJMra1706537>
- Landes SD, Stevens JD, Turk MA. Cause of death in adults with Down syndrome in the US. *Disabil Health J.* 2020;13(4):100947. <http://doi.org/10.1016/j.dhjo.2020.100947>
- Khan F, Jafri I. Characterization of a 16-year-old long-time survivor of Edwards syndrome. *Cureus.* 2021;13(5):e15205. <http://doi.org/10.7759/cureus.15205>
- Peroos S, Forsythe E, Pugh JH, Arthur-Farraj P, Hodes D. Longevity and Patau syndrome: what determines survival? *BMJ Case Reports.* 2012;2012:bcr0620114381. <http://doi.org/10.1136/bcr-06-2011-4381>
- Imataka G, Suzumura H, Arisaka O. Clinical features and survival in individuals with trisomy 18: a retrospective one-center study of 44 patients who received intensive care treatments. *Mol Med Rep.* 2016;139(3):2457-2466. <http://doi.org/10.3892/mmr.2016.4806>
- Goel N, Morris JK, Tucker D, de Walle HEK, Bakker MK. Trisomy 13 and 18 – prevalence and mortality – a multi-registry population based analysis. *Am J Med Genet A.* 2019;179(12):2382-2392. <http://doi.org/10.1002/ajmg.a.61365>
- Xu C, Cai X, Chen S. Comprehensive noninvasive prenatal screening for pregnancies with elevated risks of genetic disorders: protocol for a prospective, multicentre study. *BMJ Open.* 2021;11(8):e053617. <http://doi.org/10.1136/bmjopen-2021-053617>
- Martin L, Gitsels-van der Wal JT, Bax CJ, Pieters MJ, Reijerink-Verheij J, Galjaard R-J. Nationwide implementation of the noninvasive prenatal test: Evaluation of a blended learning program for counselors. *PLoS ONE.* 2022;17(5):e0267865. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0267865>
- Jacobs M, Cooper S-A, McGowan R, Nelson SM, Pell JP. Pregnancy outcome following prenatal diagnosis of chromosomal anomaly: a record linkage study of 26,261 pregnancies. *PLoS ONE.* 2016;11(12):e0166909. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0166909>

## References:

- Nagaoka SI, Hassold TJ, Hunt PA. Human aneuploidy: mechanisms and new insights into an age-old problem. *Nat Rev Genet.* 2012;13(7):493-504. <https://doi.org/10.1038/nrg3245>
- Wartosch L, Schindler K, Schuh M, Gruhn JR, Hoffmann ER, McCoy RC, Xing J. Origins and mechanisms leading to aneuploidy in human eggs. *Prenat Diagn.* 2021;41(5):620-630. <https://doi.org/10.1002/pd.5927>
- Thomas C, Cavazza T, Schuh M. Aneuploidy in human eggs: contributions of the meiotic spindle. *Biochem Soc Trans.* 2021;49(1):107-118

