

Журнал основан в январе 1955 г.

Издатель:

Акционерное общество "ЭКОлаб"

Почтовый адрес:

142530, Московская область,
г. Электрогорск, ул. Буденного, д. 1.

Телефон редакции:

8-916-201-80-47,

E-mail: clin.lab@yandex.ru

Зав. редакцией Л.А. Шанкина

Художественный редактор

Ч.А. Сафаров

**Ответственность за достоверность
информации, содержащейся в рекламных
материалах, несут рекламодатели**

Сдано в набор 20.05.2023.

Подписано в печать 10.06.2023.

Формат 60 × 88½.

Печать офсетная.

Печ. л. 8,00

Уч.-изд. л. 8,95.

WWW страница: <https://clinlabdia.ru/>

E-mail: cingiz.62@mail.ru

ПИ № ФС77-37760 от 07. 10. 2009 г.

Все права защищены. Ни одна часть этого из-
дания не может быть занесена в память
компьютера либо воспроизведена любым
способом без предварительного письменного
разрешения издателя.

Журнал представлен в базе данных
Российско-го индекса научного цитирования
(РИНЦ) и в следующих международных
информационно-справочных изданиях:
Abstracts of Microbiology, Adis International Ltd
Reactions Weekly, Chemical Abstracts (Print),
Chemical Titles, EBCOhost Biological Abstracts
(Online), Elsevier BV EMBASE, Elsevier BV
Scopus, Excerpta Medica, Abstract Journals,
Index Medicus, Index to Dental Literature, OCLC
Article First, Reactions Weekly (Print), Thomson
Reuters Biological Abstracts (Online), Thomson
Reuters BIOSIS Previews, VINITI RAN Referativnyi
Zhurnal, Ulrich's International Periodicals Directory.

Индекс Ф81645 — для подписчиков

Подписка через Интернет:

https://www.akc.ru/itm/clinic_heskay_a-laboratornay_adiagnostika/

Подписка на электронную версию:

https://elibrary.ru/title_about_new.asp?id=7849

ISSN 0869-2084.

Клин. лаб. диагностика. 2023. №6.
313-380.

Главный редактор:

А.Ю. МИРОНОВ, д. м. н., профессор (Москва, Россия)

ЗАМЕСТИТЕЛЬ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА:

Харсеева Г.Г., д.м.н., профессор, (Ростов-на-Дону, Россия);

НАУЧНЫЙ РЕДАКТОР:

Чеботарь И.В., д.м.н. (Москва, Россия);

ОТВЕТСТВЕННЫЙ СЕКРЕТАРЬ:

Андреева И.И., д.м.н., доцент (Ростов-на-Дону, Россия);

ЧЛЕНЫ РЕДАКЦИОННОЙ КОЛЛЕГИИ:

Гильманов А.Ж., д.м.н., профессор (Уфа, Россия);

Добровольский А.Б., д.б.н., профессор (Москва, Россия);

Иванов А.А., д.м.н., профессор (Москва, Россия);

Марданлы С.Г., д.м.н., профессор (Электрогорск, Россия);

Тотолян А.А., академик РАН, д.м.н., профессор (Санкт-Петербург, Россия)

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ:

Арипов А.Н., д.м.н., профессор (Ташкент, Узбекистан);

Вавилова Т.В., д.м.н., профессор (Санкт-Петербург, Россия);

Горбунов В.А., к.м.н., доцент (Минск, Беларусь);

Долгих Т.И., д.м.н., профессор (Омск, Россия);

Ельчанинова С.А., д.м.н., профессор (Барнаул, Россия);

Индутный А.В., д.м.н., доцент (Омск, Россия);

Керимов С.Г., д.м.н., профессор (Баку, Азербайджан);

Козлов А.В., д.м.н., профессор (Санкт-Петербург, Россия);

Кочетов А.Г., д.м.н., профессор (Москва, Россия);

Кушлинский Н.Е., академик РАН, д.м.н., профессор (Москва, Россия);

Маматкулов И.Х., д.м.н., профессор (Ташкент, Узбекистан);

Первушин Ю.В., к.м.н., профессор (Ставрополь, Россия);

Пикалов И.В., д.м.н., профессор (Новосибирск, Россия);

Сергеев А.Ю., д.м.н., профессор (Томск, Россия);

Талыбов Т.Г., академик НАН, д.б.н., профессор (Нахчыван, Азербайджан);

Тарасенко О.А., д.м.н., профессор (Москва, Россия);

Тартаковский И.С., д.б.н., профессор (Москва, Россия);

Цвиренко С.В., д.м.н., профессор (Екатеринбург, Россия);

Шибанов А.Н., к.ф.-м.н. (Москва, Россия);

Эмануэль В.Л., д.м.н., профессор (Санкт-Петербург, Россия);

Яровая Г.А., д.б.н., профессор (Москва, Россия)

The Journal is founded in 1955.

Publisher:

Closed joint-stock company "ECOLab
142530, Moscow region, Elektrogorsk,
st. Budyonny, d. 1., CJSC «ECOLab»

Editorial office phone:
8-916-201-80-47,
E-mail: clin.lab@yandex.ru

Managing editor L.A. Shankina

Art editor Ch.A. Safarov

**The responsibility for credibility of
information contained in advertising materials
is accounted for advertisers**

WWW страница: <https://clinlabdia.ru/>
E-mail: cingiz.62@mail.ru

PI No. FS77-37760 of 07.10. 2009

All rights reserved. Any part of this edition can
not be entered computer memory nor be
reproduced with any other mode without
preliminary permission of editor in written form.

The Journal is presented in data base of the
Russian index of scientific quotation (RiNZ) and
in following I&R editions: Abstracts of
Microbiology, Adis International Ltd Reactions
Weekly, Chemical Abstracts (print),
Chemical Titles, EBCO-host Biological
Abstracts (Online), Elsevier BV EMBASE,
Elsevier BV Scopus, Excerpta Medica,
Abstract Journals, Index Medicus, Index to
Dental Literature, OCLC Article First, Reactions
Weekly (Print), Thomson Reuters Biological Ab-
stracts (Online), Thomson Reuters BIOSIS Pre-
views, VINITI RAN Referativnyi Zhurnal, Ulrich's
International Periodicals Directory.

ISSN 0869-2084.

Editor-in-Chief:

A.Yu. MIRONOV, Dr. Sci. (Med.), Professor (*Moscow, Russia*)

DEPUTIE EDITOR-IN-CHIEF:

Galina G. Kharseeva, Dr. Sci. (Med.), Professor (*Rostov-on-Don, Russia*);

SCIENTIFIC EDITOR:

Igor V. Chebotar, Dr. Sci. (Med.) (*Moscow, Russia*);

EXECUTIVE SECRETARY:

Irina I. Andreeva, Dr. Sci. (Med.), Associate Professor (*Rostov-on-Don, Russia*);

EDITORIAL BOARD MEMBERS:

Aleksandr Zh. Gilmanov, Dr. Sci. (Med.), Professor (*Ufa, Russia*);

Anatoliy B. Dobrovolsky, Dr. Sci. (Biol.), Professor (*Moscow, Russia*);

Aleksey A. Ivanov, Dr. Sci. (Med.), Professor (*Moscow, Russia*);

Seifaddin G. Mardany, Dr. Sci. (Med.), Professor (*Elektrogorsk, Russia*);

Areg A. Totolyan, the RAS Academician, Dr. Sci. (Med.), Professor (*St. Petersburg, Russia*)

EDITORIAL COUNCIL MEMBERS:

Abdumalik N. Aripov, Dr. Sci. (Med.), Professor (*Tashkent, Uzbekistan*);

Tatiana V. Vavilova, Dr. Sci. (Med.), Professor (*St. Petersburg, Russia*);

Vladimir A. Gorbunov, Cand. Sci. (Med.), Associate Professor (*Minsk, Belarus*);

Tatiana I. Dolgikh, Dr. Sci. (Med.), Professor (*Omsk, Russia*);

Svetlana A. Elchaninova, Dr. Sci. (Med.), Professor (*Barnaul, Russia*);

Anton V. Indutny, Dr. Sci. (Med.), Associate Professor (*Omsk, Russia*);

Sanan G. Kerimov, Dr. Sci. (Med.), Professor (*Baku, Azerbaijan*);

Anton V. Kozlov, Dr. Sci. (Med.), Professor (*St. Petersburg, Russia*);

Anatoliy G. Kochetov, Dr. Sci. (Med.), Professor (*Moscow, Russia*);

Nikolay E. Kushlinskii, the RAS Academician, Dr. Sci. (Med.), Professor (*Moscow, Russia*);

Ibrokhim Kh. Mamatkulov, Dr. Sci. (Med.), Professor (*Tashkent, Uzbekistan*);

Iuriy V. Pervushin, Cand. Sci. (Med.), Professor (*Stavropol, Russia*);

Iliya V. Pikalov, Dr. Sci. (Med.), Professor (*Novosibirsk, Russia*);

Aleksey Yu. Sergeev, Dr. Sci. (Med.), Professor (*Tomsk, Russia*);

Tariel G. Talybov, the NAN Academician, Dr. Sci. (Biol.), Professor (*Nakhchivan, Azerbaijan*);

Olga A. Tarasenko, Dr. Sci. (Med.), Professor (*Moscow, Russia*);

Igor S. Tartakovsky, Dr. Sci. (Biol.), Professor (*Moscow, Russia*);

Sergey V. Tsvirenko, Dr. Sci. (Med.), Professor (*Ekaterinburg, Russia*);

Aleksandr N. Shibanov, Cand. Sci. (Ph-m.) (*Moscow, Russia*);

Vladimir L. Emanuel, Dr. Sci. (Med.), Professor (*St. Petersburg, Russia*);

Galina A. Yarovaya, Dr. Sci. (Biol.), Professor (*Moscow, Russia*)

СОДЕРЖАНИЕ

БИОХИМИЯ

Коваленко Н.В., Кит О.И., Максимов А.Ю., Демидова А.А.

Особенности протеома аспириата полости матки у больных с эндометриальной аденокарциномой и серозным раком тела матки 317

Муркамилов И.Т., Айтбаев К.А., Муркамилова Ж.А., Фомин В.В., Юсупов Ф.А., Юсупова Т.Ф., Юсупова З.Ф., Саткыналиева З.Т., Тологонов Б.Т., Гасанов К.А.

Оценка факторов риска неблагоприятных сердечно-сосудистых и почечных осложнений при сахарном диабете 2-го типа в пожилом и старческом возрасте. 323

Вольхина И.В., Винников И.С.

Клиническое значение фактора роста нервов (обзор литературы) 333

ГЕМАТОЛОГИЯ

Габрильчак А.И., Гусякова О.А., Халиулин А.В., Кузнецова О.Ю.

Особенности мегакариоцитогаммы костного мозга при первичной иммунной тромбоцитопении в зависимости от возраста 341

ИММУНОЛОГИЯ

Ащина Л.А., Баранова Н.И., Лесина О.Н., Болгова А.И.

Показатели хемилюминесцентного анализа нейтрофилов у больных COVID-19 349

МИКРОБИОЛОГИЯ

Мангутов Э.О., Харсеева Г.Г., Подойницына О.А., Носков А.К., Кругликов В.Д., Алутина Э.Л., Горох А.М., Воронина Н.А., Ивлиева О.Н.

Corynebacterium spp.: анализ профилей резистентности к антимикробным препаратам у изолятов от больных с воспалительными заболеваниями респираторного тракта и практически здоровых лиц 356

Петрова О.А., Червинец В.М., Червинец Ю.В., Михайлова Е.С., Григорьянц Э.О., Леонтьева А.В., Самоукина А.М.

Формирование кишечной микробиоты недоношенных новорожденных детей, получавших и не получавших курс антибиотиков и пробиотиков 365

ОРГАНИЗАЦИЯ ЛАБОРАТОРНОЙ СЛУЖБЫ

Ивойлов О.О., Кочетов А.Г., Гимадиев Р.Р., Гераскин А.И.

Оценка трудозатрат персонала автоматизированной биохимической лаборатории. 371

ВНИМАНИЮ АВТОРОВ И ЧИТАТЕЛЕЙ!

Подписку на печатное издание журнала
«Клиническая лабораторная диагностика»
можно оформить через агентство «Книга-Сервис».
Подписной индекс 81645 или через
сайт журнала **clinlabdia.ru**.
На электронную версию журнала через **elibrary.ru**

CONTENTS

BIOCHEMISTRY

Kovalenko N.V., Kit O.I., Maksimov A.Yu., Demidova A.A.

Features of the uterine cavity aspirate proteome in patients with endometrial adenocarcinoma and serous cancer of the uterine body 317

Murkamilov I.T., Aitbaev K.A., Murkamilova Zh.A., Fomin V.V., Yusupov F.A., Yusupova T.F., Yusupova Z.F., Satkynaliyeva Z.T., Tologonov B.T., Gassanov K.A.

Assessment of risk factors for adverse cardiovascular and renal complications in type 2 diabetes mellitus in elderly and old age 323

Volkhina I.V., Vinnikov I.S.

Clinical significance of nerve growth factor (review of literature). 333

HEMATOLOGY

Gabrilchak A.I., Gussyakova O.A., Khaliulin A.V., Kuznetsova O.Yu.

Features of bone marrow megakaryocytopoiesis in primary immune thrombocytopenia depending on age 341

IMMUNOLOGY

Aschina L.A., Baranova N.I., Lesina O.N., Bolgova A.I.

Chemiluminescent analysis of neutrophils in COVID-19 patients. 349

MICROBIOLOGY

Mangutov E.O., Kharseeva G.G., Podoyntsina O.A., Noskov A.K., Kruglikov V.D., Alutina E.L., Gorokh A.M., Voronina N.A., Ivlieva O.N.

Corynebacterium spp.: analysis of antimicrobial resistance profiles in isolates from patients with inflammatory diseases of the respiratory tract and practically healthy individuals 356

Петрова О.А., Червинец В.М., Червинец Ю.В., Михайлова Е.С., Григорьянц Э.О., Леонтьева А.В., Самоукина А.М.

Formation of the intestinal microbiota of premature newborns without and after taking antibiotics and probiotics 365

ORGANIZATION LABORATORY SERVICE

Ivoylov O.O., Kochetov A.G., Gimadiev R.R., Geraskin A.I.

Estimation of labor costs of the automated biochemistry laboratory staff 371

БИОХИМИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2023

Коваленко Н.В.¹, Кит О.И.², Максимов А.Ю.², Демидова А.А.³

ОСОБЕННОСТИ ПРОТЕОМА АСПИРАТА ПОЛОСТИ МАТКИ У БОЛЬНЫХ С ЭНДОМЕТРИАЛЬНОЙ АДЕНОКАРЦИНОМОЙ И СЕРОЗНЫМ РАКОМ ТЕЛА МАТКИ

¹ГБУЗ «Волгоградский областной клинический онкологический диспансер», 400138, Волгоград, Россия;

²ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава РФ, 344019, Ростов-на-Дону, Россия;

³ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет», 344022, г. Ростов-на-Дону, Россия

Целью работы явилось повысить информативность аспирационной биопсии эндометрия для дифференциальной диагностики гистологических типов злокачественных эпителиальных опухолей тела матки путем протеомного анализа аспирата. В работу включены 249 пациенток с диагнозом эндометриальной аденокарциномы (ЭК), 33 больные серозным раком тела матки (СРТМ), 23 здоровые пациентки контрольной группы. Взятие материала из полости матки проводили при помощи аспирационного катетера Pipelle. Идентификацию белков осуществляли с помощью времяпротетной масс-спектрометрии. Иммуногистохимическую оценку экспрессии белка DJ-1 и L1CAM выполняли в ткани опухолевых образцов. В результате исследования установлено, что при ЭК и СРТМ протеомный профиль маточного аспирата различался. При ЭК в отличие от здоровых женщин в протеоме маточного аспирата возрастало долевое присутствие белков семейства ABRACL, альфа-енолазы, аннексина A3, белковой дегликазы DJ-1, фосфоглицератмутазы. У пациентов с СРТМ по сравнению с больными ЭК в масс-спектрометрическом профиле повышалась удельная значимость белков молекулы клеточной адгезии L1 (L1CAM), DJ-1, убиквитин-конъюгирующего фермента E2 наряду со снижением на электрофореграммах площади E-кадгерина-1. В опухолевых образцах прямое иммуногистохимическое исследование экспрессионной активности мажорных белков из масс спектра DJ-1 и L1CAM подтвердило различие их экспрессии опухолевыми клетками в зависимости от гистологического типа рака тела матки. Таким образом, выявление характерных изменений протеома маточного аспирата можно использовать при дифференциальной диагностике гистологических типов злокачественных эпителиальных новообразований матки на дооперационном этапе.

Ключевые слова: рак тела матки; протеомный профиль; аспират полости матки; эндометриальная аденокарцинома; серозный рак тела матки.

Для цитирования: Коваленко Н.В., Кит О.И., Максимов А.Ю., Демидова А.А. Особенности протеома аспирата полости матки у больных с эндометриальной аденокарциномой и серозным раком тела матки. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2023; 68 (6): 317-322. DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2023-68-6-317-322>

Для корреспонденции: Демидова Александра Александровна, д-р мед. наук, доц., зав. кафедрой медицинской и биологической физики; e-mail: alald@inbox.ru

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 06.04.2023

Принята к печати 11.04.2023

Опубликовано 05.06.2023

Kovalenko N.V.¹, Kit O.I.², Maksimov A.Yu.², Demidova A.A.³

FEATURES OF THE UTERINE CAVITY ASPIRATE PROTEOME IN PATIENTS WITH ENDOMETRIAL ADENOCARCINOMA AND SEROUS CANCER OF THE UTERINE BODY

¹Volgograd Regional Clinical Oncological Dispensary, 400138, Volgograd, Russia;

²«National Medical Research Center of Oncology» of Ministry of Health of the Russian Federation, 344019, Rostov-on-Don, Russia;

³Rostov State Medical University of the Ministry of Health of Russia, 344002, Rostov-on-Don, Russia

The aim of the work was to expand the information content of endometrial aspiration biopsy for differential diagnosis of histological types of malignant epithelial tumors of the uterine body by proteomic analysis of aspirate. The study included 249 patients diagnosed with endometrial adenocarcinoma (EC), 33 patients with serous uterine body cancer (SUBC) and 23 healthy patients of the control group. Material was taken from the uterine cavity using a Pipelle aspiration catheter. Proteins were identified using time-of-flight mass spectrometry. Immunohistochemical evaluation of DJ-1 and L1CAM protein expression was performed in the tissue of tumor samples. The proteomic profile of uterine aspirate is different in EC and SUBC. In EC, in contrast to healthy women, the proportion of ABRACL family proteins, alpha-enolase, annexin A3, protein deglycase DJ-1, and phosphoglycerate mutase increases in the uterine aspirate proteome. Compared to patients with EC, the specific significance of proteins of the cell adhesion molecule L1 (L1CAM), DJ-1, and ubiquitin-conjugating enzyme E2 increases in the mass spectrum in patients with SUBC, along with a decrease in the area of E-cadherin-1 on electrophoregrams, in comparison with patients with EC. In tumor samples, a direct immunohistochemical study of the expression activity of major proteins from the DJ-1 and L1CAM mass spectrum confirmed the difference in their expression by tumor cells depending on the histological type of uterine body cancer. So, identification of characteristic changes in the uterine aspirate proteome can be used in the differential diagnosis of histological types of malignant epithelial neoplasms of the uterus at the preoperative stage

Key words: uterine cancer; proteomic profile; uterine cavity aspirate; endometrial cancer; serous uterine body cancer.

For citation: Kovalenko N.V., Kit O.I., Maksimov A.Yu., Demidova A.A.

Features of the uterine cavity aspirate proteome in patients with endometrial adenocarcinoma and serous cancer of the uterine body. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2023; 68 (6): 317-322 (in Russ.). DOI: https://doi.org/10.51620/0869-2084-2023-68-6-317-322

For correspondence: Demidova A.A., doctor of Medical Sciences, Associate Professor, Head of the Department of Medical and Biological Physics; e-mail: alald@inbox.ru

Information about authors:

Kovalenko N.V., https://orcid.org/0000-0001-6375-9039;
Kit O.I., https://orcid.org/0000-0003-3061-6108;
Maksimov A.Yu., https://orcid.org/0000-0002-1397-837X;
Demidova A.A., https://orcid.org/0000-0003-3545-9359.

Acknowledgments. *The study had no sponsor support.*

Conflict of interest. *The authors declare no conflicts of interests.*

Received 06.04.2023

Accepted 11.04.2023

Published 05.06.2023

Введение. Несмотря на успехи лечения рака тела матки (РТМ) и высокую выживаемость больных, при серозном типе злокачественной эпителиальной опухоли отмечается агрессивное течение болезни с быстрым распространением и развитием летального исхода [1]. Доля серозной карциномы среди всех случаев РТМ составляет 10% [2]. Серозный РТМ является причиной 39% смертей среди всех умерших больных от рака эндометрия [2]. Для серозного РТМ характерны выявляемость на поздних стадиях болезни (40-62%), высокая вероятность развития рецидивов (61%), скоротечного внутрибрюшинного распространения опухолевого процесса и появления метастазов в сальник (24%), смерти больных [3].

Молекулярно-генетические маркеры широко используются в онкогинекологии и имеют высокую клиническую и прогностическую значимость [4-7]. При исследовании контактных с опухолью биологических жидкостей с использованием технологий геномики и протеомики возможно получение новых сведений об экспрессии белков опухолевыми клетками. Аспират полости матки у больных РТМ относится к биологическим средам, контактирующим со злокачественным новообразованием тела матки [8].

До использования протеомных технологий подчас выявление патологических белков в биологических средах проводили по принципу «один лабораторный тест - один протеин», что значительно затрудняло поиск информативных биомаркеров. Одновременная идентификация широкой группы связанных между собой белков в одной среде возможна при протеомном анализе [8]. Поиск лабораторных маркеров, позволяющих провести скрининг агрессивных форм РТМ при массовых обследованиях пациенток, остается актуальной задачей онкологии и может быть связан с созданием протеомной карты такой биологической среды как маточный аспират.

В связи с вышеизложенным, целью работы явилось расширить информативность аспирационной биопсии эндометрия для дифференциальной диагностики гистологических типов злокачественных эпителиальных опухолей тела матки путем протеомного анализа аспириата.

Материал и методы. В работу включены 282 пациентки с диагнозом РТМ (С54 по МКБ10). У всех больных при гистологическом исследовании опухолевых образцов были идентифицированы злокачественные эпителиальные опухоли. По международной гистологической классификации РТМ (классификация Всемирной организации здравоохранения, 4-е издание, 2013) у 249 пациенток выявлена эндометриальная аденокарцинома (ЭК) (код классификации 8380/3) и у 33 женщин серозный рак тела матки (СРТМ) (код классификации 8441.3). В контрольную группу включены 23 здоровые пациентки.

Добровольное участие пациенток в работе подтверждалось их письменным согласием. Научное исследование одобрено Локальным этическим комитетом ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава РФ (протокол № 11 от 28.09.2022 г.).

Критериями включения явились: гистологически подтвержденный РТМ (С54 по МКБ10) при гистероскопии с направленной биопсией эндометрия; одновременное выполнение Пайпель-биопсии. Критерии исключения: декомпенсация сопутствующих соматических заболеваний, онкологические заболевания иной локализации, гормональное или противоопухолевое лечение перед взятием образцов.

Средний возраст пациенток с ЭК соответствовал $63,7 \pm 2,1$ года, с диагнозом СРТМ $65,7 \pm 2,1$ года, в контрольной группе $59,9 \pm 2,0$ года. Среди больных с ЭК II стадия установлена у 134 (53,8%), III стадия - у 75 (30,1%) и IV стадия - у 40 (16,1%) человек. У пациенток с СРТМ II стадия выявлена у 16 (48,5%), III стадия - у 12 (36,4%) и IV стадия - у 5 (15,1%) человек.

Взятие материала из полости матки проводили при помощи аспирационного катетера Pipelle («Laboratoire S.C.D.», Франция) по стандартной методике. Полученный аспират из полости матки инкубировали со смесью ингибиторов протеаз для солюбилизации. Гомогенат центрифугировали при 4° .