- <https://doi.org/10.1042/BST20200043>
4. Bell AD, Mello CJ, Nemesh J, Brumbaugh SA, Wysoker A, McCarroll SA. Insights about variation in meiosis from 31,228 human sperm genomes. *Nature*. 2020;583(7815):259-264. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2347-0>
  5. Shi Q, Qiu Y, Xu C, Yang H, Li C, Li N, Gao Y, Yu C. Next-generation sequencing analysis of each blastomere in good-quality embryos: insights into the origins and mechanisms of embryonic aneuploidy in cleavage-stage embryos. *J Assist Reprod Genet*. 2020;37(7):1711-1718. <https://doi.org/10.1007/s10815-020-01803-9>
  6. Berglund A, Viuff MH, Skakkebaek A, Chang S, Stochholm K, Gravholt CH. Changes in the cohort composition of Turner syndrome and severe non-diagnosis of Klinefelter, 47,XXX and 47,XYY syndrome: a nationwide cohort study. *Orphanet J Rare Dis*. 2019;14(1):16. <https://doi.org/10.1186/s13023-018-0976-2>
  7. Shiraiishi K, Matsuyama H. Klinefelter syndrome: From pediatrics to geriatrics. *Reprod Med Biol*. 2019;18(2):140-150. <https://doi.org/10.1002/rmb2.12261>
  8. Akcan N, Poyrazoğlu Ş, Baş F, Bundak R, Darendeliler F. Klinefelter syndrome in childhood: variability in clinical and molecular findings. *J Clin Res Pediatr Endocrinol*. 2018;10(2):100-107. <https://doi.org/10.4274/jcrpe.5121>
  9. Volkov AN, Rytenkova OI, Lysenko DI, Lugovoy KA. Cytogenetics of reproductive disorders in men. *Medicine in Kuzbass*. 2017;16(1):18-23. (In Russ).
  10. Bouw N, Swaab H, Tartaglia N. The impact of sex chromosome trisomies (XXX, XXY, XYY) on early social cognition: social orienting, joint attention, and theory of mind. *Arch Clin Neuropsychol*. 2022;37(1):63-77. <https://doi.org/10.1093/arclin/acab042>
  11. Chen W, Bai MZ, Yang Y, Sun Di, Wu S, Sun J, Wu Y, Feng Y, Wei Y, Chen Z, Zhang Z. ART strategies in Klinefelter syndrome. *J Assist Reprod Genet*. 2020;37(9):2053-2079. <https://doi.org/10.1007/s10815-020-01818-2>
  12. Hutaff-Lee C, Bennett E, Howell S, Tartaglia N. Clinical developmental, neuropsychological, and social emotional features of Turner syndrome. *Am J Med Genet C Semin Med Genet*. 2019;181(1):126-134. <https://doi.org/10.1002/ajmg.c.31687>
  13. Huang AC, Olson SB, Maslen CL. A Review of recent developments in Turner syndrome research. *J Cardiovasc Dev Dis*. 2021;8(11):138. <https://doi.org/10.3390/jcdd8110138>
  14. Samango-Sprouse C, Kırkızlar E, Hall MP, Lawson P, Demko Z, Zneimer SM. Incidence of X and Y chromosomal aneuploidy in a large child bearing population. *PLoS ONE*. 2016;11(8):e0161045. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0161045>
  15. Urbanus E, Swaab H, Tartaglia N, Cordeiro L. The behavioral profile of children aged 1–5 years with sex chromosome trisomy (47,XXX, 47,XXY, 47, XYY). *Am J Med Genet C Semin Med Genet*. 2020;184(2):444-455. <https://doi.org/10.1002/ajmg.c.31788>
  16. Davis SM, Bloy L, Roberts TPL, Kowal K, Alston A, Tahsin A, Truxon A, Ross JL. Testicular function in boys with 47,XYY and relationship to phenotype. *Am J Med Genet C Semin Med Genet*. 2020;184(2):371-385. <https://doi.org/10.1002/ajmg.c.31790>
  17. Zhang X, Liu X, Xi Q, Zhu H, Li L, Liu R, Yu Y. Reproductive outcomes of 3 infertile males with XYY syndrome: Retrospective case series and literature review. *Medicine (Baltimore)*. 2020;99(9):e19375. <http://doi.org/10.1097/MD.00000000000019375>
  18. Otter M, Schrandner-Stumpel C, Curfs L. Triple X syndrome: a review of the literature. *Eur J Hum Genet*. 2010;18(3):265-271. <http://doi.org/10.1038/ejhg.2009.109>
  19. Volkov AN, Rytenkova OI, Babarykina TA, Lysenko DI. The cytogenetic diagnostic of chromosome anomalies under non-developing pregnancy. *Russian Clinical Laboratory Diagnostics*. 2017;62(9):553-556. (In Russ). <http://doi.org/10.18821/0869-2084-2017-62-9-553-556>
  20. Volkov AN, Nacheva LV. Hypertriploidy as a cause of early embryonic arrest. *Fundamental and Clinical Medicine*. 2020;5(1):99-102. (In Russ). <https://doi.org/10.23946/2500-0764-2020-5-1-99-102>
  21. Heinrich T, Nanda I, Rehn M, Zollner U, Friauff E, Wirbelauer J, Grimm T, Schmid M. Live-born trisomy 22: patient report and review. *Mol Syndromol*. 2012;3(6):262-269. <http://doi.org/10.1159/000346189>
  22. Bull MJ. Down syndrome. *N Engl J Med*. 2020;382(24):2344-2352. <http://doi.org/10.1056/NEJMra1706537>
  23. Landes SD, Stevens JD, Turk MA. Cause of death in adults with Down syndrome in the US. *Disabil Health J*. 2020;13(4):100947. <http://doi.org/10.1016/j.dhjo.2020.100947>
  24. Khan F, Jafri I. Characterization of a 16-year-old long-time survivor of Edwards syndrome. *Cureus*. 2021;13(5):e15205. <http://doi.org/10.7759/cureus.15205>
  25. Peroos S, Forsythe E, Pugh JH, Arthur-Farraj P, Hodes D. Longevity and Patau syndrome: what determines survival? *BMJ Case Reports*. 2012;2012:bcr0620114381. <http://doi.org/10.1136/bcr-06-2011-4381>
  26. Imataka G, Suzumura H, Arisaka O. Clinical features and survival in individuals with trisomy 18: a retrospective one-center study of 44 patients who received intensive care treatments. *Mol Med Rep*. 2016;139(3):2457-2466. <http://doi.org/10.3892/mmr.2016.4806>
  27. Goel N, Morris JK, Tucker D, de Walle HEK, Bakker MK. Trisomy 13 and 18 – prevalence and mortality – a multi-registry population based analysis. *Am J Med Genet A*. 2019;179(12):2382-2392. <http://doi.org/10.1002/ajmg.a.61365>
  28. Xu C, Cai X, Chen S. Comprehensive noninvasive prenatal screening for pregnancies with elevated risks of genetic disorders: protocol for a prospective, multicentre study. *BMJ Open*. 2021;11(8):e053617. <http://doi.org/10.1136/bmjopen-2021-053617>
  29. Martin L, Gitsels-van der Wal JT, Bax CJ, Pieters MJ, Reijerink-Verheij J, Galjaard R-J. Nationwide implementation of the noninvasive prenatal test: Evaluation of a blended learning program for counselors. *PLoS ONE*. 2022;17(5):e0267865. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0267865>
  30. Jacobs M, Cooper S-A, McGowan R, Nelson SM, Pell JP. Pregnancy outcome following prenatal diagnosis of chromosomal anomaly: a record linkage study of 26,261 pregnancies. *PLoS ONE*. 2016;11(12):e0166909. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0166909>

## Сведения об авторах

**Волков Алексей Николаевич**, кандидат биологических наук, доцент кафедры биологии с основами генетики и паразитологии ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (650056, Россия, г. Кемерово, ул. Ворошилова, д. 22а).

**Вклад в статью:** цитогенетические исследования, написание статьи.

**ORCID:** 0000-0003-1169-715X

**Рытенкова Оксана Ивановна**, врач–лабораторный генетик медико-генетической лаборатории ГАУЗ «Кузбасская областная клиническая больница имени С. В. Беляева» (650066, Россия, г. Кемерово, Октябрьский пр., 22).

**Вклад в статью:** цитогенетические исследования, научное консультирование.

**ORCID:** 0000-0003-2171-702X

## Authors

**Alexey N. Volkov**, PhD, associate professor, Department of Biology, Genetics and Parasitology, Kemerovo State Medical University (22a, Voroshilova Street, Kemerovo, 650056, Russian Federation).

**Contribution:** cytogenetic analysis, wrote the manuscript.

**ORCID:** 0000-0003-1169-715X

**Dr. Oksana I. Rytenkova**, MD, doctor - laboratory geneticist, medical-genetic laboratory, Kuzbass Regional Clinical Hospital (22, Oktyabr'skiy Prospekt, Kemerovo, 650066, Russian Federation).