В табл. 1 представлены белки по убыванию площади соответствующих пиков на электрофореграммах пациенток с эндометриальной карциномой. У выделенных биомаркеров с потенциалом диагностического маркера имела место высокая вероятность

Таблица 1

Результаты масс-спектрометрической идентификации белков аспирационного биоптата полости матки у больных ЭК в сравнительном аспекте с контрольной группой

Белок (наименование рус/англ)	Ген	Функция	Критерий SCORE	V% M±SD	p
Фибриноген бета-полипептид/ <i>Fibrinogen beta chain</i>	<i>FGB</i>	Связывающий белок	57,55	445,9±23,5	0,0273
Белок семейства <i>ABRACL/ Costars family protein ABRACL</i>	<i>ABRACL</i>	Регуляция клеточного каркаса и подвижности клеток	224,49	364,2±21,6	0,0050
Предшественник альфа-1-антитрипсина / <i>Alpha-1-antitrypsin precursor (AIAT)</i>	<i>SERPINA1</i>	Ингибитор сериновой протеазы	72,13	338,6±30,6	0,0031
Фосфоглицератмутаза 2/ <i>Phosphoglycerate mutase 2</i>	<i>PGAM2</i>	Каталитическая активность	264,9	269,3±21,9	0,0431
Альфа-енолаза/ <i>Alpha-enolase</i>	<i>ENO1</i>	Каталитическая активность	308,74	250,2±23,4	0,0430
Шаперонин 10/ <i>Chaperonin 10 (CPN 10)</i>	<i>HSPE1</i>	Шаперон	84,78	238,1±19,8	0,0192
Аннексин А3/ <i>Annexin A3</i>	<i>ANXA3</i>	Связывающий белок	437,34	231,8±18,6	0,0273
Пероксиредоксин 2, изоформа CRA _a / <i>Peroxiredoxin 2, isoform CRA_a</i>	<i>PRDX2</i>	Антиоксидантная активность	126,43	218,1±20,5	0,0431
Белковая дегликаза / <i>Protein Deglycase (DJ-1)</i>	<i>PARK7</i>	Шаперон, защита клеток от окислительного стресса	311,55	209,6±22,4	0,0329
Лактатдегидрогеназа А / <i>Lactate dehydrogenase A (LDHA)</i>	<i>LDHA</i>	Каталитическая активность	78,42	208,2±19,1	0,0217

Примечание. SCORE - параметр надежности идентификации белков («счет баллов»), V% = V ЭК/V контрольная группа в %. V=V пятна одного белка/V общего пятна. p – достоверная вероятность при оценке различий больных ЭК и контрольной группы.

правильной идентификации белков, поскольку величина SCORE превышала 50. То есть белки аспирата полости матки при сопоставлении с международными базами данных были идентифицированы с высокой надежностью.

К первым десяти мажорным белкам в масс-спектрах относили фибриноген бета-полипептид ($p=0,0273$), белок семейства ABRACL ($p=0,005$), предшественник альфа-1-антитрипсина ($p=0,0031$), фосфоглицератмутаза 2 ($p=0,0431$), альфа-енолаза ($p=0,0430$), шаперонин 10 ($p=0,0192$), аннексин А3 ($p=0,0273$), пероксиредоксин 2, изоформа CRA_a ($p=0,0431$), белковая дегликаза DJ-1 ($p=0,0329$), глицеральдегид-3-фосфат дегидрогеназа ($p=0,0422$). То есть, по сравнению с масс-спектрометрией аспирата полости матки контрольной группы экспрессия вышеуказанных десяти мажорных белков у больных ЭК была статистически значимо выше. При этом пять белков имели наивысшие оценки SCORE - белок семейства ABRACL, альфа-енолаза, аннексин А3, белковая дегликаза DJ-1, фосфоглицератмутаза 2.

На электрофореграммах площадь белков Serum albumin, Е-кадгерина-1 аспирата полости матки больных ЭК была меньше по сравнению с электрофореграммами здоровых пациенток.

Из мажорных белков ABRACL отвечает за регуляцию клеточного цитоскелета за счет влияния на активный комплекс и увеличивает подвижность клеток [9]. В работе В.У. Hsiao и соавт. [10] было выявлено, что экспрессия белка ABRACL в опухолевых клетках при колоректальном раке повышена и коррелирует с пролиферативным и инвазивным потенциалом опухоли. Фосфоглицератмутаза 2 как гликолитический

фермент активирует гомеостаз НАДФН в ответ на окислительный стресс и способствует пролиферации опухолевых клеток, обеспечивает рост опухоли [11]. а-енолаза как и фосфоглицератмутаза 2, также относится к гликолитическим ферментам, экспрессируется в большинстве тканей, и является одним из активируемых белков при раке эндометрия [12]. В работе К.С. Hsiao и соавт. [13] активность альфа-енолаза в опухолевых клетках рассматривается как перспективный диагностический и/или прогностический онкомаркер. Как известно, активация гликолитических ферментов в раковых клетках способствует усилению их жизнеспособности. Шапероны, обеспечивая восстановление третичной и четвертичной структуры белков, участвуют в развитии резистентности к противоопухолевым химическим препаратам [14].

Выраженность и статистическая значимость отличий относительной величины площади пятен отдельных белков на электрофореграммах пациенток с ЭК и контрольной группы позволяет косвенно судить об изменении экспрессии белков в опухолевой ткани по сравнению с нормальным эндометрием полости матки.

У пациенток с СРТМ к мажорным белкам с наибольшей относительной величиной площади пятен на электрофореграммах относили белок семейства ABRACL, фосфоглицератмутаза 2, дегликазу DJ-1, молекулу клеточной адгезии L1, убиквитин-конъюгирующий фермент E2 C (табл. 2).

У пациентов с СРТМ по сравнению с протеомным профилем маточного аспирата больных ЭК в масс-спектрометрии повысилась удельная значимость белков молекулы клеточной адгезии L1 - L1CAM, убиквитин-конъюгирующего фермента E2 наряду со

Результаты масс-спектрометрической идентификации белков аспирационного биоптата полости матки у больных СРТМ в сравнительном аспекте с контрольной группой

Белок (наименование рус/англ)	Ген	Функция	Критерий SCORE	V% M±SD	p
Белок семейства ABRACL/ <i>Costars family protein ABRACL</i>	<i>ABRACL</i>	Регуляция клеточного каркаса и подвижности клеток	57,55	543,1±34,2	<0,0001
Е-Кадгерин-1 / <i>E-Cadherin-1</i>	<i>CDH1</i>	Связывающий белок	199,13	0,34±0,005	<0,0001
Фосфоглицератмутаза 2 / <i>Phosphoglycerate mutase 2</i>	<i>PGAM2</i>	Каталитическая активность	295,24	498,7±29,3	0,0007
Белковая дегликаза / <i>Protein Deglycase (DJ-1)</i>	<i>PARK7</i>	Шаперон, защита клеток от окислительного стресса	323,76	402,5±20,5	0,0005
Молекула клеточной адгезии L1 / <i>L1 cell adhesion molecule</i>	<i>L1CAM</i>	Трансмембранный белок	201,27	298,4±19,5	0,0007
Убиквитин-конъюгирующий фермент E2 C / <i>Ubiquitin-conjugating enzyme E2 C</i>	<i>UBE2C</i>	Регуляция клеточного цикла	193,11	281,7±18,2	<0,0001
Фибриноген бета-полипептид / <i>Fibrinogen beta chain</i>	<i>FGB</i>	Связывающий белок	109,28	260,3±17,8	0,0026
Кальцифозин / <i>Calcyphosine (CAPS)</i>	<i>CAPS</i>	Регуляция пролиферации и дифференциации клеток, перекрестная передача сигналов	76,29	201,3±11,3	0,0017
Шаперонин 10 / <i>Chaperonin 10 (CPN 10)</i>	<i>HSPE1</i>	Шаперон	72,35	189,5±15,2	0,0084
Белок минихромосомной защиты 5 / <i>Mini chromosome maintenance 5 (MCM5)</i>	<i>MCM5</i>	Регуляция клеточного цикла и пролиферации	69,17	178,4±13,5	0,0171

Примечание. SCORE - параметр надежности идентификации белков («счет баллов»), V% = V CP/V контрольная группа в %. V=V пятна одного белка / V общего пятна. p – доверительная вероятность при оценке различий больных с СРТМ и контрольной группы.

снижением площади Е-кадгерина-1 на электрофореграммах. Как известно из литературных источников, снижение экспрессии Е-кадгерина коррелирует с повышением частоты инвазии и метастазирования рака эндометрия и сопровождается нарушением регуляции роста, пролиферации и апоптоза клеток. Данное обстоятельство является ключевым для развития эпителиально-мезенхимального перехода с последующим нарастанием злокачественного потенциала опухоли [15]. Молекула клеточной адгезии L1 (L1CAM) регулирует адгезивные способности клеток. Усиление экспрессии L1CAM в ткани эндометрия у больных РТМ сопряжено с агрессивным течением болезни

ввиду изменения количества и активности гормональных рецепторов [16]. В отличие от больных с ЭК в протеомном профиле маточного аспирата у больных СРТМ среди приоритетных белков были выделены кальцифозин, пируваткиназа, эпидермальный белок, связывающий жирные кислоты, кальгранулин, прохитин, а также фактор, ингибирующий миграцию макрофагов.

Поскольку протеомный анализ не позволяет прямо судить об экспрессии белка опухолевыми клетками, то на следующем этапе исследования было проведено иммуногистохимическое исследование экспрессионной активности в опухолевых образцах ткани относи-

Оценка экспрессии DJ-1 и L1CAM в образцах опухоли с учетом гистологического типа РТМ

Белок	Баллы	ЭК (n=249)		СРТМ (n=33)		p
		абс.	%	абс.	%	
DJ-1	0	81	32,5	4	12,1	p<0,001 (χ ² =43,99)
	1	56	22,5	1	3,0	
	2	75	30,1	7	21,2	
	3	37	14,9	21	63,7	
L1CAM	0	42	16,9	0	0	p<0,001 (χ ² =47,48)
	1	128	51,4	2	3,0	
	2	49	19,7	19	57,6	
	3	30	12,0	12	36,4	

Примечание. Доверительную вероятность p определяли путем сравнения долей по критерию Пирсона χ² с поправкой Йетса на непрерывность.

тельно двух мажорных белков из протеинового масс-спектра маточного аспирата -DJ-1 и L1CAM (табл. 3).

Гиперэкспрессия белка DJ-1 в операционных образцах опухоли чаще ($p < 0,001$) наблюдалась при СРТМ (63,7%) по сравнению с больными с диагнозом ЭК (14,9%). Высокая тканевая экспрессия белка L1CAM 2-3+ чаще ($p < 0,001$) установлена при СРТМ (94%) по сравнению с пациентками с ЭК (31,7%) (см. табл. 3). Таким образом, при СРТМ по сравнению с ЭК тканевая экспрессия опухолевыми клетками белков DJ-1 и L1CAM, представленных в масс-спектре при протеомном анализе маточного аспирата в высоком удельном содержании была выше, по сравнению с эндометриальным раком. Так, белок DJ-1 по своему удельному весу в масс-спектрометрии маточного аспирата превышал аналогичный показатель в контрольной группе здоровых женщин на $209,6 \pm 22,4\%$ ($p = 0,033$) при ЭК и на $402,5 \pm 20,5\%$ ($p = 0,0005$) при СРТМ. Удельный вес белка L1CAM в протеомном профиле маточного аспирата при СРТМ превышал относительный параметр контрольной группы на $298,4 \pm 19,5\%$ ($p = 0,0007$), а у больных ЭК в протеоме изучаемой биологической среды отсутствовал среди мажорных белков. Следовательно, масс-спектрометрические характеристики протеинов в маточном аспирате у больных РТМ отражают экспрессионную активность белков опухолевыми клетками. Учитывая, что забор маточного аспирата проходит неинвазивно, амбулаторно, широко практикуется гинекологами и онкологами, а сам протеомный анализ малозатрачен по времени и экономическим параметрам, то оценка белкового профиля аспирата полости матки с определением удельной представленности каждого белка на электрофореграмме, имеет перспективы для проведения скрининга РТМ.

Заключение. При ЭК и СРТМ протеомный профиль маточного аспирата различается. Выявление характерных изменений протеома маточного аспирата может использоваться при скрининге и дифференциальной диагностике гистологических типов злокачественных эпителиальных новообразованиях матки на дооперационном этапе.

При ЭК в отличие от здоровых женщин в протеоме маточного аспирата возрастает долевое присутствие белков семейства ABRACL, альфа-енолазы, аннексина А3, белковой дегликазы DJ-1, фосфоглицератмутазы. У пациентов с СРТМ по сравнению с больными ЭК в масс-спектрометрии повышается удельная значимость белков молекулы клеточной адгезии L1 (L1CAM), DJ-1, убиквитин-конъюгирующего фермента E2 наряду со снижением площади E-кадгерина-1 на электрофореграммах. В опухолевых образцах прямое иммуногистохимическое исследование экспрессионной активности мажорных белков из масс спектра DJ-1 и L1CAM подтвердило различие их экспрессии опухолевыми клетками в зависимости от гистологического типа РТМ.

ЛИТЕРАТУРА (пп. 1-3, 8-16 см.
REFERENCES)

4. Ковалева О.В., Белова Т.П., Кушлинский Д.Н., Короткова

- Е.А., Подлесная П.А., Грачев А.Н. и др. Растворимые формы контрольных точек иммунитета при раке яичников. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2021; 66(2): 80-6.
5. Короткова Е.А., Белова Т.П., Ковалева О.В., Кушлинский Д.Н., Уткин Д.О., Терешкина И.В. и др. Клиническая и прогностическая значимость растворимой формы контрольной точки иммунитета SB7-H3 у больных раком яичников. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2021; 66(S4): 32.
6. Кушлинский Н.Е., Уткин Д.О., Логинов В.И., Филиппова Е.А., Бурдённый А.М., Кушлинский Д.Н. и др. Клиническая значимость метилирования группы генов микроРНК у больных раком яичников. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2020; 65(5): 321-7.
7. Герштейн Е.С., Короткова Е.А., Воротников И.К., Соколов Н.Ю., Ермилова В.Д., Мочалова А.С. и др. Растворимые формы рецептора и лиганда контрольной точки иммунитета PD-1/PD-L в сыворотке крови больных раком молочной железы: взаимосвязь с клинико-морфологическими особенностями и молекулярным типом опухоли. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2022; 67(2): 76-80.

REFERENCES

1. Siegel R.L., Miller K.D., Jemal A. Cancer statistics, 2020. *CA Cancer. J. Clin.* 2020; 70(1):7-30. DOI: 10.3322/caac.21590.
2. Wang Y., Yu M., Yang J.X., Cao D.Y., Shen K., Lang J.H. Clinicopathological and survival analysis of uterine papillary serous carcinoma: a single institutional review of 106 cases. *Cancer Manag. Res.* 2018; 25(10): 4915-28. DOI: 10.2147/CMAR.S179566.
3. Qu X.M., Velker V.M., Leung E., Kwon J.S., Elshaikh M.A., Kong I. et al. The role of adjuvant therapy in stage IA serous and clear cell uterine cancer: A multi-institutional pooled analysis. *Gynecol. Oncol.* 2018; 149(2): 283-90. DOI: 10.1016/j.ygyno.2018.03.002.
4. Kovaleva O.V., Belova T.P., Kushlinsky D.N., Korotkova E.A., Podlesnaya P.A., Grachev A.N. et al. Soluble forms of immune checkpoints in ovarian cancer. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2021; 66(2): 80-6. DOI: 10.51620/0869-2084-2021-66-2-80-86. (in Russian)
5. Korotkova E.A., Belova T.P., Kovaleva O.V., Kushlinsky D.N., Utkin D.O., Tereshkina I.V. et al. Clinical and prognostic significance of the soluble form of the SB7-H3 immunity checkpoint in patients with ovarian cancer. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2021; 66(S4): 32. (in Russian)
6. Kushlinskii N.E., Utkin D.O., Loginov V.I., Filippova E.A., Burdyonnyy A.M. et al. Clinical significance of methylation of a group of miRNA genes in ovarian cancer patients. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2020; 65(5): 321-7. DOI: 10.18821/0869-2084-2020-65-5-321-327. (in Russian)
7. Gershtein E.S., Korotkova E.A., Vorotnikov I.K., Sokolov N.Yu., Ermilova V.D., Mochalova A.S. et al. Soluble forms of PD-1/PD-L immune checkpoint receptor and ligand in blood serum of breast cancer patients: association with clinical pathologic factors and molecular type of the tumor. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2022; 67(2): 76-80. DOI: 10.51620/0869-2084-2022-67-2-76-80. (in Russian)
8. Tzur T., Kessous R., Weintraub A.Y. Current strategies in the diagnosis of endometrial cancer. *Archives of Gynecology and Obstetrics*. 2017; 296(1): 5-14. DOI: 10.1007/s00404-017-4391-z.
9. Pang T.L., Chen F.C., Weng Y.L., Liao H.C., Yi Y.H., Ho C.L. et al. Costars, a dictyostelium protein similar to the C-terminal domain of STARS, regulates the actin cytoskeleton and motility. *J. Cell Sci.* 2010; 123: 3745-55. DOI: 10.1242/jcs.064709.
10. Hsiao B.Y., Chen C.H., Chi H.Y., Yen P.R., Yu Y.Z., Lin C.H. et al. Human Costars family protein ABRACL modulates actin dynamics and cell migration and associates with tumorigenic growth. *Int. J. Mol. Sci.* 2021; 22: 2037. DOI: 10.3390/ijms22042037.
11. Xu Y., Li F., Li T., Zhou X., Deng C.X., Guan K.L. et al. Oxidative stress activates SIRT2 to deacetylate and stimulate phosphoglycerate mutase. *Cancer Res.* 2014; 74: 3630-42. DOI: 10.1158/0008-5472.
12. Martinez-Garcia E., Lesur A., Devis L., Campos A., Cabrera S.,

BIOCHEMISTRY

- van Oostrum J., Matias-Guiu X. et al. Development of a sequential workflow based on LC-PRM for the verification of endometrial cancer protein biomarkers in uterine aspirate samples. *Oncotarget*. 2016; 7: 53102–15. DOI: 10.18632/oncotarget.10632.
13. Hsiao K.C., Shih N.Y., Chu P.Y., Hung Y.M., Liao J.Y., Chou S.W. et al. Anti- α -enolase is a prognostic marker in postoperative lung cancer patients. *Oncotarget*. 2015; 6(33): 35073-86. DOI: 10.18632/oncotarget.5316.
 14. Wang C-Y., Lin C-F. Annexin A2: Its Molecular Regulation and Cellular Expression in Cancer Development. *Disease Markers*. 2014; 2014: 308976. DOI: 10.1155/2014/308976.
 15. Feng Z., Gan H., Cai Z. Aberrant expression of hypoxia-inducible factor 1 α , TWIST and E-cadherin is associated with aggressive tumor phenotypes in endometrioid endometrial carcinoma. *Jpn. J. Clin. Oncol.* 2013; 43(4): 396–403. DOI: 10.1093/jco/hys237.
 16. Kommos F.K.F., Karnezis A., Kommos F., Talhouk A., Florin-Andrei Taran F-A. et al. L1CAM further stratifies endometrial carcinoma patients with no specific molecular risk profile. *British Journal of Cancer*. 2018; 119: 480–6. DOI: 10.1038/s41416-018-0187-6.

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2023

Муркамилов И.Т.^{1,2}, Айтбаев К.А.³, Муркамилова Ж.А.², Фомин В.В.⁴, Юсупов Ф.А.⁵,
Юсупова Т.Ф.⁵, Юсупова З.Ф.⁵, Саткыналиева З.Т.¹, Тологонов Б.Т.⁶, Гасанов К.А.⁷

ОЦЕНКА ФАКТОРОВ РИСКА НЕБЛАГОПРИЯТНЫХ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫХ И ПОЧЕЧНЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ ПРИ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ 2-ГО ТИПА В ПОЖИЛОМ И СТАРЧЕСКОМ ВОЗРАСТЕ

¹Кыргызская государственная медицинская академия имени И.К. Ахунбаева, 720020, Бишкек, Киргизия;

²Кыргызско-Российский Славянский университет имени первого Президента РФ Б.Н. Ельцина, 720000, Бишкек, Киргизия;

³Научно-исследовательский институт молекулярной биологии и медицины при Национальном центре кардиологии и терапии имени академика Мирсаида Миррахимова при Минздраве Кыргызской Республики, 720040, Бишкек, Киргизия;

⁴ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава РФ, 119991, Москва, Россия;

⁵Ошский государственный университет, 723500, Ош, Киргизия;

⁶Национальный госпиталь при Минздраве Кыргызской Республики, 720040, Бишкек, Киргизия;

⁷Южно-Казахстанская медицинская академия, 160019, Шымкент, Казахстан

Исследована частота факторов риска неблагоприятных сердечно-сосудистых и почечных осложнений при сахарном диабете 2-го типа (СД 2) в пожилом (n=70) и старческом (n=19) возрасте. У пациентов пожилого возраста часто отмечались хронический коронарный синдром (ХКС) (67,1%), артериальная гипертензия (АГ) (65,7%) и ожирение (45,7%). Распространенными вариантами поражения сердца являлись гипертрофия левого желудочка (ЛЖ) (51,4%) и диастолическая дисфункция ЛЖ (70%). Нарушения в метаболизме липидов были представлены преимущественно дислипидемией (32,8%). Гиперхолестеринемия (ГХС) существенно чаще выявлялась у женщин, а гипергликемия натощак и повышенные уровни цистатина С у мужчин. Лица старческого возраста чаще характеризовались наличием избыточной массы тела (ИЗМТ) (68,4%) и АГ (52,6%). У женщин значимо чаще выявлялись ИЗМТ, АГ, ХКС, хроническая сердечная недостаточность с низкой фракцией выброса, атеросклеротическое поражение сонных артерий, диастолическая дисфункция ЛЖ и гипертрофия левого предсердия (ГЛП). Наиболее распространенными вариантами поражения сердечно-сосудистой системы являлись ГЛП (84,1%), диастолическая дисфункция ЛЖ (57,8%) и атеросклеротическое поражение сонных артерий (57,8%). Нарушение липидного обмена было представлено ГХС (42,1%). Атерогенная дислипидемия и гликемия натощак чаще выявлялись среди женщин, а гиперфосфатемия – у мужчин. У пациентов пожилого возраста на величину индекса массы миокарда ЛЖ существенное влияние оказывали концентрация цистатина С, величина почечной фильтрации и протеинурия, а у лиц старческого возраста – содержание фосфора крови. На величину фильтрационной функции почек у пациентов пожилого возраста оказывали влияние уровень систолического артериального давления и концентрация общего холестерина.

Ключевые слова: сахарный диабет; гликогемоглобин; миокард; сердечная недостаточность; почечная недостаточность; фосфор; пожилой и старческий возраст; скорость клубочковой фильтрации.

Для цитирования: Муркамилов И.Т., Айтбаев К.А., Муркамилова Ж.А., Фомин В.В., Юсупов Ф.А., Юсупова Т.Ф., Юсупова З.Ф., Саткыналиева З.Т., Тологонов Б.Т., Гасанов К.А. Оценка факторов риска неблагоприятных сердечно-сосудистых и почечных осложнений при сахарном диабете 2-го типа в пожилом и старческом возрасте. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2023; 68 (6):323-332 DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2023-68-6-323-332>

Для корреспонденции: Муркамилов Илхом Торобекович, д-р. мед. наук, доц. кафедры факультетской терапии; e-mail: murkamilov.i@mail.ru

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Поступила 11.01.2023

Принята к печати 10.03.2023

Опубликовано 05.06.2023

I.T.Murkamilov^{1,2}, K.A. Aitbaev³, Zh.A. Murkamilova², V.V. Fomin⁴, F.A. Yusupov⁵, T.F. Yusupova⁵, Z.F. Yusupova⁵, Z.T. Satkynaliyeva¹, B.T. Tologonov⁶, K.A. Gassanov⁷.