**Contribution:** cytogenetic analysis, scientific consulting.

**ORCID:** 0000-0003-2171-702X

Статья поступила: 16.05.2022 г.

Принята в печать: 31.08.2022 г.

Контент доступен под лицензией CC BY 4.0.

Received: 16.05.2022

Accepted: 31.08.2022

Creative Commons Attribution CC BY 4.0.

УДК 616.26-007.43

<https://doi.org/10.23946/2500-0764-2022-7-3-97-100>

# КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ РЕЦИДИВНОЙ УЩЕМЛЁННОЙ ГРЫЖИ КУПОЛА ДИАФРАГМЫ СПРАВА

ПОДОЛУЖНЫЙ В.И.<sup>1\*</sup>, СТАРЦЕВ А.Б.<sup>2</sup>, РАДИОНОВ И.А.<sup>1</sup><sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Кемерово, Россия<sup>2</sup>ГАОУЗ «Кузбасская клиническая больница скорой медицинской помощи имени М.А. Подгорбунского», г. Кемерово, Россия

## Резюме

**Цель.** Демонстрация редкого клинического случая хирургического лечения рецидивной ущемлённой грыжи купола диафрагмы на фоне сильно-го продолжительного кашля после аутопластики врождённой грыжи тридцатилетней давности.

**Материалы и методы.** Представлены клинические данные и результаты лучевых методов обследования больной, характер выполненной герниопротезирующей операции при ущемлении в грыжевых воротах толстой кишки, большого сальника и 4а сегмента печени.

**Результаты.** При сохранённой жизнеспособности кишки больной выполнена протезирующая герниопластика дефекта 10 на 8 см. в куполе диафрагмы с благоприятным исходом.

**Заключение.** При значительных нагрузках на дыхательные мышцы возможно после аутопластики врождённой грыжи купола диафраг-

мы дальнейшее расслоение её недоразвитых мышечно-апоневротических тканей с формированием грыжевого выпячивания. На фоне рецидива оперированной врождённой грыжи купола диафрагмы с ущемлением кишки предметом выбора у взрослого является лапаротомный доступ с протезирующей герниопластикой грыжевых ворот.

**Ключевые слова:** врождённая диафрагмальная грыжа, ущемлённая рецидивная диафрагмальная грыжа, хирургическое лечение, лучевая диагностика, аутогерниопластика, протезирующая герниопластика.

### Конфликт интересов

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

### Источник финансирования

Собственные средства.



### Для цитирования:

Подолужный В.И., Старцев А.Б., Радионов И.А. Клинический случай рецидивной ущемлённой грыжи купола диафрагмы справа. *Фундаментальная и клиническая медицина*. 2022; 7(3): 97-100. <https://doi.org/10.23946/2500-0764-2022-7-3-97-100>

### \*Корреспонденцию адресовать:

Подолужный Валерий Иванович, 650056, Россия, г. Кемерово, ул. Ворошилова, д. 22а, E-mail: [pvi2011@mail.ru](mailto:pvi2011@mail.ru)  
© Подолужный В.И. и др.

## CASE REPORT

# RECURRENT STRANGULATED HERNIA OF THE RIGHT HEMI-DIAPHRAGM

VALERY I. PODOLUZHNYI<sup>1</sup>\*, ANDREY B. STARTSEV<sup>2</sup>, IGOR A. RADIONOV<sup>1</sup>*Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases, Kemerovo, Russian Federation*

### For citation:

Valery I. Podoluzhnyi, Andrey B. Startsev, Igor A. Radionov. Recurrent strangulated hernia of the right hemidiaphragm. *Fundamental and Clinical Medicine*. (In Russ.). 2022;7(3): 97-100. <https://doi.org/10.23946/2500-0764-2022-7-3-97-100>

### \*Corresponding author:

Prof. Valery I. Podoluzhnyi, 22a, Voroshilova Street, Kemerovo, 650056, Russian Federation, E-mail: [pvi2011@mail.ru](mailto:pvi2011@mail.ru)  
© Valery I. Podoluzhnyi, et al.

## English ▶

**Abstract**

A multimodal approach to prevent the cognitive impairment in patients with cardiovascular diseases combines the control of major cardiovascular risk factors, cognitive recovery, and physical training. Here we discuss current advances in computer-aided (also called computer-assisted) cognitive recovery to prevent the cognitive impairment in patients with cardiovascular diseases, as this approach has a number of advantages in comparison with the conventional tools. We describe a cognitive training software to stimulate perception, attention, short-term memory, executive functions, speech, and thinking. Baseline neurological examination and neuropsychological testing are mandatory before starting a cognitive recovery. A particular attention is paid to the high prevalence of cognitive impairment in cardiac surgery patients. Around half of them have pre-operative cognitive impairments, and almost half of the patients suf-

fer from a postoperative cognitive dysfunction. Among the brain regions, prefrontal and parietal cortex and hippocampus are the most sensitive to circulatory disorders as they are supplied by the terminal branches of the cerebral arteries. Therefore, cognitive rehabilitation of cardiac surgery patients should include computer-aided cognitive training tasks activating these brain regions.

**Keywords:** cognitive impairment, computer-assisted cognitive training, cardiovascular disease, cognitive rehabilitation, postoperative cognitive dysfunction.

**Conflict of Interest**

None declared.

**Funding**

The study was carried out within the framework of the fundamental topic of the Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases, state registration number 122012000364-5 of 01/20/2022.

**Введение**

Врожденная диафрагмальная грыжа встречается у одного ребенка на 2000–2500 родившихся, они являются пороком развития и делятся на собственно диафрагмальные, грыжи пищеводного отверстия, парастернальные и френико-перикардальные. Истинная диафрагмальная грыжа возникает при недоразвитии мышечного и сухожильного слоя диафрагмы, которая выпячивается в грудную полость, образуя грыжевой мешок или сопровождается образованием сквозных дефектов. Через дефекты органы брюшной полости перемещаются в грудную и образуется ложная диафрагмальная грыжа не имеющая грыжевого мешка. Врожденные диафрагмальные грыжи в большинстве случаев требуют раннего хирургического лечения [1, 2].

**Цель исследования**

Демонстрация редкого клинического случая хирургического лечения рецидивной ущемленной грыжи купола диафрагмы на фоне сильного продолжительного кашля после аутопластики врожденной грыжи тридцатилетней давности.

**Материалы и методы**

Представлены клинические данные и результаты лучевых методов обследования больной с рецидивной ущемленной грыжей купола диафрагмы справа, характер выполненной гер-

ниопротезирующей операции при ущемлении в грыжевых воротах толстой кишки, большого сальника и 4а сегмента печени.

**Результаты и обсуждение**

Больная П., 30 лет, 18.10.21 года поступила в хирургический стационар Кузбасской больницы скорой медицинской помощи им. М.А. Подгорбунского с жалобами на постоянные боли в нижних отделах грудной клетки справа по переднебоковой поверхности. Заболела за 3 недели до госпитализации. Появился сильный кашель, лечилась амбулаторно с подозрением на плевропневмонию справа. Самостоятельно обратилась к хирургам в связи с появившимися болями в нижних отделах грудной клетки справа, запорами.

Из анамнеза выяснено, что пациентка в 1990 году вскоре после рождения была оперирована по поводу врожденной диафрагмальной грыжи. Объективно: состояние ближе к удовлетворительному, пульс 80 уд. в мин., гипертермии нет, АД 120/80 мм. рт. ст. Имеется послеоперационный рубец после переднебоковой торакотомии в 7 межреберье справа. Живот не вздут, мягкий, безболезненный, печень не определяется. Общеклинические и биохимические анализы без отклонений от нормы. На обзорной рентгенограмме грудной клетки и компьютерной томограмме выше правого купола диафрагмы определяются ячеистые полости (заполненная газом

петля кишки) и небольшое смещение средостения влево (**рисунок 1**). При ультразвуковом исследовании в диафрагмально-медиастинальном пространстве справа выявлена петля кишки и свободная жидкость в небольшом количестве.