ASSESSMENT OF RISK FACTORS FOR ADVERSE CARDIOVASCULAR AND RENAL COMPLICATIONS IN TYPE 2 DIABETES MELLITUS IN ELDERLY AND OLD AGE

¹Kyrgyz State Medical Academy named after I.K. Akhunbaev, 720020, Bishkek, Kyrgyzstan;

²Kyrgyz-Russian Slavic University named after the First President of the Russian Federation B.N. Yeltsin, 720000, Bishkek, Kyrgyzstan;

³Scientific Research Institute of Molecular Biology and Medicine at the National Center of Cardiology and Therapy named after academician Mirsaid Mirrakhimov

under the Ministry of Health of the Kyrgyz Republic, 720040, Bishkek, Kyrgyzstan;

⁴FSAEI HE First Moscow State Medical University named after I.M. Sechenov, 119991, Moscow, Russia;

⁵Osh State University, 723500, Osh, Kyrgyzstan;

⁶National Hospital under the Ministry of Health of the Kyrgyz Republic, 720040, Bishkek; Kyrgyzstan;

⁷South Kazakhstan Medical Academy, 160019, Shymkent, Kazakhstan

Frequency of risk factors for adverse cardiovascular and renal complications in type 2 diabetes mellitus (DM 2) in elderly (n=70)

and old age (n=19) was studied. Elderly patients often had chronic coronary syndrome (CCS, 67.1%), arterial hypertension (AH, 65.7%) and obesity (45.7%). Common variants of heart damage were left ventricular (LV) hypertrophy (51.4%) and LV diastolic dysfunction (70%). Disturbances in lipid metabolism were represented mainly by dyslipidemia (32.8%). Hypercholesterolemia (HC) was significantly more common in women, while fasting hyperglycemia and elevated levels of cystatin C were found in men. Persons of old age were more likely to be overweight (68.40%) and have AH (52.60%). Women were significantly more likely to be overweight and have AH, CCS, chronic heart failure with low ejection fraction, carotid atherosclerosis (CA), LV diastolic dysfunction and left atrial enlargement (LAE). The most common types of disorder of the cardiovascular system were LAE (84.1%), LV diastolic dysfunction (57.8%) and CA (57.8%). Lipid metabolism disorder was represented by HC (42.1%). Atherogenic dyslipidemia and fasting glycemia were significantly more common in women, while hyperphosphatemia – in men. In elderly patients, the value of the LV mass index was significantly influenced by the concentration of cystatin C, the value of glomerular filtration and proteinuria, while in old patients – by the content of phosphorus in blood. The value of the filtration function of the kidneys in elderly patients was influenced by the level of systolic blood pressure and concentration of total cholesterol.

Key words: diabetes mellitus; glycohemoglobin; myocardium; heart failure; renal failure; phosphorus; elderly and old patient; glomerular filtration rate.

For citation: Murkamilov I.T., Aitbaev K.A., Murkamilova Zh.A., Fomin V.V., Yusupov F.A., Yusupova T.F., Yusupova Z.F., Satkynaliev Z.T., Tologonov B.T., Gassanov K.A. Assessment of risk factors for adverse cardiovascular and renal complications in type 2 diabetes mellitus in elderly and old age. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2023; 68 (6): 323-332(in Russ.). DOI: <https://doi.org/10.51620.0869-2084-2023-68-6-323-332>

For correspondence: Murkamilov I.T., MD, Associate Professor at the Department of Faculty Therapy; e-mail: murkamilov.i@mail.ru

Information about authors:

Murkamilov I.T., <https://orcid.org/0000-0001-8513-9279>;
Aitbaev K.A., <https://orcid.org/0000-0003-4973-039X>;
Murkamilova Zh.A., <https://orcid.org/0000-0002-7653-0433>;
Fomin V.V., <https://orcid.org/0000-0002-2682-4417>;
Yusupov F.A., <https://orcid.org/0000-0003-0632-6653>;
Yusupova T.F., <https://orcid.org/0000-0002-8502-2203>;
Yusupova Z.F., <https://orcid.org/0000-0001-7621-1128>;
Satkynaliev Z.T., <https://orcid.org/0000-0002-1019-8562>;
Tologonov B.T., <https://orcid.org/0009-0009-0365-3959>;
Gassanov K.A., <https://orcid.org/0000-0003-0173-8851>.

Conflict of interests. The authors declare absence of conflict of interests.

Acknowledgment. The study had no sponsor support.

Received 11.01.2023

Accepted 10.03.2023

Published 05.06.2023

Введение. Сахарный диабет 2-го типа (СД 2) является одним из самых распространенных социально-значимых заболеваний, особенно среди людей старших возрастных групп [1]. По отчетам И.И. Дедова, М.В. Шестаковой, О.К. Викуловой и соавт. [2] общая численность пациентов с сахарным диабетом в Российской Федерации (РФ) на 01 января 2021 года составила 4 799 552 (3,23% населения РФ), из них: СД 1-го типа — 5,5% (265,4 тыс.), СД 2-го типа — 92,5% (4,43 млн), другие типы СД — 2,0% (99,3 тыс.) [2]. В целенаправленных исследовательских работах указано, что распространенность заболеваний СД выше у мужчин (на 3,1%) в возрасте до 55 лет, а в старшей возрастной группе сахарный диабет чаще встречается у женщин (на 0,8%) [3]. Как сказано в публикации У.Ш. Исмаилова и А.З. Зурдинова [4], в Кыргызской Республике по состоянию на 1 января 2019 года зарегистрированы 58 873 пациентов с СД, что составляет 1% от населения страны. Из них у 2095 человек был выявлен диагноз СД 1-го типа (3,5%) и у 56 778 – СД 2-го типа (96,5%). Что же касается гендерной принадлежности, то из общего числа больных сахарным диабетом лица женского пола составили 36 155 человек (61%) и 22 718 – мужского пола (39%). Необходимо подчеркнуть, что в Кыргызской Республике за последние 5 лет общая заболеваемость сахарным

диабетом выросла на 36%.

По данным литературы, у здоровых людей с возрастом происходит снижение чувствительности периферических тканей к инсулину. С другой стороны, с увеличением возраста регистрируется снижение чувствительности бета-клеток поджелудочной железы к метаболическим гормонам (инкретины), что обуславливает значительное повышение постпрандиальной гликемии после 50 лет [5]. Ожидается, что к 2050 году доля пожилых людей превысит общую численность молодежи. Как сообщает исследователь В.Н. Анисимов [1], темпы старения населения в Российской Федерации в 2 раза опережают общемировые [1]. В Кыргызской Республике численность людей пожилого возраста составляет более 8%, а ожидаемая продолжительность жизни – 67,2 и 75,4 года для мужчин и женщин, соответственно [6]. Многие исследователи и клиницисты едины во мнении, что СД 2-го типа связан с процессами старения [1,7,8].

Проанализировав результаты эпидемиологических исследований, международные сообщества сделали вывод о том, что в ближайшие десять лет численность людей с СД 2-го типа будет составлять 1,5 – 2 млрд. По отчетам International Diabetes Federation (IDF) распространенность СД 2-го типа у людей старше 65 лет достигает 20 - 24% [9]. Накопленные результаты на-

учных работ российских исследователей показывают, что СД 2-го типа встречается чаще у людей пожилого возраста [2]. У людей старших возрастных групп наличие СД 2-го типа ассоциируется с более высокими показателями функциональной нетрудоспособности, ускоренной потери мышечной ткани, а также сопутствующих патологических заболеваний, таких, как хронический коронарный синдром, инсульт или артериальная гипертензия (АГ) [1]. Следовательно, в пожилом и старческом возрасте при наличии СД 2-го типа повышаются риски преждевременной смертности. Не менее важно отметить, что пожилые лица с СД 2 подвержены более высокому риску развития когнитивных нарушений, недержанию мочи, падениям и постоянным болевым ощущениям. Установлено, что на момент диагностики СД 2-го типа каждый второй пациент уже имеет микро- или макрососудистые осложнения. Следует заметить, что у 50-80% пожилых пациентов с СД 2-го типа регистрируются артериальная гипертензия и дислипидемия, требующие медикаментозной коррекции. Изучение структуры факторов риска атеросклеротических и сердечно-сосудистых заболеваний у пациентов с СД 2-го типа в пожилом и старческом возрасте имеет большое значение.

Цель исследования: изучить частоту факторов риска неблагоприятных сердечно-сосудистых и почечных осложнений при сахарном диабете 2-го типа в пожилом и старческом возрасте.

Материал и методы. Обследованы 89 пациентов пожилого и старческого возраста с установленным клиническим диагнозом СД 2-го типа. Медиана и интерквартильные показатели продолжительности СД 2-го типа составили 11 (7-23) лет. Средний возраст пациентов равнялся 67,1±6,6 лет (минимальный возраст 60 лет, максимальный возраст 85 лет). В группе лиц пожилого возраста ($n=70$) мужчин было 39 (средний возраст 64,07±3,50 года), женщин – 31 (средний возраст 64,19±3,78 года). Группу лиц старческого возраста ($n=19$) составили 6 мужчин (средний возраст 77,33±2,25 года) и 13 женщин (средний возраст 78,38±3,06 года). Протокол исследования был одобрен Локальным Этическим комитетом Общества специалистов по хронической болезни почек Кыргызстана (Протокол № 3 от 12.05.2021 г.). Критерии включения в исследование: 1) подписание письменного информированного согласия на участие в исследовании; 2) возраст ≥ 60 и ≤ 89 лет; сахарный диабет 2-го типа. Критерии не включения: 1) возраст ≤ 59 и ≥ 90 лет; 2) отсутствие СД 2; 3) отказ от участия в исследовании. Были проанализированы параметры антропометрии, гемодинамики, а также инструментальных и лабораторных данных. Значение индекса массы тела (ИМТ) в пределах 25,0 – 29,9 кг/м² рассматривали как избыточную массу тела (ИзМТ), а ≥ 30 кг/м² – как ожирение. За АГ принимали уровень систолического и/или диастолического артериального давления (АД) $\geq 140/90$ мм рт. ст., а также прием антигипертензивных препаратов. Клинические диагнозы: хронический коронарный синдром (ХКС), хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) и хроническая ишемия

головного мозга (ХИГМ) выставлялись на основании изучения медицинских карт участников исследования. Согласно Российским национальным рекомендациям по нарушениям липидного обмена, хронической болезни почек (ХБП), СД 2-го типа, а также эхокардиографии устанавливали наличие гиперхолестеринемии (ГХС), дислипидемии (ДЛД), гипертриглицеридемии (ГТГ), анемии, гликемии натощак, гиперфосфатемии (ГФ), атеросклеротического поражения сонных артерий, гипертрофии левого предсердия (ГЛП), гипертрофии левого желудочка (ГЛЖ), диастолической дисфункции левого желудочка и хронической сердечной недостаточности с низкой фракцией выброса (ХСН-НФВ). Азотовыделительная функция почек рассчитывалась с использованием сывороточного креатинина по скорости клубочковой фильтрации (СКФ) с помощью формулы СКД-EPI (Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration, 2009 г.) [10]. Статистический анализ полученных данных проводили с использованием общепринятых параметрических методов. Применяли стандартные методы описательной статистики - STATISTICA, версия 10.0. При создании баз первичных данных использовался редактор электронных таблиц Microsoft EXCEL 2013. В результате сбора клинического материала были получены абсолютные числа (n), являющиеся базовой информацией об объекте исследования. Для сопоставления результатов исследования рассчитывали относительные показатели распространенности (в %), определяли достоверные различия показателей в подгруппах. Оценка взаимосвязи между исследуемыми параметрами была произведена с помощью коэффициента ранговой корреляции Спирмена. Статистически достоверными признавались результаты, соответствующие значениям $p < 0,05$.

Результаты. Согласно цели исследования, оценку частоты факторов риска неблагоприятных сердечно-сосудистых и почечных осложнений при СД 2-го типа проводили как среди лиц пожилого, так и старческого возраста. На рис. 1 представлена частота встречаемости сопутствующих состояний и заболеваний у лиц пожилого возраста. Из него следует, что у лиц пожилого возраста сахарный диабет 2-го типа часто сочетается с ХКС (67,1%), АГ (65,7%) и ожирением (45,7%). Распространенность ИзМТ, ХОБЛ и ХИГМ составила 25,7%, 30% и 12,8%, соответственно. У мужчин частота ХОБЛ и ХИГМ оказалась достоверно выше по сравнению с женщинами ($p < 0,05$).

При рассмотрении результатов инструментального исследования выявлена высокая частота ГЛП (42,8%), ГЛЖ (51,4%) и диастолической дисфункции левого желудочка (70%) (рис.2). Распространенность ХСН-НФВ и атеросклеротического поражения сонных артерий отмечалась у 17,1% и 35,7%, соответственно. Существенных различий по структурно-функциональным изменениям в сердечно-сосудистой системе между мужчинами и женщинами получено не было, хотя число людей с ХСН-НФВ, атеросклеротическим поражением сонных артерий и диастолической дисфункции левого желудочка было больше среди лиц мужского пола (см. рис. 2). При рассмотре-

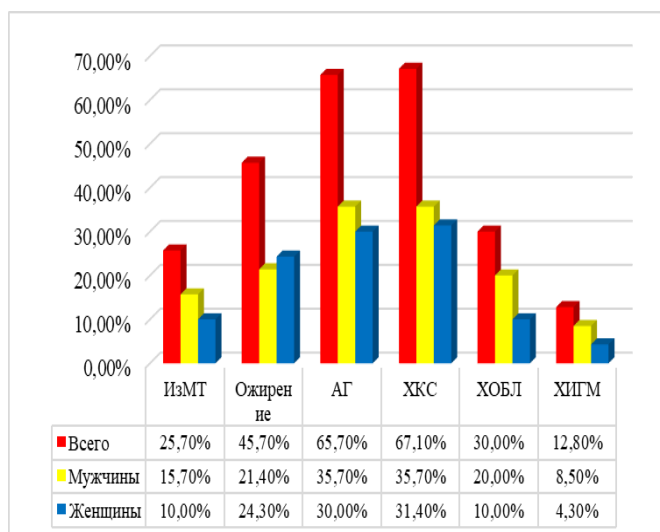


Рис.1. Частота сопутствующих заболеваний у лиц пожилого возраста с СД 2-го типа.

нии лабораторных показателей у пациентов пожилого возраста с СД 2-го типа анемический синдром выявлялся у 18,5% обследованных (7,1% мужчин и 11,4% женщин, $p > 0,05$). В структуре нарушений липидного обмена превалировала ДЛД (32,8% (14,2% мужчин и 18,5% женщин, $p > 0,05$)). Частота ГХС (28,5%) и ГТГ (28,5%) была равнозначной. Стоит заметить, что случаи гиперхолестеринемии существенно чаще выявлялись среди пожилых женщин с СД 2-го типа (18,5% и 10%, $p < 0,05$).

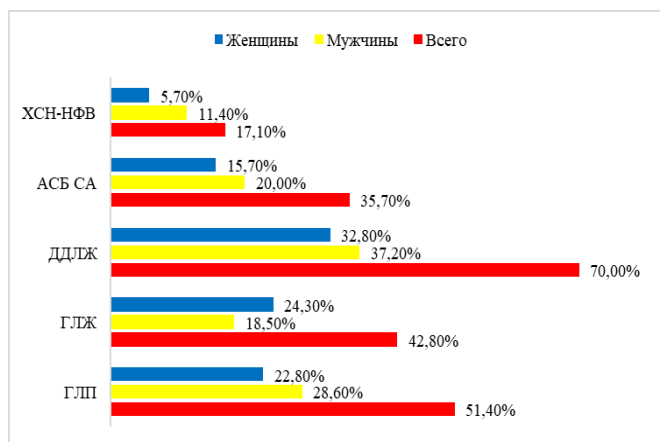


Рис.2. Показатели эхокардиографии и доплерографии сонных артерий у лиц пожилого возраста с СД 2-го типа.

Повышение концентрации фосфора сыворотки крови $> 1,45$ ммоль/л регистрировалось у 8 человек в 11,4% случаев (7,1% мужчин и 4,3% женщин). В целом, в момент проведения исследования гликемия натощак (на фоне сахароснижающей терапии глюкоза венозной крови $> 6,1$ ммоль/л) отмечалась у 41,4% пациентов. При этом доля лиц с гликемией натощак у мужчин и женщин составила 31,4% и 10% ($p < 0,05$). У 30% обследованных лиц пожилого возраста с СД 2-го

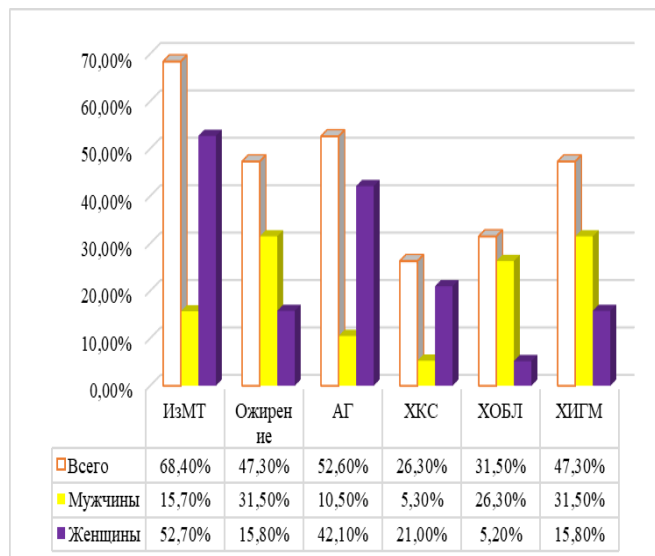


Рис.3. Частота сопутствующих заболеваний у лиц старческого возраста с СД 2-го типа.

типа были зафиксированы высокие уровни гликокогемиоглобина (HbA1c), т.е. данный показатель превышал $> 8,0\%$. Численность мужчин (15,7%) и женщин (14,3%) с высоким уровнем HbA1c достоверно не различалась.

Как сказано выше, в проведенном нами исследовании 19 человек были в старческом возрасте, из них 6 мужчин и 13 женщин (рис.3). У этой категории пациентов в структуре сопутствующих заболеваний чаще отмечались избыточная масса тела (68,4%) и артериальная гипертензия (52,6%). Численность пациентов с наличием ожирения (47,3%) и хронической ишемией головного мозга (47,3%) оказалась равнозначной. Гендерный анализ показал, что у мужчин сахарный диабет 2-го типа существенно чаще сочетался с ожирением (31,5% и 15,8%, $p < 0,05$), ХОБЛ (26,3% и 5,2%, $p < 0,05$) и ХИГМ (31,5% и 15,8%, $p < 0,05$). Тогда как у женщин превалировала частота ИзМТ (52,7% и 15,7%, $p < 0,05$), АГ (42,1% и 10,5%, $p < 0,05$) и ХКС (21% и 5,3%, $p < 0,05$).

При анализе результатов инструментального обследования (рис. 4) частота ХСН-НФВ (21,0% и 10,5%, $p < 0,05$), атеросклеротического поражения сонных артерий (47,3% и 10,5%, $p < 0,05$), диастолической дисфункции левого желудочка (42,1% и 15,7%, $p < 0,05$), а также ГЛП (57,8% и 26,3%, $p < 0,05$) оказалась значительно выше у женщин по сравнению с мужчинами. В целом, наиболее распространенными вариантами поражения сердечно-сосудистой системы у лиц старческого возраста и наличием СД 2 являлись ГЛП (84,1%), диастолическая дисфункция левого желудочка (57,8%) и атеросклеротическое поражение сонных артерий (57,8%). Частота встречаемости ГЛЖ и ХСН-НФВ составила 31,4% и 31,5%, соответственно.

Протеинурия как признак поражения почек отмечалась у 19 человек в 27,1% случаев (12,8% мужчин и 14,2% женщин), а снижение расчетной скорости клубочковой фильтрации (pСКФ) ниже 50 мл/мин – у 15,7% (5,7% мужчин и 10% женщин) (рис.5).

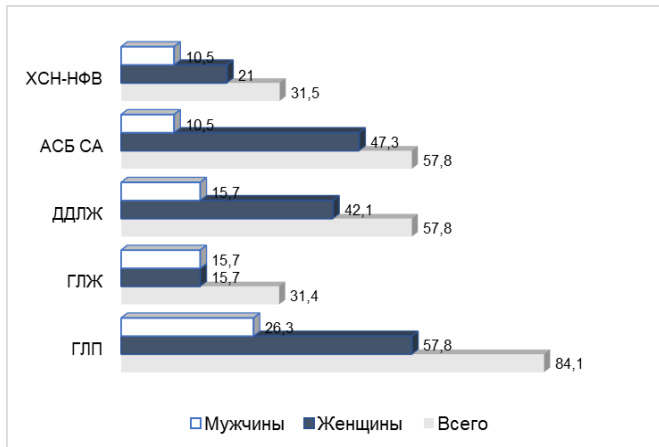


Рис.4. Показатели эхокардиографии и доплерографии сонных артерий у лиц старческого возраста с СД 2-го типа.

Выраженное снижение азотовыделительной функции почек было зафиксировано у 14 пациентов в 20% случаев. Надо отметить, что снижение рСКФ ниже 30 мл/мин прослеживалось у 14 пациентов в 20% случаев (7,2% мужчин и 12,8% женщин). У 33 человек (47,1%) пожилого возраста наблюдалось повышение сывороточного цистатина С (24 мужчин (34,2%) и 9 (12,8%) женщин, $p < 0,05$).

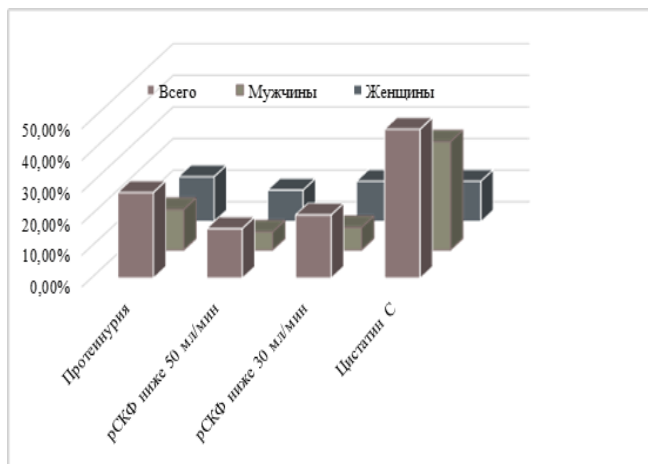


Рис.5. Характеристика почечного риска у пожилых людей с СД 2-го типа.

В лабораторной части обследования, распространенность анемического синдрома среди женщин составила 10,5%. Нарушения липидного обмена были представлены преимущественно ГХС (42,1%). Следует отметить, что показатели частоты гиперхолестеринемии (31,5% и 10,5%, $p < 0,05$), дислипидемии (26,3%) и гипертриглицеридемии (21%) были значительно выше среди женщин. Повышение уровня сывороточного фосфора выявлено у 3 человек в 15,7% случаев. Гиперфосфатемия значимо чаще отмечалась у мужчин (10,5% и 5,2%, $p < 0,05$).

В момент проведения исследования у 7 (36,8%) пациентов старческого возраста глюкоза венозной крови натощак превышала $> 6,1$ ммоль/л. Частота глике-

мии натощак была значительно выше у женщин, чем у мужчин (26,3% и 10,5%, $p < 0,05$). Как и следовало ожидать, повышение уровня HbA1c также отмечалось только среди женщин (31,5%).

На рис. 6 представлены данные, характеризующие функциональное состояние почек у пациентов ($n=19$) старческого возраста с СД 2-го типа. Из него видно, что протеинурия регистрировалась у 3-х человек в 15,7% случаев (5,2% мужчин и 10,5% женщин, $p < 0,05$). Показатели азотовыделительной функции почек были следующими: снижение рСКФ ниже 50 мл/мин наблюдалось у 6 пациентов в 31,5% случаев (5,2% мужчин и 26,3% женщин, $p < 0,05$). Наличие тяжелой степени снижения почечной функции отмечалось у 5 человек в 26,3% случаев (5,2% мужчин и 21,1% женщин, $p < 0,05$). У большинства обследованных пациентов ($n=10$, 52,6%) старческого возраста было замечено значительное повышение сывороточной концентрации цистатина С. В процентном соотношении численность женщин с повышенными уровнями сывороточного цистатина С оказалась достоверно выше (42,1% и 10,5%, $p < 0,05$).