Состояние расценено как рецидивная ущемлённая диафрагмальная грыжа. Протокол операции лапаротомии, диафрагмотомии, пластики диафрагмы сетчатым протезом, дренирования правой плевральной и брюшной полости от 18.10.2021 г.: под эндотрахеальным наркозом паракостальный разрез справа. В подпеченочном пространстве умеренно выраженный спаечный процесс. Спайки рассечены. В правом куполе диафрагмы имеется дефект (грыжевые ворота, в которых ущемлены большой сальник, печеночный угол толстой кишки и участок печени – 4а сегмент). Диафрагмотомия, ущемлённые органы низведены в брюшную полость, печень и кишка жизнеспособны, сальник синюшного цвета, резецирован. В плевральной полости выпота нет. Дефект в диафрагме размером 10x8 см. (**рисунок 2**), края сопоставляются без значительного натяжения.

Дренирование правой плевральной полости трубчатым дренажом. Дефект в диафрагме ушит (**рисунок 3**).

Дополнительно линия швов укреплена полипропиленовым сетчатым протезом 15 x 10 см. (**рисунок 4**).

Сохранившаяся часть правого купола без видимой патологии. Контроль гемостаза, счет материалов, дренирование поддиафрагмального простран-

**Рисунок 4.**

Линия швов укреплена полипропиленовым сетчатым протезом.

**Figure 4.**

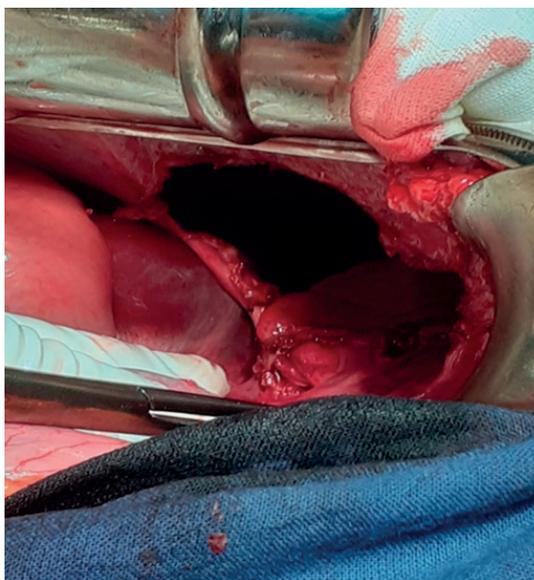
The suture line is reinforced with a polypropylene mesh.

**Рисунок 1.**

Петля кишки в правой плевральной полости.

**Figure 1.**

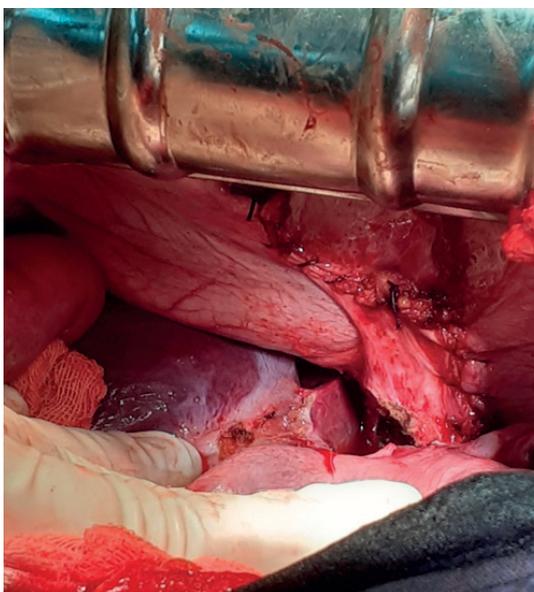
Intestinal loops in the right pleural cavity.