Учитывая разнонаправленность в распространении факторов риска неблагоприятных сердечно-сосудистых и почечных осложнений у участников исследования ($n=89$) нами был проведен анализ корреляционных взаимосвязей в каждой подгруппе в

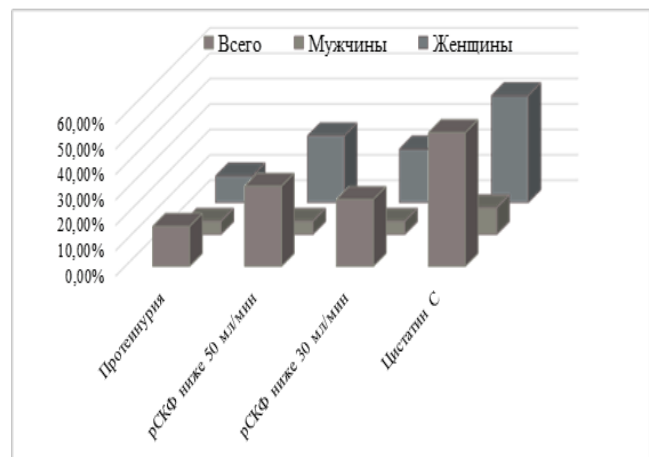


Рис.6. Характеристика почечного риска у людей старческого возраста с СД 2-го типа.

отдельности. По его результатам установлено, что у пожилых пациентов с СД 2-го типа ($n=70$) на величину индекса массы миокарда левого желудочка (ИММЛЖ) существенное влияние оказывают концентрация сывороточного цистатина С ($r = 0,447$; $p = 0,001$), величина рСКФ ($r = -0,369$; $p = 0,011$) и протеинурия ($r = 0,500$; $p = 0,018$). Тогда, как на показатель ИММЛЖ лиц старческого возраста оказывает влияние только содержание фосфора сыворотки крови ($r = 0,765$; $p = 0,045$) (табл. 1).

Дальнейший анализ продемонстрировал (табл. 2), что на величину фильтрационной функции почек у пациентов пожилого возраста оказывают свое влияние такие показатели, как уровень систолического

Таблица 1

Характеристика корреляционной взаимосвязи между исследуемыми параметрами

Показатели	Пациенты пожилого возраста		Пациенты старческого возраста	
	ИММЛЖ, г/м ²		ИММЛЖ, г/м ²	
	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>
Индекс массы тела, кг/м ²	0,007	0,950	0,177	0,468
ЧСС, уд/мин	0,014	0,317	0,362	0,184
Систолическое АД, мм рт.ст.	0,258	0,059	0,106	0,706
Диастолическое АД, мм рт.ст.	0,311	0,821	0,201	0,471
Общий холестерин, ммоль/л	0,152	0,291	0,195	0,485
ХС-ЛПНП, ммоль/л	0,223	0,145	0,385	0,272
Триглицериды, ммоль/л	0,120	0,442	0,599	0,067
СКФ, мл/мин (СКД-ЕП)	-0,369	0,011	-0,334	0,206
Сывороточный цистатин С, мг/л	0,447	0,001	0,049	0,893
НбА1с, %	0,207	0,240	0,187	0,604
Фосфор, ммоль/л	0,005	0,998	0,765	0,045
Протеинурия, г/л	0,500	0,018	0,965	0,168

Примечание. ЧСС – частота сердечных сокращений; ХС-ЛПНП – холестерин липопротеинов низкой плотности.

Таблица 2

Характеристика корреляционной взаимосвязи между исследуемыми параметрами

Показатели	Пациенты пожилого возраста		Пациенты старческого возраста	
	СКФ, мл/мин (СКД-ЕП)		СКФ, мл/мин (СКД-ЕП)	
	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>
Индекс массы тела, кг/м ²	0,094	0,527	0,203	0,451
ЧСС, уд/мин	0,175	0,314	0,118	0,715
Систолическое АД, мм рт. ст.	-0,497	0,002	0,374	0,231
Диастолическое АД, мм рт. ст.	0,189	0,275	0,254	0,425
Общий холестерин, ммоль/л	-0,397	0,016	0,075	0,790
ХС-ЛПНП, ммоль/л	0,311	0,083	0,066	0,854
Триглицериды, ммоль/л	0,161	0,377	0,312	0,380
Сывороточный цистатин С, мг/л	0,897	0,001	0,846	0,002
НбА1с, %	0,158	0,480	0,469	0,171
Средний комплекс ТИМ, мм	0,124	0,491	0,123	0,734
Размер левого предсердия, см	0,029	0,844	0,051	0,849

АД ($r = -0,497$; $p=0,002$) и концентрация общего ХС ($r = -0,397$; $p=0,016$). Каких-либо показателей, влияющих на значение фильтрационной функции почек среди пациентов старческого возраста с СД 2-го типа отмечено не было (см. табл. 2). Примечательно, что между концентрацией сывороточного цистатина С и величиной рСКФ регистрировалась высокозначимая взаимосвязь как среди пациентов пожилого ($r = -0,897$; $p=0,001$), так и старческого возраста ($r = -0,846$; $p=0,002$).

Обсуждение. Пациентам с СД 2-го типа пожилого и старческого возраста свойственно одновременное существование двух и более заболеваний [1,2,7,8]. Как правило, они взаимосвязаны по механизмам возникновения и протекают в одно время, являясь либо

осложнением течения основного заболевания, либо результатом его лечения [1,2]. В проведенном нами исследовании (см. рис. 1, 3), у пациентов пожилого возраста с СД 2-го типа существенно чаще отмечались хронический коронарный синдром, артериальная гипертензия и ожирение. Имеются сведения, что при СД 2-го типа в ассоциации с ХКС значительно повышается риск развития инсульта [11]. Следует отметить, что у пациентов с СД 2-го типа хроническая ишемия миокарда протекает без каких-либо клинических проявлений. По результатам наблюдательных исследований установлено, что у лиц с СД 2-го типа при наличии АГ существенно возрастают риски развития хронического коронарного синдрома и инсульта [12].

Среди пациентов с СД 2-го типа в старческом воз-

расте в структуре сопутствующих заболеваний значительно чаще выявлялись избыточная масса тела и артериальная гипертензия. У этой категории пациентов СД 2-го типа достоверно часто ассоциировался с ожирением, ХОБЛ и ХИГМ. Тогда, как у женщин с СД 2 была выше частота ИзМТ и ХКС. Как сообщают исследователи, у пациентов с СД 2-го типа при наличии АГ риск развития острого инфаркта миокарда увеличивается в 5 раз, инсульта в 8 раз [13]. В отчете Multiple Risk Factor Intervention Trial (MRFIT) указано, что при СД 2-го типа увеличиваются риски развития повторных инсультов и ХИГМ, а показатель общей смертности возрастает почти в 3 раза [12].

У пациентов с СД ожидаемая продолжительность жизни существенно ниже, чем у людей, не имеющих сахарного диабета. Смертность от СД 2-го типа составляет 60,29 на 100 тыс. населения [14]. Весьма тревожным считается тот факт, что в Кыргызской Республике у лиц в возрасте 70 лет и старше, количество случаев смерти, связанных с СД, зафиксировано у 1360 человек [4]. Причем смертность гораздо выше среди женского населения по сравнению с мужским (990 женщин и 370 мужчин). По-видимому, это объясняется присутствием более выраженных факторов риска неблагоприятных осложнений среди женщин с СД 2-го типа. Подтверждением этому служит то, что среди лиц старческого возраста с сахарным диабетом частота атерогенной дислипидемии, которая лежит в основе сосудистых осложнений, была значительно выше среди женщин. Кроме того, нами было показано, что признаки поражения почек чаще регистрировались среди женщин с СД 2-го типа.

Как известно, чем выше уровень HbA1c [15], тем больше риск развития макро- и микрососудистых осложнений СД 2-го типа. Это подтверждается и нашими данными. У 30% обследованных нами лиц пожилого возраста с СД 2-го типа были зафиксированы высокие уровни HbA1c. Примечательно, что численность мужчин и женщин с высоким уровнем HbA1c достоверно не отличалась. Нужно также подчеркнуть, что гликемия натощак (26,3%) и повышенные уровни HbA1c у пациентов старческого возраста с СД 2-го типа выявлялись только среди женщин (31,5%). Тогда, как у людей пожилого возраста распространенность гликемии натощак существенно чаще отмечалась у мужчин (31,4% и 10%, $p < 0,05$).

Доказано, что хроническая гипергликемия оказывает значительное влияние на развитие сосудистых осложнений, таких, как ретинопатия, нефропатия, поражение магистральных сосудов сердца и головного мозга, а также периферических сосудов нижних конечностей [2]. Еще в 2011 году по рекомендации ВОЗ началось использование уровня HbA1c в качестве диагностического критерия СД. По литературным сведениям [16,17], HbA1c содержит одну молекулу глюкозы и составляет 60% гликированной фракции. Уровень HbA1c характеризует состояние углеводного обмена за последние 3 месяца, в то время как измерение глюкозы крови дает представление об уровне гликемии лишь на момент исследования. У здоровых людей концентрация HbA1c в крови колеблется до

5,7% [16]. В нашей работе, показатель HbA1c $> 8\%$ выявлялся у 30% в группе пожилых и 31,5% – в группе пациентов старческого возраста. У лиц с сахарным диабетом уровень HbA1c, как правило, зависит от степени гипергликемии: чем выше показатель гликемии за последние 3 месяца, тем выше будет и уровень HbA1c, который является независимым предиктором развития макро- и микрососудистых осложнений [17,18]. Как указано в публикации Е.В. Бирюковой [15], у пациентов с СД 2-го типа в старших возрастных группах целесообразно смягчать интенсивное лечение, направленное на достижение цели HbA1c $\leq 6\%$, поскольку у пациентов пожилого и старческого возраста имеются многочисленные факторы сердечно-сосудистых и почечных осложнений. В рамках известного регистра United Kingdom Prospective Diabetes Study (UKPDS) получено, что при СД 2-го типа снижение уровня HbA1c на 1% ассоциируется со снижением риска смерти на 21%, острого инфаркта миокарда на 14%, микрососудистых осложнений на 37% и заболеваний периферических артерий – на 43% [18]. Имеются сообщения, что у лиц с СД 2-го типа и хронической гипергликемией значительно чаще регистрируется утолщение комплекса интима-медиа сонных артерий [13]. Как сказано в нашей работе, среди лиц старческого возраста частота гликемии натощак была значительно выше у женщин (26,3% и 10,5%, $p < 0,05$). Вместе с тем (см. рис. 4), частота ХСН-НФВ, атеросклеротического поражения сонных артерий, диастолической дисфункции левого желудочка и ГЛП оказалась значимо выше у женщин по сравнению с мужчинами ($p < 0,05$). Здесь нужно подчеркнуть, что за атеросклеротическое поражение сонных артерий мы принимали утолщение комплекса интима-медиа $> 1,5$ мм или локальное уплотнение на 0,5 мм или на 50%, по сравнению со значением толщины интима-медиа в прилежащих участках сонной артерии [19]. Согласно данным ВОЗ, около 75% пациентов СД 2-го типа погибают вследствие микрососудистых осложнений [20].

По накопленным научным сведениям, патогенетическая природа возникновения атеросклеротических сердечно-сосудистых заболеваний при СД 2-го типа многофакторна и складывается не только из каскада последовательных нарушений, свойственных первичному атерогенезу, но и присоединения специфических для диабета факторов [11,21]. Негативное влияние хронической гипергликемии на сосудистую стенку реализуется путем индукции генерализованной эндотелиальной дисфункции и усиления окислительного стресса. В результате чего происходит снижение эндотелий-зависимого расслабления сосудов и, соответственно, увеличивается вазоконстрикция. Одновременно происходит стимуляция гиперплазии гладкомышечных клеток. Важный вклад в развитие атеросклеротических изменений сосудистой стенки вносит нарушение продукции матрикса эндотелиальными клетками, что приводит к утолщению базальной мембраны [22,23]. При агрессивном течении СД 2-го типа наблюдается активация протеинкиназы С и увеличение продукции сосудосуживающих простагландинов, эндотелина-1 и ангиотензин-превращаю-

щего фермента [24].

Обобщая литературные данные [1,2,7,8,11,24], важно отметить, что у людей старших возрастных групп в условиях влияния хронической гипергликемии и других нарушений обмена веществ ускоряется атеро- и артериолосклеротические изменения сосудистой стенки, увеличивается масса миокарда левого желудочка. В нашем исследовании на величину ИММЛЖ пациентов пожилого возраста существенное влияние оказывали (см. табл. 1) концентрация сывороточного цистатина С ($p=0,001$), величина рСКФ ($p=0,011$) и протеинурия ($p=0,018$) (за норму ИММЛЖ принимали менее 115 г/м^2 у мужчин и менее 95 г/м^2 у женщин [25]). Тогда, как среди лиц старческого возраста на показатель ИММЛЖ оказывало влияние только содержание фосфора сыворотки крови ($p=0,045$).

Дальнейший анализ выявил обратную корреляцию цистатина С со скоростью клубочковой фильтрации (см. табл. 2), что подтверждает роль данного биомаркера в качестве надёжного индикатора функции почек [26]. При этом, повышенные уровни сывороточного цистатина С отмечались у 47,1% пожилых пациентов (преимущественно у мужчин) (см. рис. 5). Примечательно, что цистатин С может не только служить маркером азотовыделительной функции почек, но и индикатором неблагоприятных сердечно-сосудистых осложнений [27]. Так, в ряде целенаправленных исследований продемонстрировано, что у людей пожилого возраста сывороточная концентрация цистатина С имела более тесную взаимосвязь с ХИГМ, чем содержание сывороточного креатинина или рСКФ [28,29]. В указанных публикациях также сообщалось, что клинико-патогенетическое течение ХИГМ независимо связано с выраженностью протеинурии [20,30].

В работе М.П. Васильевой и соавт. [31] продемонстрирована сильная корреляция уровня цистатина С с ИММЛЖ и ГЛЖ. Авторы данного исследования указывают на то, что сывороточные уровни цистатина С коррелируют с концентрической ГЛЖ сильнее, чем с эксцентрической ГЛЖ. В литературе связь повышенного уровня цистатина С с развитием ГЛЖ объясняют изменением баланса между протеиназами цистеина (В, S, K) и ингибитором протеиназы цистеина (цистатин С) [32]. В последние годы появились также сообщения, что повышенные уровни цистатина С при хронических воспалительных заболеваниях сигнализируют о развитии эндотелиальной дисфункции [33]. Стоит отметить, что нам удалось продемонстрировать (см. табл. 1) прямую взаимосвязь между повышением концентрации фосфора крови и ростом массы миокарда левого желудочка ($p=0,045$) у пациентов старческого возраста. На наш взгляд, возраст-ассоциированное снижение фильтрационной функции почек сопровождается снижением экскреции фосфатов в организме. Следовательно, гиперфосфатемия запускает образование фосфатов кальция и повышение концентрации паратиреоидного гормона, что вызывает ускорение процесса кальцификации сосудистой стенки [34]. Повышение жесткости сосудистой стенки и увеличение периферического сопротивления сопровождаются ростом частоты сердечных

сокращений [35]. Гиперфункция сердца с последующим возникновением гипертрофии левого желудочка создает предпосылку для развития сердечной недостаточности.

Стойкое снижение фильтрационной функции почек служит предвестником неблагоприятных сердечно-сосудистых осложнений, и это установлено в серии публикаций российских исследователей [36]. Как было представлено на рис. 5 и 6, нарушение функции почек, как в группе пациентов пожилого, так и старческого возраста, сравнительно чаще встречалось у женщин. В ранее проведенном исследовании было показано, что существует обратная зависимость между почечной гипофильтрацией и риском развития инсульта, который увеличивался на 7% при каждом уменьшении рСКФ на 10 мл/мин [37,38]. В нашей работе показано (см. табл. 2), что на величину рСКФ у пациентов пожилого возраста оказывали влияние уровень систолического АД ($p=0,002$) и концентрация общего холестерина ($p=0,016$). У людей пожилого и старческого возраста АГ ускоряет интраартерийный атеросклероз и, тем самым, снижает почечный кровоток. Поэтому сосудистая нефропатия считается одним из вариантов поражения почек при СД 2-го типа у лиц пожилого и старческого возраста.

Подытоживая результаты собственных исследований и имеющиеся литературные данные по обсуждаемой теме, можно сказать, что взаимодействие между факторами риска неблагоприятных сердечно-сосудистых и почечных осложнений у пациентов с СД 2-го типа в пожилом и старческом возрасте, является комплексным патофизиологическим процессом, который может нарушаться еще больше при целом ряде ассоциированных патологических состояний и заболеваний. Знание механизмов их развития позволит проводить эффективную вторичную профилактику неблагоприятных сердечно-сосудистых и почечных осложнений у пациентов с СД 2-го типа в пожилом и старческом возрасте.

Заключение. У пациентов пожилого возраста с СД 2-го типа часто отмечались хронический коронарный синдром (67,1%), артериальная гипертензия (65,7%) и ожирение (45,7%). Распространенность хронической обструктивной болезни легких и хронической ишемии головного мозга была существенно выше у мужчин. Наиболее частыми вариантами поражения сердца являлись гипертрофия левого желудочка (51,4%) и диастолическая дисфункция левого желудочка (70%). Атерогенные сдвиги в липидном метаболизме преимущественно были представлены дислипидемией (32,8%). Гиперхолестеринемия существенно чаще выявлялась среди женщин. Гипергликемия натощак и повышенные уровни сывороточного цистатина С значимо чаще регистрировались у мужчин. У пациентов старческого возраста с СД 2-го типа в структуре сопутствующих заболеваний чаще отмечались избыточная масса тела (68,4%) и артериальная гипертензия (52,6%). У мужчин более часто встречались ожирение, ХОБЛ и ХИГМ, а у женщин – избыточная масса тела, артериальная гипертензия и хронический коронарный синдром. Хроническая сер-

дечная недостаточность с низкой фракцией выброса, атеросклеротическое поражение сонных артерий, диастолическая дисфункция левого желудочка и гипертрофия левого предсердия значимо чаще отмечались у женщин. Наиболее распространенными вариантами поражения сердечно-сосудистой системы являлись гипертрофия левого предсердия (84,1%), диастолическая дисфункция левого желудочка (57,8%) и атеросклеротическое поражение сонных артерий (57,8%). Нарушения липидного обмена преимущественно были представлены гиперхолестеринемией (42,1%). Атерогенная дислипидемия и гликемия натощак существенно чаще выявлялись среди женщин, а гиперфосфатемия, напротив, у мужчин.

На величину индекса массы миокарда левого желудочка у пациентов пожилого возраста существенное влияние оказывали концентрация сывороточного цистатина С, величина рСКФ и протеинурия, тогда как у лиц старческого возраста – только содержание фосфора сыворотки крови.

На величину фильтрационной функции почек у пациентов пожилого возраста оказывали влияние уровень систолического артериального давления и концентрация общего холестерина. Между концентрацией сывороточного цистатина С и величиной рСКФ регистрировали высокозначимую взаимосвязь как среди пациентов пожилого, так и старческого возраста.

ЛИТЕРАТУРА (п.п. 5, 9, 10, 12, 16-19, 22-24, 27-30, 33, 37, 38 см. REFERENCES)

1. Анисимов В.Н., Серпов В.Ю., Финагентов А.В., Хавинсон В.Х. Новый этап развития геронтологии и гериатрии в России: проблемы создания системы гериатрической помощи. Часть 2. Структура системы, научный подход. *Успехи геронтологии*. 2017; 30(4):486-97.
2. Дедов И.И., Шестакова М.В., Викулова О.К., Железнякова А.В., Исаков М.А. Эпидемиологические характеристики сахарного диабета в Российской Федерации: клинико-статистический анализ по данным Федерального регистра сахарного диабета на 01.01.2021. *Сахарный диабет*. 2021; 24(3):204-21. DOI:10.14341/DM12759.
3. Муромцева Г.А., Концевая А.В., Константинов В.В., Артамонова Г.В., Гатагонова Т.М., Дупляков Д.В. и др. Распространенность факторов риска неинфекционных заболеваний в Российской Федерации в 2012-2013 гг. Результаты исследования ЭССЕ-РФ. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2014; 13(6): 4-11. DOI:10.15829/1728-8800-2014-6-4-11.
4. Исмаилов У.Ш., Зурдинов А.З. Эпидемиологическая ситуация по заболеваемости сахарным диабетом в Кыргызской Республике. *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований*. 2020; 3:45-9.
6. Муркамилов И.Т., Айтбаев К.А., Фомин В.В., Муркамилова Ж.А., Реджапова Н.А., Юсупов Ф.А. Клинико-функциональные особенности артериальной жесткости у лиц пожилого возраста. *Системные гипертензии*. 2021; 18(1):31-6. DOI: 10.26442/2075082X.2021.1.200721.
7. Анисимов В.Н., Эргашев О.Н., Финагентов А.В., Бордовский Г.А., Кабанов М.Ю. Структура и основные этапы процесса долгой государственной поддержки граждан старшего поколения. *Успехи геронтологии*. 2022; 35:1:10-24. DOI: 10.34922/AE.2022.35.1.001.
8. Арьев А.Л., Овсянникова Н.А., Арьева Г.Т. Факторы риска развития и прогрессирования патологии почек, сердечно-сосудистой и цереброваскулярной систем едины (взгляд гериатра). *Нефро-*

- логия. 2011; 15(1):76-83. DOI: 10.24884/1561-6274-2011-15-1-76-83.
11. Демидова Т.Ю. Атеросклероз и сахарный диабет типа 2: механизмы и управление. *CardioСomатика*. 2011; 2:12-20.
13. Грачева С.А., Клефтортова И.И., Шамхалова М.Ш. Распространенность сочетанного атеросклеротического поражения сосудов у больных сахарным диабетом. *Сахарный диабет*. 2012; 15(1):49-55. DOI: 10.14341/2072-0351-5979.
14. Воробьев П.А., Воробьев П.А., Краснова Л.С., Воробьев М.П., Опарин И.О. Телемониторинг хронических неинфекционных заболеваний. *Клиническая геронтология*. 2017; 9-10:38-9.
15. Бирюкова Е.В. Роль гликированного гемоглобина в диагностике и улучшении прогноза сахарного диабета. *Медицинский Совет*. 2017; (3):48-53. DOI: 10.21518/2079-701X-2017-3-48-53.
20. Саприна Т.В., Файзулина Н.М. Сахарный диабет 2 типа у лиц пожилого возраста – решенные и нерешенные вопросы. *Сахарный диабет*. 2016; 19(4):322-30. DOI: 10.14341/DM7884.
21. Бобкова И.Н., Шестакова М.В., Щукина А.А. Диабетическая нефропатия-фокус на повреждение подоцитов. *Нефрология*. 2015; 19(2):33-44.
25. Российское медицинское общество по артериальной гипертонии. Рекомендации по ведению больных артериальной гипертонией с метаболическими нарушениями и сахарным диабетом 2-го типа. *Системные гипертензии*. 2020; 17(1):7-45. DOI: 10.26442/2075082X.2020.1.
26. Муркамилов И.Т., Айтбаев К.А., Фомин В.В., Муркамилова Ж.А. Цистатин С как маркер хронической болезни почек. *Терапия*. 2019; 5(4):57-62. DOI: 10.18565/therapy.2019.4.57-62.
31. Васильева М.П., Руденко Т.Е., Кутырина И.М., Соломахи-на Н.И. Цистатин С — новый маркер гипертрофии миокарда левого желудочка у пациентов с хронической болезнью почек. *Терапевтический архив*. 2015; 87(6):17-22. DOI: 10.17116/terarkh201688633-39.
32. Трусов Д.В., Бычкова М.В., Кулюцина Е.Р., Починина Н.К. Гомоцистеин и цистатин С как высокочувствительные биомаркеры эндотелиальной дисфункции у пациентов с хроническими риносинуситами и хроническим тонзиллитом. *Эффективная фармакотерапия*. 2020; 16(37):14-20. DOI: 10.33978/2307-3586-2020-16-37-14-20
34. Волгина Г.В., Михайлова Н.А., Котенко О.Н. Рецептор витамина D: новая терапевтическая мишень при заболевании почек. *Нефрология и диализ*. 2021; 23(3):330-51. DOI: 10.28996/2618-9801-2021-3-330-351.
35. Дзгоева Ф.У., Ремизов О.В., Боциева В.Х., Голыева В.Г., Малахова Н.Г., Икеева З.Р. Клиническое значение сывороточных концентраций остеопротегерина и склеростина в оценке сосудистой кальцификации при хронической болезни почек С3-С5Д стадии. *Терапевтический архив*. 2022; 94(6):731-7. DOI: 10.26442/200403660.2022.06.201562.
36. Козловская Л.В., Бобкова И.Н., Нанчикеева М.Л., Чеботарева Н.В., Ли О.А., Плиева О.К. Общие молекулярно-клеточные механизмы ремоделирования почек и сердца при хронической болезни почек - мишень для нефрокардиопротекции. *Терапевтический архив*. 2013; 85(6):66-72.