**Рисунок 2.**

Дефект в диафрагме.

**Figure 2.**

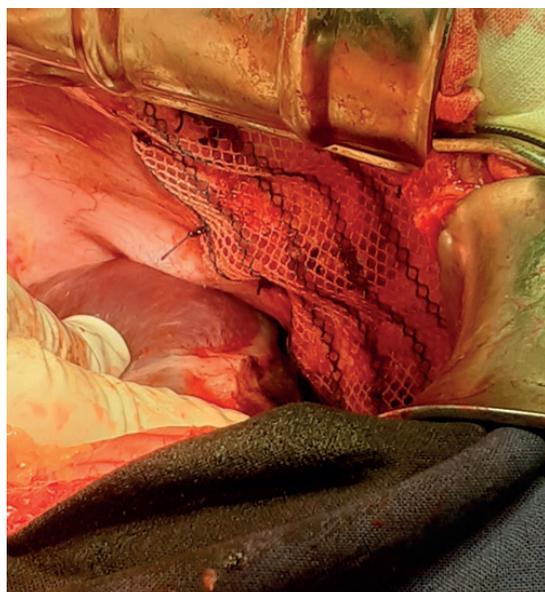
Diaphragm defect.

**Рисунок 3.**

Дефект купола диафрагмы ушит.

**Figure 3.**

Closure of diaphragmatic hernia.



ства трубкой, швы на рану послойно, асептическая повязка. Послеоперационный период протекал с явлениями серозного плеврита. Плевральный дренаж удалён на 5-е сутки. На 10-е сутки больная выписана с выздоровлением. Через 7 месяцев жалоб нет, состояние удовлетворительное.

Данное клиническое наблюдение показывает относительную надёжность аутопластики при недоразвитии мышечного и сухожильного слоя диафрагмы. В экстремальных ситуациях при значительных нагрузках на дыхательные мышцы возможно дальнейшее расслоение недоразвитых мышечно-апоневротических тканей диафрагмы с формированием грыжевого выпячивания.

## Заключение

Большинство публикаций по диафрагмальным грыжам касаются ущемлений в пищеводном отверстии диафрагмы. Редкими клиническими случаями у взрослых являются ущемлённые грыжи парастернальные, френико-перикардальные и купола диафрагмы [1, 3, 4]. Данное клиническое наблюдение демонстрирует рецидив грыжи купола диафрагмы на фоне сильного продолжительного кашля после аутопластики тридцатилетней давности. Предметом выбора у взрослых при рецидивной грыже купола диафрагмы с ущемлением кишки является лапаротомный доступ и протезирующая герниопластика грыжевых ворот.

## Литература:

1. Рысбекова Ч.Р., Касиев Н.К. Распространённость врождённых пороков развития у новорожденных. *Наука, новые технологии и инновации Кыргызстана*. 2019;9:61-64. <https://doi.org/10.26104/NN-TIK.2019.45.557>
2. Тажиметов Б.М., Исмаилов М.К., Жаникулов Е.Н. Тактика лечения диафрагмальных грыж новорожденных. *Вестник Казахского национального медицинского университета*. 2019;1:186-188.
3. Киселевич М.М., Киселевич М.Ф., Ефремова О.А., Харитонов М.В., Путивцева О.С. Редкий клинический случай ущемлённой диафрагмальной грыжи Моргagni-Ларрея в старческом возрасте. *Дальневосточный медицинский журнал*. 2019;4:77-80. <https://doi.org/10.35177/1994-5191-2019-4-77-80>
4. Иванов Ю.В., Епифанцев Е.А., Лысенко А.О., Станкевич В.Р., Смирнов А.В., Злобин А.И., Ахмедьянов А.Р., Грицун В.Ю., Величко Е.А. Особенности клинической картины, диагностики и лечения ущемлённой посттравматической диафрагмальной грыжи (клинические наблюдения). *Клиническая и экспериментальная хирургия. Журнал имени академика Б.В. Петровского*. 2021;9(3(33)):143-149. <https://doi.org/10.33029/2308-1198-2021-9-3-143-149>