REFERENCES

1. Anisimov V.N., Serpov V.Yu., Finagentov A.V., Khavinson V.Kh. A new stage of development of gerontology and geriatrics in Russia: problems of creation of a geriatric care system. Part 2. The structure of the system, scientific approach. *Uspekhi gerontologii*. 2017; 30(4):486-97. (in Russian)
2. Dedov I.I., Shestakova M.V., Vikulova O.K., Zheleznyakova A.V., Isakov M.A. Epidemiological characteristics of diabetes mellitus in the Russian Federation: clinical and statistical analysis according to the federal diabetes register data of 01.01.2021. *Sakharnyi diabet*. 2021; 24(3):204-21. DOI: 10.14341/DM12759. (in Russian)
3. Muromtseva G.A., Kontsevaya A.V., Konstantinov V.V., Artamonova G.V., Gatagonova T.M., Duplyakov D.V. et al. The prevalence of non-infectious diseases risk factors in Russian population in 2012-2013 years. The results of ECVD-RF. *Kardiovaskulyarnaya terapiya*

- i profilaktika*. 2014; 13(6):4–11. DOI: 10.15829/1728-8800-2014-6-4-11. (in Russian)
4. Ismailov U.Sh., Zudinov A.Z. Epidemiological situation of diabetes mellitus in the Kyrgyz Republic. *Mezhdunarodnyi zhurnal prikladnykh i fundamentalnykh issledovaniy*. 2020; 3:45-9. (in Russian)
 5. Chang A.M., Halter J.B. Aging and insulin secretion. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*. 2003; 284:1:E7-E12. DOI: 10.1152/ajpendo.00366.2002.
 6. Murkamilov I.T., Aitbaev K.A., Fomin V.V., Murkamilova Zh.A., Redzhapova N.A., Yusupov F.A. Clinical and functional characteristics of arterial stiffness in elderly. *Sistemnye gipertenzii*. 2021; 18(1):31–6. DOI: 10.26442/2075082X.2021.1.200721. (in Russian)
 7. Anisimov V.N., Ergashev O.N., Finagentov A.V., Bordovskiy G.A., Kabanov M.Yu. Structure and main stages of the process of long-term state support by the state of elderly generation. *Uspekhi gerontologii*. 2022; 35:1:10-24. DOI: 10.34922/AE.2022.35.1.001. (in Russian)
 8. Arieval A.L., Ovsyannikova N.A., Arieval G.T. The risk factors of development and progressing of the pathology of kidneys, cardiovascular and cerebrovascular systems are uniform (views of the geriatrics). *Nefrologiya* (Saint-Petersburg). 2011; 15(1):76-83. DOI: 10.24884/1561-6274-2011-15-1-76-83. (in Russian)
 9. IDF, 2016. Available at: <http://www.diabetesatlas.org>. Accessed January 28, 2016.
 10. KDIGO 2012 Clinical Practice Guidelines for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease. *Kidney Int*. 2013; 1(3):1–163.
 11. Demidova T.Yu. Atherosclerosis and type 2 diabetes mellitus: mechanisms and management. *CardioSomatika*. 2011; 2:12-20. (in Russian)
 12. Stamler J., Vaccaro O., Neaton J.D., Wentworth D. Diabetes, other risk factors, and 12-yr cardiovascular mortality for men screened in the Multiple Risk Factor Intervention Trial. *Diabetes Care*. 1993; 16(2):434-44. DOI: 10.2337/diacare.16.2.434.
 13. Gracheva S.A., Klefortova I.I., Shamkhalova M.S. Prevalence of combined atherosclerotic vascular lesions in patients with diabetes mellitus. *Sakharnyi diabet*. 2012; 15(1):49-55. DOI: 10.14341/2072-0351-5979. (in Russian)
 14. Vorob'yov P.A., Krasnova L.S., Vorob'yov M.P., Oparin I.O. Telemonitoring of chronic non-communicable diseases. *Klinicheskaya gerontologiya*. 2017; 9-10:38-9. (in Russian)
 15. Biryukova E.V. The role of glycated hemoglobin in the diagnosis and improved prognosis of diabetes mellitus. *Meditinskiy sovet*. 2017; (3):48-53. DOI: 10.21518/2079-701X-2017-3-48-53. (in Russian)
 16. Holman R.R., Paul S.K., Bethel M.A., Matthews D.R., Neil H.A.W. 10-year follow-up of intensive glucose control in type 2 diabetes. *N. Engl. J. Med*. 2008; 359(15):1577-89. DOI: 10.1056/NEJMoa0806470.
 17. Weykamp C., John W.G., Mosca A.A. Review of the Challenge in Measuring Hemoglobin A1c. *J. Diabetes Sci. Technol*. 2009; 3(3):439-45. DOI: 10.1177/193229680900300306.
 18. Nasr C.E., Hoogwerf B.J., Faiman C., Reddy S.S. United Kingdom Prospective Diabetes Study (UKPDS). Effects of glucose and blood pressure control on complications of type 2 diabetes mellitus. *Cleveland Clinic journal of medicine*. 1999; 66(4):247-53. DOI: 10.3949/ccjm.66.4.247.
 19. Drechsler D., Kornacewicz Janh Z. Assessment of carotid arteries and Pulse Wave Velocity in patients with three vessel coronary disease. *Kardiologia Polska*. 2002; 57:193-7.
 20. Saprina T.V., Fayzullina N.M. Diabetes type 2 diabetes in the elderly – solved and unsolved questions 2. *Sakharnyi diabet*. 2016; 19(4):322-30. DOI: 10.14341/DM7884. (in Russian)
 21. Bobkova I.N., Shestakova M.V., Shchukina A.A. Diabetic nephropathy - focus on podocytes damage. *Nefrologiya* (Saint-Petersburg). 2015; 19(2):33-44. (in Russian)
 22. Zheng X., Jiang M., Ren X., Han L. The longitudinal association of remnant cholesterol with diabetes in middle-aged and elderly Chinese: A nationwide population-based cohort study. *Journal of Diabetes and its Complications*. 2023; 37(1):108360. DOI: 10.1016/j.jdiacomp.2022.108360.
 23. Ahmadizar F., Wang K., Roos M., Bos M., Mattace-Raso F., Kavousi M. Association between Arterial Stiffness/Remodeling and New-onset Type 2 Diabetes Mellitus in General Population. *Diabetes Research and Clinical Practice*. 2023; 196:110237. DOI: 10.1016/j.diabres.2023.110237.
 24. Jin S., Choi E.J., Choi Y.J., Min W.K., Park J.Y., Yoon S.Z. Relationship between arachidonate 5-lipoxygenase-activating protein gene and peripheral arterial disease in elderly patients undergoing general surgery: a retrospective observational study. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2023; 20(2):1027. DOI: 10.3390/ijerph20021027.
 25. Guidelines on treatment of patients with arterial hypertension comorbid with metabolic disorders and diabetes mellitus type 2. *Sistemnye gipertenzii*. 2020; 17(1):7–45. DOI: 10.26442/2075082X.2020.1.200051. (in Russian)
 26. Murkamilov I.T., Aitbaev K.A., Fomin V.V., Murkamilova Zh.A. Cystatin C as a marker of chronic kidney disease. *Terapiya*. 2019; 5(4):57-62. DOI: 10.18565/therapy.2019.4.57-62. (in Russian)
 27. Xiao C.Y., Ma Y.H., Ou Y.N., Zhao B., Hu H.Y., Wang Z.T., Tan L. Association between Kidney Function and the Burden of Cerebral Small Vessel Disease: An Updated Meta-Analysis and Systematic Review. *Cerebrovascular Diseases*. 2023;4:1-11. DOI: 10.1159/000527069.
 28. Li H., Zhang J., Guo Q., Xie W., Zhan X., Chen Q., Zhang Y. Associations among carotid plaque progression, cerebrovascular/cardiovascular diseases and LDL-C/non-HDL-C goal achievement in diabetic patients: A retrospective cohort study. *Journal of Diabetes and its Complications*. 2023; 37(1):108381. DOI: 10.1016/j.jdiacomp.2022.108381.
 29. Tio M.C., Shafi T., Zhu X., Kalantar-Zadeh K., Chan A., Nguyen L. Traditions and innovations in assessment of glomerular filtration rate using creatinine to cystatin C. *Current Opinion in Nephrology and Hypertension*. 2023; 32(1):89-97. DOI: 10.1097/MNH.0000000000000854.
 30. Wu M.N., Fang P.T., Yang I.H., Hsu C.Y., Lai C.L., Liou L. M. Association between proteinuria and the development of malignant middle cerebral artery infarction: A retrospective cohort study. *Medicine*. 2022; 101(37):e30389. DOI: 10.1097/MD.00000000000030389.
 31. Rudenko T.E., Vasil'yeva M.P., Solomakhina N.I., Kutyryna I.M. Risk factors for pulmonary hypertension at the predialysis stage of chronic kidney disease. *Terapevticheskiy arkhiv*. 2015; 87(6):17-22. DOI: 10.17116/terarkh201688633-39. (in Russian)
 32. Trusov D.V., Bychkova M.V., Kulyutsina Ye.R., Pochinina N.K. Homocysteine and Cystatin C as Highly Sensitive Biomarkers of Endothelial Dysfunction in Patients with Chronic Rhinosinusitis and Chronic Tonsillitis. *Effektivnaya farmakoterapiya*. 2020; 16(37):14–20. DOI: 10.33978/2307-3586-2020-16-37-14-20. (in Russian)
 33. Lees J.S., Rutherford E., Stevens K.I., Chen D.C., Scherzer R., Estrella M.M., Shlipak M. G. Assessment of cystatin C level for risk stratification in adults with chronic kidney disease. *JAMA Network Open*. 2022; 5(10):e2238300-e2238300.
 34. Volgina G.V., Michailova N.A., Kotenko O.N. The vitamin D receptor - a new therapeutic target for kidney disease. *Nefrologiya i dializ*. 2021; 23(3):330-51. DOI: 10.28996/2618-9801-2021-3-330-351. (in Russian)
 35. Dzgoeva F.U., Remizov O.V., Botsieva V.Kh., Goloeva V.G., Malakhova N.G., Ikoeva Z.R. Clinical significance of serum levels of osteoprotegerin and sclerostin in assessment of vascular calcification in chronic kidney disease stage 3–5. *Terapevticheskiy arkhiv*. 2022; 94(6):731–7. DOI: 10.26442/00403660.2022.06.201562. (in Russian)
 36. Kozlovskaya L.V., Bobkova I.N., Chebotareva N.V., Li O.A., Nanchikeeva M.L., Plieva O.K. General molecular and cellular mechanisms for renal and cardiac remodeling in chronic kidney disease: a target for nephrocardioprotection. *Terapevticheskiy arkhiv*. 2013; 85(6):66-72. (in Russian)
 37. Kumai Y., Kamouchi M., Hata J., Ago T., Kitayama J., Nakane H., FSR Investigators. Proteinuria and clinical outcomes after ischemic stroke. *Neurology*. 2012; 12:78(24):1909-15. DOI: 10.1212/WNL.0b013e318259e110.
 38. Lee M., Saver J.L., Chang K.H., Liao H.W., Chang S.C., Ovbiagele B. Low glomerular filtration rate and risk of stroke: meta-analysis. *BMJ*. 2010; 30:341:4249. DOI: 10.1136/bmj.c4249.

© ВОЛЬХИНА И.В., ВИННИКОВ И.С., 2023

Вольхина И.В., Винников И.С.

КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ФАКТОРА РОСТА НЕРВОВ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава РФ, 194100, г. Санкт-Петербург, Россия

Фактор роста нервов (nerve growth factor; NGF) относится к белкам семейства нейротрофинов и участвует в росте, пролиферации, а также регенерации нейронов. NGF является многофункциональной молекулой, поэтому её свойства, механизмы действия и влияния на различные ткани все ещё находятся в процессе исследования, что позволяет предлагать, изучать и развивать новые направления использования фактора роста нервов в медицине. При экзогенном введении NGF эффективен для заживления кожных и роговичных ран, а в комплексе со стволовыми клетками или другими факторами роста может быть использован для лечения повреждений периферических нервов (ППН) и спинного мозга. Интраназальный и внутривентрикулярный методы введения NGF позволяют успешно доставлять фактор роста нервов в центральную нервную систему в обход гематоэнцефалического барьера для улучшения когнитивных функций при лечении черепно-мозговых травм. NGF может быть использован в качестве маркера повреждения нервной ткани, определения степени нейродегенеративных нарушений, перспективного диагностического и/или прогностического биомаркера развития опухолей, а также представляет собой потенциальные терапевтические мишени для ингибирования роста и метастазирования раковых клеток. Антитела против NGF эффективны для ингибирования боли при остеоартрите умеренной и тяжёлой степени. Биоматериалы, содержащие NGF, обладают большим потенциалом в области лечения ППН. Актуальным подходом к регуляции системы NGF является создание низкомолекулярных миметиков фактора роста нервов, взаимодействующих с его рецепторами. Таким образом, применение NGF и препаратов, влияющих на его содержание и проявление действия, мониторинг его уровня в поврежденных тканях и биологических жидкостях организма является перспективным направлением в медицине, в частности, в неврологии, нейрохирургии, офтальмологии и онкологии, но полноценное внедрение использования фактора роста нервов в медицинскую практику требует времени, необходимого для подтверждения эффектов, полученных в ходе экспериментов и клинических испытаний.

Ключевые слова: обзор; NGF; TrkA; p75NTR; клиническое значение; маркеры; HSN.

Для цитирования: Вольхина И.В., Винников И.С. Клиническое значение фактора роста нервов (обзор литературы). *Клиническая лабораторная диагностика*. 2023; 68 (6): 333-340. DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2023-68-6-333-340>

Для корреспонденции: Вольхина Ирина Витальевна, канд. биол. наук, доц. кафедры биохимии; e-mail: volchinaiv@gmail.com

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 13.01.2023

Принята к печати 20.03.2023

Опубликовано 05.06.2023

Volkhina I.V., Vinnikov I.S.

CLINICAL SIGNIFICANCE OF NERVE GROWTH FACTOR (review of literature)

St. Petersburg State Pediatric Medical University Ministry of Health of the Russian Federation, 194100, St. Petersburg, Russia

Nerve growth factor (nerve growth factor; NGF) belongs to the neurotrophin family of proteins and is involved in neuronal growth, proliferation and regeneration. NGF is a multifunctional molecule, therefore, its properties, mechanisms of action and effect on various tissues are still being researched, which makes it possible to propose, study and develop new directions for the use of nerve growth factor in medicine. When administered exogenously, NGF is effective for healing of skin and corneal wounds, and in combination with stem cells or other growth factors can be used for treatment of peripheral nerve injuries (PNI) and spinal cord injuries. Intranasal and intraventricular methods of NGF administration allow successful delivery of nerve growth factor to the central nervous system bypassing the blood-brain barrier to improve cognitive function in the treatment of craniocerebral injuries. NGF can be used as a marker of neural tissue damage, to determine the extent of neurodegenerative disorders, as a promising diagnostic and/or prognostic biomarker of tumour development, and as a potential therapeutic target for inhibition of cancer cell growth and metastasis. Antibodies against NGF are effective for inhibiting pain in moderate to severe osteoarthritis. Biomaterials containing NGF have great potential for the treatment of PNI. A relevant approach to regulating the NGF system is the creation of low-molecular-weight nerve growth factor mimetics that interact with its receptors. Thus, the use of NGF and drugs influencing its content and manifestation, monitoring of its levels in the damaged tissues and body fluids is a promising area of activity in medicine, especially in neurology, neurosurgery, ophthalmology and oncology. However, the full-scale implementation of the nerve growth factor into medical practice requires time to confirm the effects obtained in the course of experimental and clinical trials.

Key words: review; NGF; TrkA; p75NTR; clinical significance; markers; HSN.

For citation: Volkhina I.V., Vinnikov I.S. Clinical significance of nerve growth factor (review of literature). *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2023; 68 (6): 333-340 (in Russ.) DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2023-68-6-333-340>

For correspondence: Volkhina Irina Vitalievna, PhD, Associate Professor, Department of Biological Chemistry; e-mail: volchinaiv@gmail.com

Information about authors:

Volkhina I.V., <https://orcid.org/0000-0001-6481-3383>;

Vinnikov I.S., <https://orcid.org/0000-0001-9681-177X>.

Conflict of interest. The authors declare absence of conflict of interest.

Acknowledgment. *The study had no sponsorship.*

Received 13.01.2023

Accepted 20.03.2023

Published 05.06.2023

Введение. Расширение горизонтов нейробиологии приводит к пониманию особой роли нервной системы для поддержания здоровья и в процессе развития различных заболеваний. К одной из серьезных проблем в системе здравоохранения XXI века по прогнозам ВОЗ будут относиться нейродегенеративные заболевания, представителями которых являются болезнь Паркинсона, болезнь Альцгеймера, болезнь Хантингтона, боковой амиотрофический склероз, рассеянный склероз, различные деменции, инсульты, тяжелые депрессивные расстройства [1]. Успехи в изучении механизмов прогрессирующей гибели нервных клеток способствуют расширению сфер поиска новых эффективных лекарственных средств, а также методов ранней диагностики и мониторинга этих заболеваний [2]. Нейробиология рака является активно развивающейся дисциплиной, которая открывает новые перспективы в изучении механизмов образования, прогрессирования и метастазирования опухолей [3]. Нейроиммунология начинает все больше уделять внимание взаимодействиям, связанных с периферической нервной системой [4].

Фактор роста нервов (NGF) представляет собой секретируемый белок, стимулирующий развитие и активность нейронов, поддерживающий их жизнеспособность.

Целью данного обзора является обобщение, анализ и систематизация современных представлений о перспективах использования фактора роста нервов в медицинской практике.

1. Структура и биологическая роль NGF.

Фактор роста нервов (nerve growth factor, NGF) относится к семейству нейротрофинов, необходимых для нормального роста, пролиферации и регенерации нейронов. Данный белок обладает сильным нейротропным действием, в связи с чем ему приписывают большой потенциал в лечении заболеваний, связанных с дегенерацией нервной ткани. Он обладает проноцицептивными функциями, способствуя сенсibilизации периферических и центральных сенсорных нейронов и, потенциально, стимулируя прорастание нейронов в местах повреждения [5].

Предшественник фактора роста нервов (proNGF) также обладает биологической активностью, оказывая как проапоптотическое, так и нейротрофическое действие [6]. Известно, что фармакологическое нарушение процессинга proNGF до NGF приводит к аккумуляции proNGF, дегенерации холинергических нейронов и поведенческим нарушениям у крыс, что частично напоминает патогенез болезни Альцгеймера [7]. Ген, кодирующий NGF, расположен на проксимальных коротких плечах первой пары хромосом, 1p13.2 [8].

NGF играет важную роль в контроле дифференциации и выживаемости периферических симпатиче-

ских и сенсорных нервных волокон, а также в функциональной деятельности холинергических нейронов [6]. В центральной нервной системе наибольшее количество этого белка вырабатывается в коре головного мозга, гиппокампе и гипофизе [9]. Макрофаги, вторгающиеся в нерв после пересечения, производят сигналы, которые усиливают синтез NGF. Тучные клетки синтезируют NGF и секретируют его после активации [10]. Плейотропные эффекты воздействия NGF включают, например, контроль фолликулогенеза и функции яичников, а также регуляцию физиологического и патологического ангиогенеза посредством взаимодействия с системой сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF) [11]. Нейротрофины, в том числе фактор роста нервов, и их рецепторы широко экспрессируются в скелетных тканях, участвуют в хондрогенезе, остеобластогенезе и остеокластогенезе, а также в регуляции процессов формирования и заживления тканей [8; 12].

Процессы образования нейритов в культурах нейробластомальных клеток и первичных нейронов влияют на различные факторы, в том числе ганглиозиды, к которым относится моносиаловый ганглиозид GM1 [13]. Отмечается способность GM1 повышать экспрессию NGF у крыс с острым повреждением спинного мозга [14]. Применение нейраминидазы стимулирует рост нейритов из клеток нейробластомы, что тесно связано с увеличением количества GM1 на поверхности клетки [15]. Поэтому изменения процессов десикалирование/сикалирование в ответ на внутренние или внешние стимулы [16] рассматриваются при изучении регуляции синтеза NGF и других нейротрофинов.

2. Механизмы действия NGF.

Основные механизмы действия NGF осуществляются через сигнальный путь TrkA (тропомиозин-рецепторную киназу A, нейротрофную рецепторную тирозинкиназу 1 (NTRK1)) и рецептор нейротропина (p75NTR).

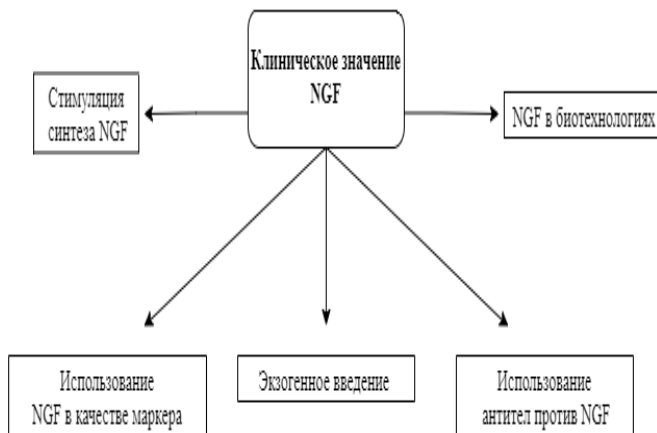
После взаимодействия NGF с его высокоаффинными рецепторами TrkA активируются внутриклеточные каскадные механизмы, связанные с активацией PLC- γ (фосфолипазы C- γ , phosphoinositide phospholipase C (EC 3.1.4.11), PI3K (фосфатидилинозитол-3-киназы, phosphoinositide 3-kinases, PI 3-kinases, EC 2.7.1) и RAS (receptor-independent signaling pathway).

Низкоаффинный рецептор фактора роста нервов p75NTR относится к семейству рецепторов фактора некроза опухоли. В отличие от TrkA-рецепторов, в основном способных взаимодействовать только со зрелым NGF, p75-рецепторы взаимодействуют со всеми известными нейротрофинами, а также с белками-предшественниками нейротрофинов. Зрелый NGF связывается с p75-рецепторами с гораздо меньшей аффинностью, чем с TrkA-рецепторами. Когда

p75NTR находится в комплексе с сортилиновым рецептором (трансмембранным рецептором семейства VPS10p), с ним с высокой аффинностью связывается proNGF, что активирует JNK-каскад, приводящий к гибели клетки путем апоптоза. Этот процесс является прямым механизмом гибели клетки. Также возможен косвенный - путем ингибирования Akt и, следовательно, механизмов выживания [17]. В головном мозге proNGF активирует нейротрофические пути, если соблюдается баланс между рецепторами TrkA и p75NTR, в случае преобладания последнего будет индуцироваться апоптоз клетки [18].

3. Перспективы использования NGF в медицине.

NGF является многофункциональной молекулой, поэтому её свойства, механизмы действия и влияния на различные ткани все ещё находятся в процессе исследования, что позволяет предлагать, изучать и развивать новые направления использования фактора роста нервов в медицине [19] (см. рисунок).



Клиническое значение NGF.

Экзогенное введение NGF. Терапевтическое использование NGF пока ограничивается его нестабильностью в биологических жидкостях, плохой способностью проникать через гематоэнцефалический барьер, возможностью иммунной реакции, наличием побочных эффектов за счет его плейотропности [2], в частности потерей массы тела и гипералгезией [20].

В области лечения гипоксически-ишемических травм головного мозга у новорожденных внутричерепноventрикулярными инъекциями NGF наблюдалось улучшение коматозного статуса и когнитивных функций, а также параметров электроэнцефалографии и позитронно-эмиссионной томографии, были уменьшены малактические области, увеличена перфузия коры головного мозга, наблюдалось улучшение произвольных движений, мимики лица, фонации, внимания и понимания слов, кашлевого рефлекса, моторики полости рта, функций кишечника и мочеиспускания [21]. Недавние исследования М. Mustafakulov и соавт. [22] показывают, что NGF стимулирует активность антиоксидантных ферментов в мозге крысы, а при экзогенном введении на ранней стадии повреждения периферического нерва активирует аутофагию

дифференцированных Шванновских клеток, ускоряет клиренс миелинового мусора и регенерацию аксонов [23], что даёт более полное представления о механизмах нейропротекции, опосредованной фактором.

Нередко NGF используется в комплексе со стволовыми клетками или другими факторами роста, с целью получения субстанции, эффективно стимулирующей пролиферацию и регенерацию нейронов при лечении черепно-мозговых травм, повреждений периферических нервов (ППН) и травм спинного мозга. L. Wang и соавт. [24] был разработан инъекционный гидрогель гиалуроновой кислоты, содержащий костные мезенхимальные стволовые клетки и NGF, который способствовал восстановлению эндогенных нервных клеток.

NGF стимулирует пролиферацию фибробластов и кератиноцитов, экспрессию и секрецию компонентов внеклеточного матрикса, способствует ангиогенезу и дифференцировке миофибробластов. Поэтому местное применение NGF значительно способствует заживлению различных типов ран, включая язвы диабетической стопы, пролежни и раны роговицы [8]. Ряд исследований также показал эффективность комбинации bFGF (basic fibroblast growth factor, основной фактор роста фибробластов) и NGF в данной области применения [25, 26]. В эксперименте на мышах NGF ингибировал рост фибросаркомы HT1080 [27].

Экзогенное введение NGF оказывает значительное заживляющее действие на кожные, роговичные раны и раны ротовой полости без явных побочных эффектов. Предположительно такое действие NGF проявляет за счет стимуляции пролиферации нормальных кератиноцитов и эпидермальных стволовых клеток, синтеза коллагена и ускорения миграции фибробластов [28].

Рекомбинантная форма NGF одобрена в качестве препарата в виде глазных капель Сенегермин (Senegermin) для лечения умеренного или тяжелого нейротрофического кератита у взрослых. Терапия данным препаратом оказалась эффективной при лечении нейротрофической кератопатии не только у взрослых, но и у детей [29]. Сенегермин является периферически селективным агонистом TrkA и p75NTR, и также разрабатывается для лечения сухости глаз, пигментного ретинита и глаукомы.

Использование NGF в качестве биомаркера. В настоящее время в медицине одним из приоритетных направлений является поиск и выявление специфических биомаркеров. NGF может быть использован в качестве диагностического маркера повреждения нервной ткани (табл. 1). Анализ показателей нейроповреждения с установленными неврологическими диагнозами позволит контролировать качество проводимого лечения, корректировать его и не допускать тяжелых исходов заболеваний [30]. Для определения тяжести поражения мозга при ишемическом инсульте возможно изучение содержания NGF в ликворе и крови [31]. Мониторинг уровня NGF в ликворе после декомпрессивной краниэктомии может быть полезен для прогноза развития сообщающейся гидроцефалии [32].

Известно, что у детей с аутизмом отмечается снижение содержания нейротрофинов (NGF и BDNF) в

сыворотке крови, преобладающее при тяжелой степени расстройства аутистического спектра, что значительно снижает нейропротективное действие на головной мозг и способствует усилению эксайтотоксических и аноксических процессов [33]. Роль фактора роста нервов в патогенезе болезни Паркинсона пока не ясна, однако известно, что у больных значительно снижен уровень NGF в сыворотке крови [34]. При синдроме Дауна наблюдается повышение уровня proNGF в плазме крови и ликворе, причем данный показатель коррелирует с прогрессированием когнитив-

ных нарушений [35].

В ряде исследований описан более низкий уровень NGF и других нейротрофических факторов в сыворотке крови у пациентов с шизофренией по сравнению со здоровыми людьми [9, 36]. Однако недавно было обнаружено повышенное содержание NGF в сыворотке крови у больных параноидной шизофренией с выраженными негативными симптомами, что позволяет предположить возможную роль NGF в развитии данных симптомов [37].

Подавляющее большинство раковых клеток, вне

Таблица 1

Изменение содержания proNGF/NGF при некоторых диагнозах

Заболевание	Изменение содержания proNGF/NGF	Авторы исследования
Аутизм	↓ NGF	Цукурова Л.А. [33]
Болезнь Паркинсона	↓ NGF	Pedre L.L. и соавт. [34]
Шизофрения	↓ NGF	Qin X.-Y. [9], Turkmen B.A. и соавт. [36]
Диабетическая периферическая невропатия	↓ NGF	Sun Q. и соавт. [38]
Синдром Дауна	↑ proNGF	Pentz R. и соавт. [35]
Рак печени	↑ NGF	Lin H. и соавт. [39]
Рак молочной железы	↑ NGF	Bradshaw R.A. [40], Bruno F. и соавт. [41]
Филлоидные опухоли молочной железы	↑ NGF	Kumar A. и соавт. [42]

зависимости от их типа, склонны к сверхэкспрессии NGF и его рецепторов [43, 44]. Известно, что повышение содержания NGF, proNGF, TrkA может быть клинически важно для диагностики и лечения рака молочной и предстательной желез [40], филоидных опухолей молочных желез [42], рака пищеварительной системы [45], в том числе плоскоклеточном раке пищевода [46] (см. табл. 1). Поэтому, благодаря сверхэкспрессии, NGF и его рецепторы представляют собой перспективные диагностические и/или прогностические биомаркеры развития опухолей, а также представляют собой потенциальные терапевтические мишени для ингибирования роста и метастазирования раковых клеток [47, 48].

NGF в биотехнологиях. За счет своих физических свойств и биохимических функций NGF все чаще используется как структурный компонент в создании различных медицинских материалов. Получен биоматериал, покрытый наночастицами гепарина, хитозана и NGF [49]. Результаты данного исследования показывают, что модифицированная поверхность способна ингибировать адгезию и активацию тромбоцитов, способствовать усилению роста эндотелиальных клеток и предотвращению сверхпролиферации гладкомышечных клеток, что в перспективе может использоваться для покрытия стента коронарной артерии.

Для усиления регенерации периферических нервов была предложена локальная доставка нейротрофических факторов, включая NGF и нейротрофический фактор, полученный из линии глиальных клеток (GDNF), в хирургические участки с помощью во-

локнистого биокомпонентного каркаса [50]. Данный каркас необходим для контролируемой и устойчивой транспортировки этих терапевтических биомолекул из-за их уязвимости и короткого периода полураспада при прямом введении.

NGF может использоваться и в генной терапии. Показано, что аденоассоциированный вирус, содержащий гены NGF и пяти гипоксия-чувствительных элементов в комплексе с нервными стволовыми клетками, улучшает восстановление поврежденного спинного мозга [51].

Использование антител против NGF. Хроническая боль продолжает оставаться серьезной глобальной проблемой, несмотря на наличие множества нефармакологических и фармакологических вариантов лечения. Таким образом, существует потребность в новых анальгетиках с новыми механизмами действия. Фактор роста нервов является важным нейротрофином, который активирует ноцицептивные нейроны для передачи болевых сигналов от периферической к центральной нервной системе. Антитела против NGF ингибируют боль в суставах и улучшают их функцию у людей с умеренной и тяжелой степенью остеоартрита (ОА) колена и тазобедренного сустава. Изучения действия этих антител находятся на разных стадиях клинических и доклинических испытаний для лечения боли при ОА [52, 53].

Имеются исследования, которые показывают, что NGF является медиатором астмы, а блокада NGF улучшает некоторые симптомы [54].

Измененная сигнализация нейротрофинов уча-

ствуется в развитии и прогрессировании ряда видов рака, включая нейробластому, медуллобластому, меланому, папиллярную карциному щитовидной железы, рак поджелудочной железы, рак предстательной железы и рак молочной железы. Передача сигналов нейротрофинов в патогенезе рака связана со стимуляцией митогенеза, продвижением метастазирования и инвазивности, а также ингибированием апоптоза [55]. Использование антител против NGF может оказаться полезным при лечении рака молочной железы, где важным фактором является сверхэкспрессия NGF [56]. Антитела против NGF уменьшают миграцию клеток до 40% в клеточных линиях рака предстательной железы, которые потеряли экспрессию p75NTR и сохранили активность тирозинкиназы TrkA [57].

Стимуляция синтеза NGF. В эксперименте на животных успешно было повышено содержание NGF в ликворе путем имплантации капсул с прогестероном [58]. Предположительно эффект усиления синтеза NGF прогестероном обусловлен его способностью связываться с низкой афинностью с глюкокортикоидными рецепторами, активация которых увеличивает экспрессию NGF, TrkA и p75NTR в головном и спинном мозге [59].

Стимуляция электронной акупунктурой (EA) на определенной частоте может повысить проницаемость ГЭБ в префронтальной коре и индуцировать поглощение NGF префронтальными нейронами. В присутствии стимуляции EA поступление NGF в мозг способствовало обучению и памяти у крыс и ингибировало апоптоз нейронов в гиппокампе [60].

Использование миметиков NGF. Актуальным подходом к регуляции системы NGF является созда-

ние (конструирование и синтез) низкомолекулярных миметиков фактора роста нервов, взаимодействующих с TrkA [2; 61]. Синтезирован и фармакологически изучен низкомолекулярный миметик NGF, воспроизводящий его фармакотерапевтические эффекты *in vivo*, избирательно активирующий PI3K/Akt сигнальный путь, проникающий сквозь гематоэнцефалический барьер и свободный от основных побочных эффектов фактора роста нервов, таких как гипералгезия и потеря веса [62].

Наследственные невропатии, связанные с дефектами NGF и его рецепторов. Наследственными сенсорно-вегетативными невропатиями (HSAN) называют группу генетических заболеваний, включающих различные сенсорные и вегетативные дисфункции.

HSAN IV и HSAN V относятся к редким наследственным невропатиям и характеризуются врожденной генерализованной потерей боли и теплового ощущения (табл. 2). HSAN IV дополнительно сопровождается снижением потоотделения и умственной отсталостью. Причинами развития данных заболеваний являются мутации в генах NGF (HSAN V) или его рецептора TrkA (HSAN IV). Эти заболевания являются особенными среди HSANs, поскольку они вызваны не мутациями в генах, непосредственно или исключительно связанных с функцией периферических ноцицепторов, а с генами *NGF* и *NTRK1*, участвующими как в правильном развитии сенсорных нейронов, так и в функции передачи и восприятия боли взрослыми на разных уровнях нервной системы [5].

Таблица 2

Показатели HSAN, связанных с мутациями генов NGF и NTRK1

Название	ОМIM	Расположение	Ген	Проявления
HSAN IV Врожденная нечувствительность к боли с ангидрозом (CIPA)	256800	1q23.1	<i>NTRK1</i>	Потеря способности чувствовать боль, тепло, холод. Ангидроз. Способность ощущать боль (включая висцеральную) отсутствует, что приводит к оральному членовредительству (укусы языка, губ и слизистой оболочки щеки), укусам кончиков пальцев, синякам, рубцам и инфекции кожи. Склонность к множественным случайным травмам (переломам костей, вывихи суставов, ожоги), а также умственная отсталость [63]
HSAN V Врожденная нечувствительность к боли	608654	1p13.2	<i>NGF</i>	Потеря способности чувствовать боль, тепло, холод. Склонность к множественным телесным повреждениям (переломы костей, травмы связок и суставов), которое не сопровождается интеллектуальной инвалидностью или когнитивными нарушениями [64]

У пациентов с CIPA (HSAN IV) стандартные оперативные методы лечения, например, бессимптомных тазобедренных суставов Шарко с верхней миграцией и вывихом обоих бедер без боли, как правило, оказываются неэффективными. В таких случаях требуется мультидисциплинарный консервативный подход с тщательным наблюдением и модификацией активности [63].

Заключение. Изучение свойств, метаболизма и механизмов действия NGF открывает новые пути его применения в медицине. Несмотря на важное значение фактора роста нервов для протекания многих процессов, широкое терапевтическое использование NGF

пока ограничивается его нестабильностью в организме, проблемой проникновения через гематоэнцефалический барьер, опасностью развития иммунных реакций, наличием различных побочных эффектов за счет его плейотропности. Но местное использование рекомбинантной формой NGF в виде глазных капель уже доступно. В качестве маркера NGF может использоваться для оценки степени повреждения нервной ткани, а также прогрессирования раковых опухолей. Создание биоматериалов, содержащих NGF, обладает большим потенциалом в лечении ППН.

Таким образом, применение NGF и мониторинг его уровня в сыворотке крови является перспектив-

ным направлением в неврологии, нейрохирургии и онкологии, но полноценное внедрение использования фактора роста нервов в медицинскую практику требует времени, необходимого для подтверждения эффектов, полученных в ходе экспериментов и клинических испытаний.

ЛИТЕРАТУРА (п.п. 3–6, 7–12, 14, 15, 17, 18, 20–29, 31, 32, 34–36, 38–46, 48–62 см. REFERENCES)

1. Юсупов Ф.А., Юлдашев А.А. Биомаркеры нейродегенеративных заболеваний. *Бюллетень науки и практики*. 2021;7(9):341-53. DOI: 10.33619/2414-2948/70/30.
2. Котельникова С.О., Гарибова Т.Л., Гудашева Т.А., Крайнева В.А., Воронина Т.А. Изучение нейropsychotropic свойств соединения с нейропротекторной активностью димерного дипептидного миметика 4-й петли фактора роста нервов человека, ГК-2Н. *Фармакокинетика и фармакодинамика*. 2016; 3:26-30.
6. Кузник Б.И., Давыдов С.О., Ланда И.В. Фактор роста нервов и его роль в условиях нормы и патологии. *Успехи физиологических наук*. 2019; 50(4):64-80. DOI: 10.1134/S0301179819040052.
13. Мавлиханова А.А., Павлов В.Н., Ян Б., Катаев В.А., Ван Н., Аглетдинов Э.Ф. и др. Моносиалоганглиозид GM1: структура, антиапоптотические свойства и нейропротекция. *Медицинский вестник Башкортостана*. 2018; 3(5):82-7.
16. Вольхина И.В., Бутолин Е.Г., Данилова Л.А. Перспективы использования показателей обмена сиаловых кислот в медицине. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2021; 66(7): 389-95. DOI: 10.51620/0869-2084-2021-66-7-389-395.
19. Винников И.С. Перспективы использования NGF в медицине. Всероссийский научный форум студентов с международным участием «Студенческая наука – 2022». *Forcipe*, 2022; 5(3):102.
30. Панова М.С., Панченко А.С. Маркеры повреждения центральной нервной системы у детей. Современное состояние проблемы. *Педиатр*. 2020; 11(3):93–9. DOI: 10.17816/PED11393-99.
33. Цукурова Л.А. Нейропротективный подход к оптимизации лечебно-коррекционных мероприятий у детей с расстройствами аутистического спектра. *Журнал неврологии и психиатрии*. 2018; 5(2):51-6. DOI: 10.17116/jnevro20181185251.
37. Малашенкова И.К., Ушаков В.Л., Захарова Н.В., Крынский С.А., Огурцов Д.П., Хайлов Н.А., Чекулаева Е.И., Рагушный А.Ю., Карташов С.И., Костюк Г.П., Дидковский Н.А. Нейроиммунные аспекты шизофрении с выраженными негативными симптомами: новые маркеры диагностики фенотипов болезни. *Современные технологии в медицине*. 2021; 6:24-35. DOI: 10.107691/stm2021.13.6.03.
47. Винников И.С., Вольхина И.В. NGF в онкологии. Сборник научных трудов III Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Современные достижения химико-биологических наук в профилактической и клинической медицине». Санкт-Петербург; 2022:229-33.
62. Середин С.Б., Гудашева Т.А. Создание фармакологически активной малой молекулы, обладающей свойствами фактора роста нервов. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2015; 115(6):63-70. DOI: 10.17116/jnevro20151156163-70.

REFERENCES

1. Yusupov F.A., Yuldashev A.A. Biomarkers of neurodegenerative diseases. *Byulleten' nauki i praktiki*. 2021; 7(9):341-53. DOI: 10.33619/2414-2948/70/30. (in Russian)
2. Kotelnikova S.A., Garibova T.L., Gudasheva T.A., Kraineva V.A., Voronina T.A. Study of neuropsychotropic properties of compound with neuroprotective activity of dimeric dipeptide mimetic of 4th loop human nerve growth factor, GC-2H. *Farmakokinetika i farmakodinamika*. 2016; 3:26-30. (in Russian)

3. Mravec B. Neurobiology of cancer: Definition, historical overview, and clinical implications. *Cancer Med*. 2022; 11(4):903-21. DOI: 10.1002/cam4.4488.
4. Hondermarck H., Huang P.S., Wagner J.A. The nervous system: Orchestra conductor in cancer, regeneration, inflammation and immunity. *FASEB Bioadv*. 2021; 3(11):944-52. DOI: 10.1096/fba.2021-00080.
5. Testa G., Cattaneo A., Capsoni S. Understanding pain perception through genetic painlessness diseases: The role of NGF and proNGF. *Pharmacol. Res*. 2021; 169:105662. DOI: 10.1016/j.phrs.2021.105662.
6. Kuznik B.I., Davydov S.O., Landa I.V. Nerve growth factor and its role in norm and pathology. *Uspekhi fiziologicheskikh nauk*. 2019; 50(4):64-80. DOI: 10.1134/S0301179819040052. (in Russian)
7. Costa R.O., Perestrello T., Almeida R.D. PRONEurotrophins and CONSEQUENCES. *Mol. Neurobiol*. 2018; 55(4): 2934-51. DOI: 10.1007/s12035-017-0505-7.
8. Liu Z., Wu H., Huang S. Role of NGF and its receptors in wound healing (Review). *Exp. Ther. Med*. 2021; 21(6):599. DOI: 10.3892/etm.2021.10031.
9. Qin X-Y, Wu H-T, Cao C., Loh, Y.P., Cheng Y. A meta-analysis of peripheral blood nerve growth factor levels in patients with schizophrenia. *Mol. Psychiatry*. 2017; 22(9):1306-12. DOI: 10.1038/mp.2016.235.
10. Huang E. J., Reichardt L.F. Neurotrophins: roles in neuronal development and function. *Ann. Rev. Neurosci*. 2001; 24: 677-736. DOI: 10.1146/annurev.neuro.24.1.677.
11. Nico B., Mangieri D., Benagiano V., Crivellato E., Ribatti D. Nerve growth factor as an angiogenic factor. *Microvascular. Research*. 2008; 75:135–41. DOI: 10.1016/j.mvr.2007.07.004.
12. Su Y.-W., Zhou X.-F., Foster B.K., Grills B.L., Xu J., Xian C.J. Roles of neurotrophins in skeletal tissue formation and healing. *J. Cell Physiol*. 2018; 233(3):2133–45. DOI: 10.1002/jcp.25936.
13. Mavlikhanova A.A., Pavlov V.N., Yang B., Kataev V.A., Wang N., Agletdinov E.F. et al. Monosialoganglioside GM1: structure, anti-apoptotic properties and neuroprotection. *Meditsinskiy vestnik Bashkortostana*. 2018; 3(5):82-7. (in Russian)
14. Yuan B., Zhang W.-W. Effects of gangliosides on expressions of caspase-3 and NGF in rats with acute spinal cord injury. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci*. 2017; 21(24):5843-9. DOI: 10.26355/eur-med_201712_14033.
15. Kolter T. Ganglioside biochemistry. *ISRN Biochem*. 2012; 5:1–36. DOI: 10.5402/2012/506160.
16. Volkhina I.V., Butolin E.G., Danilova L.A. Prospects for the use of sialic acid metabolism indicators in medicine. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2021; 66(7): 389-95. DOI: 10.51620/0869-2084-2021-66-7-389-395. (in Russian)
17. Scott-Solomon E., Kuruvilla R. Mechanisms of neurotrophin trafficking via Trk receptors. *Mol. Cell Neurosci*. 2018; 91:25-33. doi: 10.1016/j.mcn.2018.03.013.
18. Fahnstock M., Shekari A. ProNGF and Neurodegeneration in Alzheimer's Disease. *Front Neurosci*. 2019; 13:129. DOI: 10.3389/fnins.2019.00129.
19. Vinnikov I.S. Prospects of NGF use in medicine. All-Russian Scientific Forum of Students with International Participation "Student Science - 2022". *Forcipe*, 2022; 5(3):102. (in Russian)
20. Allen S., Dawbarn D. Clinical relevance of the neurotrophins and their receptors. *Clin. Sci. (Lond)*. 2006; 110(2):175-91. DOI: 10.1042/CS20050161.
21. Chiaretti A., Genovese O., Riccardi R., Di Rocco C., Di Giuda D., Mariotti P. et al. Intraventricular nerve growth factor infusion: a possible treatment for neurological deficits following hypoxic-ischemic brain injury in infants. *Neurol. Res*. 2005; 27:741–6. DOI: 10.3390/brainsci3031013.
22. Mustafakulov M., Tukhtaeva S., Seit-Asan L., Murodova M., Mustafakulova N., Saatov T. The effect of NGF on indicators of the antioxidant system in rat brain tissue. *Universum: Chemistry and Biology*. 2021; 9:87.
23. Li R., Li D., Wu C., Ye L., Wu Y., Yuan Y. et al. Nerve growth factor activates autophagy in Schwann cells to enhance myelin debris clearance and to expedite nerve regeneration. *Theranostics*. 2020;