## References

1. Rysbekova ChR, Kasiev NK. Prevalence of congenital malformations in newborns. *Science, new technologies and innovations of Kyrgyzstan*. 2019;9:61-64. (In Russ). <https://doi.org/10.26104/NN-TIK.2019.45.557>
2. Tazhimetov BM, Ismailov MK, Zhanikulov EN. Tactics of treatment of diaphragmatic hernias in newborns. *Bulletin of the Kazakh National Medical University*. 2019;1:186-188. (In Russ).
3. Kiselevich MM, Kiselevich MF, Efremova OA, Charitonov MV, Putivceva OS. A rare case of diaphragmatic Morgagni-Larrea strangulated hernia in old age. *Dal'nevostochnyy meditsinskiy zhurnal*. 2019;4:77-80. (In Russ). <https://doi.org/10.35177/1994-5191-2019-4-77-80>
4. Ivanov YV, Epifantsev EA, Lysenko AO, Stankevich VR, Smirnov AV, Zlobin AI, Akhmedyanov AR, Gritsun VYU, Velichko EA. Characteristics of the clinical picture, diagnosis and treatment of strangulated post-traumatic diaphragmatic hernia (clinical observations). *Clinical and experimental surgery. Petrovsky journal*. 2021;9(3(33)):143-149. (In Russ). <https://doi.org/10.33029/2308-1198-2021-9-3-143-149>

## Сведения об авторах

**Подолужный Валерий Иванович**, доктор медицинских наук, профессор кафедры госпитальной хирургии ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (650056, Россия, г. Кемерово, ул. Ворошилова, д. 22а).  
**Вклад в статью:** лечение больной, изучение литературных данных, идея написания статьи, её написание.  
**ORCID:** 0000-0002-0559-8537

**Старцев Андрей Борисович**, кандидат медицинских наук, заведующий хирургическим отделением №1 ГАУЗ ККБ СМП им. М.А. Подгорбунского (650000, Россия, г. Кемерово, ул. Н. Островского, д. 22).  
**Вклад в статью:** хирургическое лечение больной, написание статьи.  
**ORCID:** 0000-0001-9774-2163

**Радионо Игорь Александрович**, доктор медицинских наук, профессор кафедры госпитальной хирургии ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (650056, Россия, г. Кемерово, ул. Ворошилова, д. 22а).  
**Вклад в статью:** обобщение материалов, написание и оформление статьи.  
**ORCID:** 0000-002-9221-588X

## Authors

**Prof. Valery I. Podoluzhnyi**, MD, DSc, Professor, Head of the Department of Hospital Surgery, Kemerovo State Medical University (22a, Voroshilova Street, Kemerovo, 650056, Russian Federation).  
**Contribution:** provided the medical care; conceived and designed the study; performed literature search and analysis; wrote the manuscript.  
**ORCID:** 0000-0002-0559-8537

**Dr. Andrey B. Startsev**, MD, PhD, Head of the Surgical Unit #1, Regional Clinical Emergency Hospital (22, Nikolaya Ostrovskogo Street, Kemerovo, 650000, Russian Federation).  
**Contribution:** provided the medical care; wrote the manuscript.  
**ORCID:** 0000-0001-9774-2163

**Prof. Igor A. Radionov**, MD, DSc, Professor, Department of Hospital Surgery, Kemerovo State Medical University (22a, Voroshilova Street, Kemerovo, 650056, Russian Federation).  
**Contribution:** wrote the manuscript.  
**ORCID:** 0000-002-9221-588X

Статья поступила: 02.06.2022г.  
Принята в печать: 31.08.2022г.  
Контент доступен под лицензией CC BY 4.0.

Received: 02.06.2022  
Accepted: 31.08.2022  
Creative Commons Attribution CC BY 4.0.