- 10(4):1649-77. DOI: 10.7150/thno.40919.
24. Wang L., Zhang D., Ren Y., Guo S., Li J., Ma S. et al. Injectable hyaluronic acid hydrogel loaded with BMSC and NGF for traumatic brain injury treatment. *Mater. Today Bio.* 2021; 13:100201. DOI: 10.1016/j.mtbio.2021.100201.
 25. Wu Y., Wang Z., Cai P., Jiang T., Li Y., Yuan Y. et al. Dual Delivery of bFGF- and NGF-Binding Coacervate Confers Neuroprotection by Promoting Neuronal Proliferation. *Cell Physiol. Biochem.* 2018; 47(3):948-56. DOI: 10.1159/000490139.
 26. Hu X., Li R., Wu Y. Thermosensitive heparin-poloxamer hydrogel encapsulated bFGF and NGF to treat spinal cord injury. *J. Cell Mol. Med.* 2020; 24(14):8166-78. DOI: 10.1111/jcmm.15478.
 27. Kawasaki H., Goda M., Fukuhara S., Hashikawa-Hobara N., Zamami Y., Takatori S. Nerve growth factor (NGF) has an anti-tumor effects through perivascular innervation of neovessels in HT1080 fibrosarcoma and HepG2 hepatitis tumor in nude mice. *J. Pharmacol. Sci.* 2019; 140(1):1-7. DOI: 10.1016/j.jpshs.2019.02.011.
 28. Gostynska N., Pannella M., Rocco M.L., Giardino L., Aloe L., Calzà L. The pleiotropic molecule NGF regulates the in vitro properties of fibroblasts, keratinocytes, and endothelial cells: implications for wound healing. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 2020; 318(2):360-71. DOI: 10.1152/ajpcell.00180.2019.
 29. Papadopoulou K., Besgen V., Sekundo W. Successful treatment of a pediatric neurotrophic keratopathy with cenergermin. *Cornea.* 2021; 40(4):516-518. DOI: 10.1097/ICO.0000000000002512.
 30. Panova M.S., Panchenko A.S. Markers of damage to the central nervous system in children. The modern state of the problem. *Pediatr.* 2020; 11(3):93-9. DOI: 10.17816/PED11393-99. (in Russian)
 31. Pivovarova L., Voznyuk I., Osipova I., Gogoleva E. Nerve growth factor and s100b in blood and cerebrospinal fluid as indicators of the severity of ischemic stroke. *Medical academic journal.* 2019; 19:34-5. DOI: 10.17816/MAJ191S134-35.
 32. Wang L., Fan S., Zhao Z., Xu Q. Change of Levels of NGF, ACTH, and AVP in the Cerebrospinal Fluid after Decompressive Craniectomy of Craniocerebral Injury and Their Relationship with Communicating Hydrocephalus. *Evid Based Complement. Alternat. Med.* 2021; 2021:519904. DOI: 10.1155/2021/519904.
 33. Tsukurova L.A. Neuroprotective approach to optimization of therapeutic and corrective measures in children with autism spectrum disorders. *Zhurnal nevrologii i psikiatrii.* 2018; 5(2): 51-6. DOI: 10.17116/jnevro20181185251. (in Russian)
 34. Pedre L.L., Fuentes N.P., Gonzalez L.A., McRae A., Sánchez T.S., Lescano L.B., González R.M. Nerve growth factor levels in Parkinson disease and experimental parkinsonian rats. *Brain research.* 2002; 952:122-7. DOI: 10.1016/S0006-8993(02)03222-5.
 35. Pentz R., Iulita M.F., Ducatenzeiler A., Videla L., Benejam B., Carmona-Iragui M. et al. Nerve growth factor (NGF) pathway biomarkers in Down syndrome prior to and after the onset of clinical Alzheimer's disease: A paired CSF and plasma study. *Alzheimers Dement.* 2021; 17(4):605-17. DOI: 10.1002/alz.12229.
 36. Turkmen B.A., Yazici E., Erdogan D.G., Suda M.A., Yazici A.B. BDNF, GDNF, NGF and Klotho levels and neurocognitive functions in acute term of schizophrenia. *BMC Psychiatry.* 2021; 21(1):562. DOI: 10.1186/s12888-021-03578-4.
 37. Malashenkova I.K., Ushakov V.L., Zakharova N.V., Krynsky S.A., Ogurtsov D.P., Hailov N.A. et al. Neuroimmune aspects of schizophrenia with expressed negative symptoms: new markers for diagnosing disease phenotypes. *Sovremennye tekhnologii v meditsine.* 2021; 6:24-35. DOI: 10.17691/stm2021.13.6.03. (in Russian)
 38. Sun Q., Tang D.-D., Yin E.-G., Wei L.-L., Chen P., Deng S.-P., Tu L.-L. Diagnostic Significance of Serum Levels of Nerve Growth Factor and Brain Derived Neurotrophic Factor in Diabetic Peripheral Neuropathy. *Med. Sci. Monit.* 2018; 24:5943-50. DOI: 10.12659/MSM.909449.
 39. Lin H., Huang H., Yu W., Zhang S., Zhang Y. Nerve growth factor regulates liver cancer cell polarity and motility. *Mol. Med. Rep.* 2021; 23(4):288. DOI: 10.3892/mmr.2021.11927.
 40. Bradshaw R.A., Pundavela J., Biarc J., Chalkley R.J., Burlingame A.L., Hondermarck H. NGF and ProNGF: Regulation of neuronal and neoplastic responses through receptor signaling. *Adv. Biol. Regul.* 2015; 58:16-27. DOI: 10.1016/j.jbior.2014.11.003.
 41. Bruno F., Arcuri D., Vozzo F., Malvaso A., Montesanto A., Maletta R. Expression and Signaling Pathways of Nerve Growth Factor (NGF) and Pro-NGF in Breast Cancer: A Systematic Review. *Curr. Oncol.* 2022 Oct 27; 29(11):8103-20. DOI: 10.3390/currncol29110640.
 42. Kumar A., Raza K., Nag T.C., Srivastava A., Sehgal R. Localization and hypersecretion of nerve growth factor in breast phyllodes tumors: Evidence from a preliminary study. *Cancer Rep. (Hoboken).* 2021; 4(1):e1300. DOI: 10.1002/cnr2.1300.
 43. Jiang J., Bai J., Qin T., Wang Z., Han L. NGF from pancreatic stellate cells induces pancreatic cancer proliferation and invasion by PI3K/AKT/GSK signal pathway. *J. Cell Mol. Med.* 2020; 24(10):5901-10. DOI: 10.1111/jcmm.15265.
 44. Wan C., Yan X., Hu B., Zhang X. Emerging Roles of the Nervous System in Gastrointestinal Cancer Development. *Cancers (Basel).* 2022; 14(15):3722. DOI: 10.3390/cancers14153722.
 45. Blondy S., Christou N., David V., Verdier M., Jauberteau M.-O., Mathonnet M., Perraud A. Neurotrophins and their involvement in digestive cancers. *Cell Death. Dis.* 2019; 10(2):123. DOI: 10.1038/s41419-019-1385-8.
 46. Griffin N., Gao F., Jobling P., Oldmeadow C., Wills V., Walker M.M., Faulkner S., Hondermarck H. The neurotrophic tyrosine kinase receptor 1 (TrkA) is overexpressed in oesophageal squamous cell carcinoma. *Pathology.* 2021; 53(4):470-7. DOI: 10.1016/j.pathol.2020.08.009.
 47. Vinnikov I.S., Volkhina I.V. NGF in oncology. [Sbornik nauchnykh trudov III Vserossiyskoy nauchno-prakticheskoy konferentsii s mezhdunarodnym uchastiem «Sovremennye dostizheniya khimiko-biologicheskikh nauk v profilakticheskoy i klinicheskoy meditsine»]. St. Petersburg; 2022:229-233. (in Russian)
 48. Yaman I., Çobanoğlu D. A., Xie T., Ye Y., Amit M. Advances in understanding cancer-associated neurogenesis and its implications on the neuroimmune axis in cancer. *Pharmacol. Ther.* 2022; 239:108199. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2022.108199.
 49. Song H., Wu T., Yang X., Li Y., Ye Y., Li B. et al. Surface Modification with NGF-Loaded Chitosan/Heparin Nanoparticles for Improving Biocompatibility of Cardiovascular Stent. *Stem. Cells Int.* 2021; 2021:9941143. DOI: 10.1155/2021/9941143.
 50. Liu C., Li X., Zhao Q., Xie Y., Yao X., Wang M., Cao F. Nanofibrous bicomponent scaffolds for the dual delivery of NGF and GDNF: controlled release of growth factors and their biological effects. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 2021; 32(1):9. DOI: 10.1007/s10856-020-06479-2.
 51. Wu Q., Xiang Z., Ying Y., Huang Z., Tu Y., Chen M. et al. Nerve growth factor (NGF) with hypoxia response elements loaded by adeno-associated virus (AAV) combined with neural stem cells improve the spinal cord injury recovery. *Cell Death. Discov.* 2021; 7(1):301. DOI: 10.1038/s41420-021-00701-y.
 52. Obeidat A.M., Donner A., Miller R.E. An update on targets for treating osteoarthritis pain: NGF and TRPV1. *Curr. Treatm. Opt. Rheumatol.* 2020; 6(3):129-45. DOI: 10.1007/s40674-020-00146-x.
 53. Wise B.L., Seidel M.F., Lane N.E. The evolution of nerve growth factor inhibition in clinical medicine. *Nat. Rev. Rheumatol.* 2021; 17(1):34-46. DOI: 10.1038/s41584-020-00528-4.
 54. Liu P., Li S., Tang L. Nerve Growth Factor: A Potential Therapeutic Target for Lung Diseases. *Int. J. Mol. Sci.* 2021; 22(17):9112. DOI: 10.3390/ijms22179112.
 55. Krüttgen A., Schneider I., Weis J. The dark side of the NGF family: neurotrophins in neoplasias. *Brain Pathol.* 2006;16(4):304-10. DOI: 10.1111/j.1750-3639.2006.00037.x.
 56. Molloy N.H., Read D.E., Gorman A.M. Nerve growth factor in cancer cell death and survival. *Cancers (Basel).* 2011; 3(1):10-30. DOI: 10.3390/cancers3010510.
 57. Warrington R.J., Lewis K.E. Natural antibodies against nerve growth factor inhibit in vitro prostate cancer cell metastasis. *Cancer Immunol. Immunother.* 2011; 60(2):187-95. DOI: 10.1007/s00262-010-0934-x.
 58. Sara S., Mohammad K., Nader S., Maryam I., Marzieh S., Elham J., Neda S. Using the NGF/IL-6 ratio as a reliable criterion to show the beneficial effects of progesterone after experimental diffuse brain injury. *Heliyon.* 2020; 6(4):e03844. DOI: 10.1016/j.heliyon.2020.

- e03844.
59. Bjorling D.E., Beckman M., Clayton M.K., Wang Z.Y. Modulation of nerve growth factor in peripheral organs by estrogen and progesterone. *Neuroscience*. 2002; 110(1):155-67. DOI: 10.1016/s0306-4522(01)00568-1.
 60. Zhao Y., Mao X., Wang H., Gan L., Zhang S., Gong P., Lin X. The influence of electronic acupuncture at a specific frequency in facilitating the passage of NGF through the blood-brain barrier and its effect on learning and memory in MCAO/R rats. *J. Integr. Neurosci.* 2022; 21(3):79. DOI: 10.31083/j.jin2103079.
 61. Obianyo O., Ye K. Novel small molecule activators of the Trk family of receptor tyrosine kinases. *Biochim. Biophys. Acta*. 2013; 1834(10):2213–8.
 62. Seredenin S.B., Gudasheva T.A. The development of a pharmacologically active low-molecular mimetic of the nerve growth factor. *Zhurnal nevrologii i psikiatrii im. S.S. Korsakova*. 2015; 115(6):63-70. DOI: 10.17116/jnevro20151156163-70. (in Russian)
 63. Delnietis I., Leidinger B. A 10-year follow-up of asymptomatic Charcot hip joints caused by CIPA syndrome (congenital insensitivity to pain with anhidrosis) with failure of any surgical reconstructive treatment. *J. Surg. Case Rep.* 2019; 2019(5):rjz154. DOI: 10.1093/jscr/rjz154.
 64. Minde J.K. Norrbottnian congenital insensitivity to pain. *Acta Orthop. Suppl.* 2006; 77(321):2-32.

ГЕМАТОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2023

Габрильчак А.И., Гусякова О.А., Халиулин А.В., Кузнецова О.Ю.

ОСОБЕННОСТИ МЕГАКАРИОЦИТОГРАММЫ КОСТНОГО МОЗГА ПРИ ПЕРВИЧНОЙ ИММУННОЙ ТРОМБОЦИТОПЕНИИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ВОЗРАСТА

ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, 443099, Самара, Россия

Приведены показатели миелограммы и мегакариоцитогаммы 236 человек с диагнозом первичная иммунная тромбоцитопения (ИТП) в возрастных группах от 0 до 90 лет. Диагноз ИТП остается сложным в виду отсутствия «золотого стандарта» диагностики, при этом исследование костного мозга проводится с целью исключения других гематологических заболеваний. При ИТП выявлено увеличение количества и задержка созревания мегакариоцитов в костном мозге, но у детей эти изменения носят более выраженный характер. У взрослых чаще встречаются инволютивные, пластинкообразующие и «голядерные» формы мегакариоцитов, а также явление эмпериполеза, что свидетельствует о лучшей активности и эффективности тромбоцитогенеза, но и признаки дисмегакариоцитопоза имеют более распространенный и выраженный характер. У детей с первичной ИТП 88% случаев изменений мегакариоцитогаммы характеризуются преобладанием незрелых и созревающих мегакариоцитов («детский» тип), у взрослых в половине случаев наблюдается увеличение «голядерных» и полихроматофильных форм с малым количеством или полным отсутствием пластинкообразующих мегакариоцитов («взрослый» тип) и в 20% - без изменений. Детские группы значимо различаются по показателям миелограммы и мегакариоцитарной формулы, а юношеский период детской группы показывает сходные значения со взрослыми.

Ключевые слова: первичная иммунная тромбоцитопения; миелограмма; мегакариоцит; возраст.

Для цитирования: Габрильчак А.И., Гусякова О.А., Халиулин А.В., Кузнецова О.Ю. Особенности мегакариоцитогаммы костного мозга при первичной иммунной тромбоцитопении в зависимости от возраста. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2023; 68 (6):341-348. DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2023-68-6-341-348>.

Для корреспонденции: Габрильчак Анастасия Ивановна, ассистент каф. фундаментальной и клинической биохимии с лабораторной диагностикой; e-mail: kaf_biohim@samsmu.ru

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Поступила 25.03.2023

Принята к печати 10.04.2023

Опубликовано 05.06.2023

Gabrilchak A.I., Gusyakova O.A., Khaliulin A.V., Kuznetsova O.Yu.

FEATURES OF BONE MARROW MEGAKARYOCYTOCYTOGRAM IN PRIMARY IMMUNE THROMBOCYTOPENIA DEPENDING ON AGE

Samara State Medical University, 443099, Samara, Russia

The parameters of myelogram and megakaryocytogram of 236 people diagnosed with immune thrombocytopenia in the age groups from 0 to 90 years were studied. The diagnostics of ITP remains difficult due to the lack of a "gold standard" for diagnosis; meanwhile bone marrow testing is performed to rule out other hematological disorders. In ITP, an increased number and delayed maturation of megakaryocytes in the bone marrow was revealed, but in children these changes are more pronounced. In adults, involutive, plate-forming, "holonuclear" forms of megakaryocytes and emperipoiesis are more common, which indicates better activity and efficiency of thrombocytogenesis, but signs of dysmegakaryocytopenia are more common and pronounced. In children with ITP, 88% of cases of megakaryocytogram changes are characterized by a predominance of immature and maturing megakaryocytes ("children's" type). In adults, in half of the cases there is an increase in "holonuclear" and polychromatophilic forms with a small number or complete absence of plate-forming megakaryocytes ("adult" type) and in 20% of cases - no changes. Children's groups differ significantly in terms of myelogram and megakaryocytic formula, and the adolescent period of the children's group shows similar values to adult ones.

Key words: primary immune thrombocytopenia; myelogram; megakaryocyte; age.

For citation: Gabrilchak A.I., Gusyakova O.A., Khaliulin A.V., Kuznetsova O.Yu. Features of bone marrow megakaryocytogram in primary immune thrombocytopenia depending on age. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2023; 68 (6): 341-348 (in Russ.) DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2023-68-6-341-348>.

For correspondence: Gabrilchak A.I., assistant of the chair of fundamental and clinical biochemistry with laboratory diagnostics; e-mail: kaf_biohim@samsmu.ru

Information about authors:

Gabrilchak A.I., <https://orcid.org/0000-0003-2474-3127>;

Gusyakova O.A., <https://orcid.org/0000-0002-5619-4583>;
Khaliulin A.V., <https://orcid.org/0000-0003-4689-8904>;
Kuznetsova O.Yu., <https://orcid.org/0000-0003-0842-859X>.

Conflict of interest. *The author declare no conflict of interest.*

Acknowledgment. *The study had no sponsor support.*

Received 25.03.2023

Accepted 10.04.2023

Published 05.06.2023

Иммунная тромбоцитопения (ИТП) относится к группе редких аутоиммунных заболеваний, обусловлена аномальным Т-клеточным ответом, который поддерживается фолликулярными CD4+Т-клетками селезенки, стимулирующими пролиферацию и дифференцировку аутореактивных В-лимфоцитов [1]. Происходит выработка антител к гликопротеинам мембраны тромбоцитов и/или мегакариоцитов, в результате тромбоциты становятся чувствительны к опсонизации и фагоцитозу макрофагами селезенки [2]. CD8+Т-клетки также участвуют в тромбоцитопении, усиливая апоптоз тромбоцитов [3].

Кроме периферического разрушения тромбоцитов, усугубить тромбоцитопению может неадекватное созревание клеток мегакариоцитарного ростка и неэффективное тромбоцитообразование в костном мозге из-за иммунного ответа против мегакариоцитов [4].

В настоящее время, диагностика ИТП сводится к тому, что описываемая нозология является «диагнозом исключения», при котором необходимо исключить тромбоцитопению, ассоциированную с лекарственными препаратами, диссеминированным внутрисосудистым свертыванием крови, дефицитом витаминов В₉ и В₁₂, врожденную тромбоцитопению, тромбоцитопению при портальной гипертензии и миелодиспластическом синдроме. Вторичный характер тромбоцитопения носит при инфекционных заболеваниях (вирус иммунодефицита человека, вирус гепатита С, вирус Эпштейна-Барр и др.), а также при системной красной волчанке, синдроме Эванса, синдроме Шегрена, антифосфолипидном синдроме, ряде опухолей кроветворной системы (неходжкинская лимфома, хронический лимфоцитарный лейкоз), патогенез которых основан на аутоиммунной агрессии против разнообразных антигенов, в том числе тромбоцитарных [5, 6]. Соответственно, для того, чтобы отвергнуть такой широкий пласт заболеваний при постановке диагноза ИТП, необходимы развернутые лабораторные и инструментальные исследования, в перечень которых входит, в том числе, исследование миелограммы. Морфологические изменения костного мозга при ИТП в основном ограничиваются мегакариоцитарным ростком. Как правило, наблюдается увеличение количества мегакариоцитов за счет созревающих форм, снижение пластинкообразующих и появление «голядерных» мегакариоцитов, хотя нередко картина костного мозга остается без изменений [7].

Иммунная тромбоцитопения встречается как в детском, так и во взрослом возрасте, с пиком заболеваемости в раннем детстве (1-3 года) и в пожилом периоде, причем в педиатрической группе встречается больше пациентов мужского пола, в то время как женщины

составляют большинство во взрослой группе [8]. Патогенетические механизмы развития ИТП у детей и у взрослых могут принципиально отличаться, о чем свидетельствует частота хронизации иммунной тромбоцитопении. Так, у большинства детей болезнь протекает в острой форме и самокупируется, у взрослых ИТП чаще является хроническим заболеванием [9].

Литературные данные, отражающие изменения основных показателей костного мозга при ИТП в зависимости от возраста ограничены, хотя многие исследования показывают, что с возрастом процесс кроветворения претерпевает значимые изменения, и гематологические заболевания у детей и взрослых развиваются по-разному [8, 9]. У взрослых выявлено, что количество Ki-67-позитивных клеток в среднем возрасте больше, чем в старшем (старше 80 лет), что отражает низкую пролиферативную активность костного мозга, которая сопровождается снижением клеточности костного мозга в старшей возрастной группе [10]. Количество макрофагов в костном мозге высокое в детском и подростковом возрасте, снижается у взрослых и пожилых людей, что приводит к уменьшению выработки факторов роста и цитокинов [11, 12]. Поэтому изучение и характеристика особенностей изменения мегакариоцитарного ростка при ИТП в зависимости от возраста может дать дополнительную информацию для более точной оценки течения патологического процесса, прогноза заболевания и своевременного выбора терапевтической тактики.

Цель настоящего исследования – изучение особенностей изменения показателей костного мозга у пациентов с первичной иммунной тромбоцитопенией в зависимости от возраста.

Материал и методы. Исследование является ретроспективным, проводилось на базе кафедры фундаментальной и клинической биохимии с лабораторной диагностикой ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава РФ. Материалом исследования служил костный мозг 236 человек в возрасте от 0 до 90 лет с клиническим диагнозом первичная иммунная тромбоцитопения (код МКБ-10 D69.3). В группу сравнения вошли 37 пациентов с диагнозом железодефицитная анемия с рефрактерным течением (код МКБ-10 D50.0), которым по диагностическим показаниям была произведена пункция костного мозга. Характеристика обследуемых групп приведена в табл.1. Все пациенты дали письменное информированное согласие на проведение исследования, которое было одобрено этическим комитетом (выписка из протокола № 202 заседания Комитета по биоэтике при Самарском государственном медицинском университете

от 09.10.2019 г.). Критериями включения были наличие изолированной тромбоцитопении ниже $100 \times 10^9/\text{л}$, отсутствие морфологических и функциональных аномалий тромбоцитов. Критериями исключения стали вторичный характер тромбоцитопении, ЭДТА-зависимая псевдотромбоцитопения, сочетание признаков

тромбоцитопении и анемии.

Аспирация костного мозга осуществлялась путем стерильной пункции у взрослых и трепанобиопсии подвздошной кости у детей. Мазки костного мозга были исследованы двумя морфологами. Осуществляли дифференцированный подсчет 500 клеток при увели

Таблица 1

Показатели миелограмм пациентов с первичной иммунной тромбоцитопенией у взрослых и детей (M±m)

Показатель	Дети ИТП (n=126)	Дети группа сравнения (n=17)	Взрослые ИТП (n=110)	Взрослые группа сравнения (n=20)
Возраст, годы	6±0,47	9±1,68	54±1,34	53±3,91
Соотношение мужчины/женщины	60/66	8/9	46/100	10/10
Бласты, %	1,01±0,07**	1,88±0,33	1,06±0,07	1,21±0,21
Промиелоциты, %	2,37±0,13	1,81±0,38	2,56±0,15	2,06±0,26
Миелоциты нейтрофильные, %	8,54±0,38*	11,36±1,89	16,16±0,64	14,54±1,28
Метамиелоциты нейтрофильные, %	8,19±0,32**	5,38±0,59	9,69±0,44	8,81±1,03
Палочкоядерные нейтрофилы, %	8,62±0,32***	3,6±0,39	7,91±0,31	9,0±0,95
Сегментоядерные нейтрофилы, %	18,97±0,57***	30,52±2,67	21,15±0,81	19,10±1,67
Сумма нейтрофильных элементов, %	46,70±0,95*	52,68±3,0	57,49±0,99	53,52±2,98
Миелоциты эозинофильные, %	0,88±0,08*	0,44±0,09	1,24±0,08	0,86±0,15
Метамиелоциты эозинофильные, %	0,42±0,04	0,54±0,13	0,44±0,04	0,58±0,13
Эозинофилы зрелые, %	1,90±0,15	2,20±0,42	1,44±0,09	1,49±0,20
Сумма эозинофильных элементов, %	3,21±0,18	3,19±0,59	3,13±0,15	2,94±0,38
Базофилы, %	0,09±0,02	0,02±0,02	0,21±0,03	0,21±0,07
Лимфоциты, %	23,65±0,82**	17,05±3,23	13,35±0,47*	9,93±1,43
Моноциты, %	3,57±0,15	2,95±0,44	2,72±0,18	2,38±0,32
Плазмоциты, %	0,13±0,03	0,03±0,25	1,19±0,08	1,08±0,19
Проэритробласты, %	0,33±0,05	0,12±0,08	0,29±0,04	0,28±0,06
Эритробласты базофильные, %	2,97±0,22*	4,47±0,96	4,59±0,40	5,68±1,34
Эритробласты полихроматофильные, %	15,38±0,55	15,39±2,32	10,92±0,60	13,77±2,04
Эритробласты оксифильные, %	2,73±0,23	1,88±0,35	4,56±0,32**	7,29±1,41
Эритробластические элементы (сумм.), %	21,45±0,60	21,88±2,98	20,41±0,97*	27,46±3,69
Лейко-эритробластическое соотношение	4,42±0,31	8,45±3,94	5,34±0,37	3,81±0,55
Индекс созревания нейтрофилов	0,75±0,03	0,69±0,17	1,07±0,05	1,07±0,15
Индекс созревания эритрокариоцитов	0,84±0,01	0,77±0,04	0,77±0,01	0,79±0,03

Примечание. * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$.

чений в 1000 раз. Анализ мегакариоцитарной формулы с выделением нормальных и патологических форм мегакариоцитов осуществлялся согласно предыдущим исследованиям [13].

Все пациенты были разделены на группы детей и взрослых [14]. 1-ю группу составили пациенты от 10 дней до юношеского возраста. 2-я группа включала в себя мужчин от 22 до 90 лет и женщин от 21 года до 90 лет. В дальнейшем группа детей была разделена на 6 подгрупп: грудной возраст – дети в возрасте от 10 дней до года; раннее детство – 1-3 года; первое детство – 4-7 лет; второе детство – мальчики от 8 до 12 лет и девочки от 8 до 11 лет; подростковый возраст – мальчики от 13 до 16 лет и девочки от 12 до 16 лет; юношеский возраст – юноши 17-21 лет, девушки 17-20 лет; а группа взрос-

лых – на 4 подгруппы: первый период зрелости – мужчины 22-35 лет и женщины от 21-35 лет; второй период зрелости – мужчины 36-60 лет и женщины 36-55 лет; пожилой возраст – мужчины 61-74 года и женщины 56-74 года; старческий возраст – от 75 лет и до 90 лет [14].

Статистический анализ. Для определения типа распределения данных использовали критерий Колмогорова-Смирнова и показатели асимметрии и эксцесса. Статистические параметры представлены в виде средней арифметической и стандартной ошибкой средней (M±m) для данных с нормальным распределением, а также медианными значениями и межквартильными диапазонами (Me[25%;75%]) в случаях распределения данных, отличных от нормального. Сравнение показателей между двумя группами было выполнено

с помощью t-критерия Стьюдента и теста Манна–Уитни, достоверность различий по частоте встречаемости признака рассчитана с помощью χ^2 -критерия Пирсона с поправкой Йейтса, сравнение шести групп производили с помощью теста Краскелла–Уоллиса. Различия считались статистически значимыми при значении p менее 0,05. Статистическая обработка данных производилась в программе MedCalc версия 20.009.

Результаты и обсуждение. Распределение показателей миелограммы взрослых и детей с первичной ИТП относительно группы сравнения приведено в табл. 1.

В целом морфологическая характеристика большинства ростков костномозгового кроветворения у взрослых пациентов с первичной ИТП изменена мало.

Клеточность пунктатов сохраняется на достаточном уровне, гранулоцитарный росток сохранен, созревание нейтрофилов не изменено, отмечается небольшая тенденция к увеличению созревающих форм нейтрофилов, что также прослеживается и в эозинофильном ростке, и находит отражение в более высоком значении индекса созревания нейтрофилов, моноцитарный росток имеет направленность к расширению. Однако эти изменения находятся в пределах референсных величин [15], определенных для данной возрастной группы, и вероятность достоверности различий этих показателей слишком мала.

Значимым оказывается изменение уровня лимфоцитов. Так, их количество у взрослых с первичной ИТП оставляет $13,35 \pm 0,47$, что выше, чем в группе сравне-

Таблица 2

Распределение типов мегакариоцитогамм у пациентов с первичной иммунной тромбоцитопенией у взрослых и детей (Ме [25%, 75%])

Показатель		Дети ИТП (n=126)	Дети группа сравнения (n=17)	Взрослые ИТП (n=110)	Взрослые группа сравнения (n=20)
Всего мегакарицитов на 250 п/зр		71,00*** [45,5–120,0]	20,0 [8,0-29,5]	37,0* [17,0–61,0]	21,0 [10,0–33,0]
Незрелые мегакарициты, %		1,0 [0,0–2,0]	0,0 [0,0-1,25]	2,0 [0,0–5,0]	1,0 [0,25–2,0]
Мегакарициты базофильные, %		41,0*** [29,5–50,5]	13,0 [7,75-21,8]	9,0** [5,0–18,5]	6,0 [2,0–8,0]
Мегакарициты полихроматофильные, %		37,0 [30,0–45,0]	39,0 [32,7-49,0]	40,0*** [32,5–48,0]	53,0 [42,0–61,0]
Мегакарициты оксифильные, %		12,0*** [7,0–17,5]	32,0 [22,0-35,7]	15,0*** [9,0–23,5]	28,0 [22,0–45,0]
Инволютивные формы, %	Ме [25%, 75%]	1,0*** [0,0–2,0]	3,0 [2,0-5,0]	2,0* [1,0–4,0]	1,0 [0,0-3,0]
	Частота встречаемости	56,0%**	94,0%	78,0%*	53,0%
Голоядерные, %		3,0** [1,0–6,0]	7,0 [3,5-10,5]	21,0*** [11,5–28,5]	8,0 [6,0-11,0]
Дегенеративные, %	Ме [25%, 75%]	1,0 [0,0–2,0]	0,0 [0,0-1,5]	1,0 [0,0–3,0]	1,0 [0,0-1,0]
	Частота встречаемости	60,0%	70,0%	58,0%	58,0%
Эмпериполез, %	Ме [25%, 75%]	2,0 [1,0–4,0]	1,0 [0,0-3,5]	3,0** [2,0–6,0]	2,0 [0,0-3,0]
	Частота встречаемости	87,0%**	59,0%	90,0%*	68,0%
Микро-мегакарициты, %	Ме [25%, 75%]	2,0*** [1,0–5,0]	0,0 [0,0-1,0]	4,00*** [1,00–8,00]	0,0 [0,0-0,0]
	Частота встречаемости	78,0%***	54,0%	83,0%***	5,0%
Гипогранулярные мегакарициты, %		62,0*** [53,75-70,0]	6,0 [4,0-9,5]	27,0*** [19,0-37,0]	8,0 [7,0-13,75]
Мегакарициты с множеством ядер, %	Ме [5%, 95%]	0,0** [0,0-1,0]	0,0 [0,0-5,9]	0,0 [0,0-4,0]	0,0 [0,0-1,1]
	Частота встречаемости	6,0%**	41,0%	15,0%	5,0%
Пластинкообразующие формы, %		4,0*** [2,0–8,0]	28,0 [21,2-37,2]	8,0*** [3,0–17,0]	41,0 [32,0-63,0]
Пластинкосодержащие формы, %		23,0*** [16,0–30,0]	42,0 [21,5-61,2]	30,0 [22,0–38,0]	34,0 [21,0-44,0]
Индекс созревания мегакарицитов		0,88*** [0,5–1,2]	0,22 [0,09-0,26]	0,22*** [0,10–0,43]	0,09 [0,02-0,14]

Примечание. * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$.

ния ($p<0,05$) и вероятно связано с самим механизмом развития этого заболевания. При ИТП часто происходит выработка аутоантител к разным рецепторам мембраны тромбоцитов и мегакариоцитов. Формирование иммунной реакции на собственные тромбоциты процесс многоступенчатый, в котором принимают участие многие субпопуляции лимфоцитов. В результате развивается дисбаланс между ними, что видимо, нашло отражение в увеличении количества лимфоцитов в костном мозге у пациентов с ИТП [16].

Другие изменения касаются эритроидного ростка. Обращает на себя внимание более высокий уровень суммарного количества эритробластов в группе сравнения, и соответственно более низкое лейко-эритробластическое соотношение. Достоверно увеличено количество оксифильных эритробластов ($p<0,05$) в группе сравнения, при этом индекс созревания эритрокариоцитов практически не отличается в двух сравниваемых группах. Таким образом, в миелограммах груп-

пы сравнения выявляется расширение эритроидного ростка без задержки созревания и гемоглобинообразования. Все описанные изменения эритроидного ростка касаются группы сравнения, которую составили пациенты с железодефицитной анемией, соответственно в исследуемой группе с ИТП показатели эритроидного ростка находятся в пределах референсных величин.

У детей с первичной ИТП обнаружено увеличение количества лимфоцитов - $23,65\pm 0,82$ ($p<0,01$) и выявляются изменения в нейтрофильном ростке. Количество метамиелоцитов ($p<0,01$) и палочкоядерных нейтрофилов ($p<0,001$) выше, а уровни миелоцитов ($p<0,05$) и сегментоядерных нейтрофилов ($p<0,001$) ниже. Суммарно количество нейтрофилов ниже ($p<0,05$), чем в группе сравнения, но созревание нейтрофильного ростка остается без изменений. Подобные сдвиги количества популяций нейтрофилов и лимфоцитов объясняются физиологическим «перекрестом», который происходит к 5-6 годам [17].

Таблица 3

Парциальная мегакариоцитограмма у здоровых людей

Показатель	Взрослые (цит. Г. И. Алексеев [19])	Дети в возрасте 5 мес -3,5 лет (цит. Ю.Е. Малаховский [20])
Всего мегакариоцитов на 250 п/зр	5-12	-
Мегакариобласт, %	2-6	$1,7\pm 0,26$
Промегакариоцит, %	-	$1,0\pm 0,18$
Мегакариоциты базофильные, %	4-8	$5,8\pm 0,41$
Мегакариоциты полихроматофильные, %	42,6-65	$40,8\pm 1,02$
Мегакариоциты оксифильные, %	8,3-19	$35,5\pm 1,07$
Инволютивные формы, %	3,6-9,2	$4,5\pm 0,38$
Свободные ядра, %	6,0-13,2	$5,7\pm 0,46$
Дегенеративные, %	3,5-7,8	-
Пластинкообразующие формы, %	8-20 [21]	-
Пластинкосодежащие формы, %	$43,1\pm 2,45$ [22]	-

Характеристика мегакариоцитарного ростка взрослых и детей с первичной ИТП приведена в табл. 2. Медианные уровни абсолютного количества мегакариоцитов увеличены относительно группы сравнения в 1,9 раза у взрослых (Ме 37,0, $p<0,05$) и в 3,6 раза у детей (Ме 71,0, $p<0,001$).

Субпопуляции мегакариоцитов у детей и взрослых с первичной ИТП распределились следующим образом: у детей преобладающей субпопуляцией стали базофильные мегакариоциты (медиана составила 41,0% у детей и 9,0% у взрослых соответственно, $p<0,01$), у взрослых преобладают более зрелые формы мегакариоцитов - полихроматофильные, хотя относительно группы сравнения полихроматофильные и оксифильные формы снижены ($p<0,001$). Таким образом, задержка созревания мегакариоцитов при первичной ИТП наблюдается в группах детей и взрослых, но у детей задержка созревания имеет более выраженный характер, что отражено и в индексе созревания мегакариоцитов (ИСМ). ИСМ имеет более высокое значение у детей - 0,88, а у взрослых - 0,22 ($p<0,001$). Ре-

ференсные значения показателей мегакариоцитарной формулы - в табл. 3.

По-разному распределилось наличие и измененных форм мегакариоцитов при первичной ИТП. Так, у взрослых чаще появляются инволютивные формы мегакариоцитов: частота встречаемости составила 78% у взрослых и соответственно 56% у детей. При этом по общему их содержанию (от всех 100% мегакариоцитов) различия небольшие: медиана количества инволютивных форм у детей - 1,0%, что ниже относительно группы сравнения ($p<0,001$), а у взрослых - 2,0%, что выше, чем в группе сравнения ($p<0,05$). Инволютивные формы образуются как следствие вызревания мегакариоцитов, в дальнейшем происходит постепенная эксклюзия цитоплазмы и ядра в процессе образования тромбоцитов [18]. Чаще у взрослых встречаются голоядерные формы мегакариоцитов, медианное значение увеличено в 2,6 раза (Ме 21,0, $p<0,001$), а у детей снижено в 2,3 раза (Ме 3,0, $p<0,01$). Голоядерные формы формируются двумя путями. Первый путь связан с тем, что из инволютивных форм, в

результате полной эксклюзии цитоплазмы клетки, происходит «оголение» ядра мегакариоцита. Вторым путем формирования «голоядерных» форм ассоциирован с быстрым расходом цитоплазмы на образование тромбоцитов [18]. Морфологически эти формы отличаются друг от друга тем, что во втором случае ядра мегакариоцитов имеют небольшие остатки цитоплазмы. При внимательном изучении голоядерных форм мы не выявили преобладания какой-либо из них, в равной степени встречались ядра мегакариоцитов с остатками цитоплазмы так и с полным ее отсутствием. Таким образом, у большинства взрослых пациентов с первичной ИТП процесс тромбоцитобразования сохранен, тогда как у большинства детей, по всей видимости, угнетен.

Частота встречаемости явления эмпериполеза у детей и у взрослых примерно одинаковая. Природа и значение указанного феномена остаются до конца неизученными. Недавние данные демонстрируют, что эмпериполез представляет собой отдельную форму межклеточного взаимодействия. Нейтрофилы попадают в вакуоль, называемую эмперисомой, которая затем высвобождает их непосредственно в цитоплазму мегакариоцитов. В дальнейшем они сливаются с системой демаркационных мембран, и происходит обмен участками мембраны с формирующимися тромбоцитами, что повышает эффективность тромбоцитогенеза [23,24]. У взрослых с ИТП количество мегакариоцитов с явлением эмпериполеза более высокое ($p < 0,01$), что может указывать на лучшую эффективность тромбоцитогенеза.

Патологические формы мегакариоцитов, такие как микромегакариоциты, формы с множеством ядер, гипогранулярные мегакариоциты присутствуют как у

взрослых с первичной ИТП, так и у детей. Известно, что по рекомендациям ВОЗ критерием для описания диспоэза ростка считается превышение 10% рубежа присутствия патологических форм от общего числа клеток описываемого ростка [25]. Медиана количества микромегакариоцитов не достигает 10% рубежа (у взрослых $Me = 4,0\%$, у детей $Me = 2,0\%$), но выше, чем в группах сравнения ($p < 0,001$). В тоже время встречались пациенты, у которых микроформ было больше 10%: так, среди взрослых выявлен 31 случай из 146 обследованных (21,2%), среди детей 12 случаев из 126 (9,5%). Количество гипогранулярных форм мегакариоцитов значительно выше в детской группе (у детей медиана составила – 62,0%, у взрослых – 27,0%, $p < 0,001$). Таким образом, можно заключить, что у взрослых дисмегакариоцитопоз имеет более частый и выраженный характер, что, вероятно, находит отражение в большей распространенности хронического течения ИТП.

Количество пластинкообразующих мегакариоцитов у пациентов с первичной ИТП достоверно ниже относительно группы сравнения ($p < 0,001$), у детей медианное значение более низкое, чем у взрослых (Me у детей 4,0, Me у взрослых 8,0). Пластинкосодеждающие формы снижены у детей ($p < 0,001$) и не изменены у взрослых. Таким образом, у пациентов с первичной ИТП отмечается снижение активности тромбоцитобразования, которое у детей имеет более выраженный характер.

В результате анализа показателей мегакариоцитарной формулы, мы объединили изменения мегакариоцитограмм в два типичных варианта. 1-й тип мегакариоцитограммы отличается преобладанием незрелых и созревающих форм мегакариоцитов

Таблица 4

Распределение типов мегакариоцитограмм у пациентов с иммунной тромбоцитопенией взрослого и детского населения

Тип мегакариоцитограммы	Дети (n=126)	Взрослые (n=146)	Отличие, p
1 тип	111 (88,0%)	44 (30,3%)	<0,0001
2 тип	3 (2,4%)	71 (48,6%)	
Без изменений	12 (9,6%)	31 (21,1%)	

областов, промегакариоцитов, базофильных мегакариоцитов), 2-й тип характеризуется увеличением «голоядерных» и полихроматофильных форм с малым количеством или полным отсутствием пластинкообразующих мегакариоцитов. Среди всех пациентов с ИТП 1-й тип мегакариоцитограммы встречался в 25,7% случаев, 2-й тип - у 54,1% исследуемых, в то же время мегакариоцитограммы без значительных изменений составили приблизительно пятую часть всех обследуемых пациентов с первичной ИТП (20,2%).

Мы провели изучение влияния нескольких факторов на распределение типов мегакариоцитограмм, такие как характер течения, выраженность клинических проявлений, пол и возраст, и значимые различия продемонстрировал только возрастной фактор (табл. 4). У детей в 88% случаев встречается 1-й тип мегакариоцитограммы, у взрослых в 48,6% случаев 2-й тип и в 21,1% мегакариоцитарные формулы без отклонений

($p < 0,0001$). Таким образом, 1-й тип мегакариоцитограммы можно охарактеризовать как «детский тип», а 2-й тип – как «взрослый тип».

Простой градации на детский и взрослый возраст зачастую недостаточно для определения характеристики процессов, происходящих в разных возрастных рамках, как в состоянии физиологической нормы, так и при развитии патологических процессов. Необходимо подробнее рассмотреть каждую группу детей и взрослых. Так, при первичной ИТП наиболее «раздражен» мегакариоцитарный росток в грудном возрасте, здесь количество мегакариоцитов составило максимальное значение – медиана 225,5 на 250 полей зрения ($p < 0,05$).

С увеличением возраста наблюдается снижение количества мегакариоцитов в костном мозге (табл. 5). Также отмечены изменения в созревании клеток мегакариоцитарного ростка: количество базофильных

Таблица 5

Показатели мегакариоцитогрaмм возрастных групп детей с первичной иммунной тромбоцитопенией (Me [25%, 75%])

Показатель	Грудной возраст (n=14)	Раннее детство (n=46)	Первое детство (n=28)	Второе детство (n=20)	Подростково-взрослый возраст (n=9)	Юношеский возраст (n=9)	p k-w
Всего мегакариоцитов на 250 п/зр	225,50 [90,0–430,0]*	74,50 [50,75–121,5]	70,00 [50,75–91,5]	46,00 [28,0–94,75]	45,00 [26,25–100,5]	57,00 [14,5–75,25]	0,056
Незрелые мегакариоциты, %	1,00 [0,00–2,00]	1,00 [0,00–2,00]	1,00 [1,00–2,50]	1,00 [0,00–3,00]	1,00 [0,00–2,00]	2,00 [0,50–3,00]	0,847
Мегакариоциты базофильные, %	39,50 [26,25–56,5]	41,50 [37,0–51,75]	40,50 [30,75–49,5]	41,50 [27,0–49,25]	24,00 [18,00–39,0]*	12,00 [2,5–24,25]***	0,001
Мегакариоциты полихроматофильные, %	41,00 [36,25–45,7]	36,00 [29,25–43,0]	37,50 [27,0–46,25]	39,00 [34,25–51,2]	43,50 [39,0–52,00]	44,50 [35,0–50,00]	0,135
Мегакариоциты оксифильные, %	9,00 [4,25–15,25]	12,00 [7,25–17,75]	13,50 [6,75–19,5]	10,50 [5,5–19,75]	15,00 [5,50–21,50]	12,50 [7,00–26,75]	0,939
Инволютивные формы, %	2,00 [0,25–5,25]	1,00 [0,00–1,75]	0,00 [0,00–2,00]	0,00 [0,00–1,00]	2,50 [0,75–4,25]	2,50 [0,00–4,75]	0,084
Голоядерные, %	3,00 [0,25–6,50]	3,50 [2,00–5,00]	2,00 [1,00–5,25]	3,00 [1,00–5,00]	7,00 [0,75–12,00]	17,50 [14,75–32,0]**	0,006
Дегенеративные, %	0,50 [0,00–1,75]	1,00 [0,00–2,75]	1,00 [0,00–2,25]	0,00 [0,00–1,00]	1,00 [0,00–2,50]	1,00 [0,00–2,75]	0,216
Эмпириоплезис, %	2,00 [1,25–2,75]	3,00 [1,00–4,00]	4,00 [2,00–6,00]	2,00 [1,00–4,00]	3,00 [0,75–4,25]	3,00 [0,25–3,75]	0,457
Микромегакариоциты, %	8,00 [2,5–27,75]	3,00 [1,00–5,75]	1,00 [0,00–2,25]	2,50 [1,00–5,00]	2,50 [1,50–5,00]	1,50 [0,00–7,25]	0,101
Мегакариоциты с множественностью ядер, %	0,00 [0,00–0,00]	0,00 [0,00–0,00]	0,00 [0,00–0,00]	0,00 [0,00–0,00]	0,00 [0,0–1,00]	0,00 [0,00–0,00]	0,053
Индекс созревания мегакариоцитов	0,84 [0,50–1,45]	0,91 [0,66–1,20]	0,90 [0,48–1,22]	0,88 [0,39–1,15]	0,44 [0,30–0,77]	0,26 [0,07–0,5]**	0,004

Примечание. * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$.

мегакариоцитов с грудного возраста и до 12 лет находится на высоком уровне, составляя около 40% от всех форм мегакариоцитов. Далее их количество начинает снижаться и в период юношества медиана достигает 12% ($p < 0,001$). Соответственно, такие колебания сопряжены с индексом созревания мегакариоцитов и с увеличением возраста наблюдается снижение степени задержки созревания мегакариоцитарного ростка. Также достоверные различия выявлены в количестве «голядерных» форм мегакариоцитов: увеличение уровня этих форм отмечается в группе юношеского периода. Если во всех возрастных группах медиана варьировала от 2,0% до 7,0%, то к 20 годам составила 17,5% голядерных форм (при $p < 0,01$), что свидетельствует об увеличении интенсивности тромбоцитобразования в этой группе детей. Таким образом, у детей с первичной ИТП возрастной фактор оказывает существенное влияние на показатели мегакариоцитогрaммы.

Группы взрослых с первичной иммунной тромбоцитопенией, разделенные на 4 возрастные группы, не дали достоверных различий ни по показателям миелограммы, ни по мегакариоцитарной формуле.

Заключение. Таким образом, диагноз иммунная тромбоцитопения остается сложным в виду отсутствия «золотого стандарта» диагностики, при этом исследование костного мозга проводится с целью исключения

других гематологических заболеваний. Согласно литературным данным, диагностическими критериями, при исследовании миелограммы, являются повышенное или нормальное количество МГКЦ, их нормальные или крупные формы без морфологических аномалий [7]. Нами показано, что встречаются пациенты с первичной ИТП, у которых количество мегакариоцитов с признаками диспоза больше 10%: у взрослых в 21,2% и у детей в 9,5% случаев. Данная особенность требует от врачей клинической лабораторной диагностики более детальной характеристики мегакариоцитарного ростка при исследовании миелограммы, особенно в ситуациях изолированной тромбоцитопении при расширении мегакариоцитарного ростка при исследовании костного мозга с целью исключения унилинейной формы миелодиспластического синдрома.

Возрастной фактор оказывает существенное влияние на показатели миелограммы и мегакариоцитогрaммы, что объясняется особенностями морфологических и функциональных свойств организма отдельных возрастных групп. У детей с иммунной тромбоцитопенией 88% случаев изменений мегакариоцитогрaммы характеризуются преобладанием незрелых и созревающих мегакариоцитов («детский» тип), у взрослых в половине случаев наблюдается увеличение «голядерных» и полихроматофильных форм с малым количеством или полным отсутствием пластинкообразующих мегакари-

оцитов («взрослый» тип) и в 20% случаев - без изменений. Показаны различия в ответе костного мозга на аутоиммунную агрессию в разных возрастных группах, отмечены статистически значимые различия в характеристике тромбоцитопоза «внутри» детской группы. Установлено, что юношеский период показывает сходные значения со взрослыми. Такие возрастные различия могут повлиять на диагностику иммунной тромбоцитопении, особенно в группе подростков, что необходимо учитывать врачам клинической лабораторной диагностики при морфологическом исследовании костного мозга.

ЛИТЕРАТУРА (п.п. 1-6, 8-12, 16-18, 23, 24 с.м. REFERENCES)

7. Меликян А.Л., Пустовая Е.И., Цветаева Н.В., Птушкин В.В., Грицаев С.В., Голеньков А.К. и др. Национальные клинические рекомендации по диагностике и лечению идиопатической тромбоцитопенической пурпуры (первичной иммунной тромбоцитопении) у взрослых (редакция 2016 г.). *Гематология и трансфузиология*. 2017; 62(1) (прил.1): 1-60.
13. Габрильчак А.И. Диагностическое значение показателей тромбоцитов и мегакариоцитарной формулы костного мозга при идиопатической тромбоцитопенической пурпуре. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2021; 66(12): 739-46.
14. Аллаhverдов В.М., Богданова С.И., Вансовская Л.И. Возрастные периоды развития человека. В кн.: Психология. Крылов А.А., ред. М.: Проспект; 2005: 201-18.
15. Соколов В.В., Грибова И.А. Гематологические показатели здорового человека. М.: Медицина; 1972.
19. Алексеев Г.И. Об оценке тромбоцитопоэтической функции костного мозга. *Проблемы гематологии и переливания крови*. 1959; 6: 33-9.
20. Малаховский Ю.Е. Мегакариоцитогрaмма у здоровых детей раннего возраста. *Лабораторное дело*. 1964; 12: 729-33.
21. Золотницкая Р.П. Мегакариоциты. В кн.: Справочник по клиническим лабораторным методам исследования. Кост Е.А., ред. М.: Медицина; 1975: 150-3.
22. Золотницкая Р.П. Показатели функционального состояния мегакариоцитов у здоровых людей. *Лабораторное дело*. 1967; 5: 271-3.
25. Савченко В.Г., Паровичникова Е.Н., Кохно А.В., Семочкин С.В., Афанасьев Б.В., Морозова Е.В. и др. Национальные клинические рекомендации по диагностике и лечению миелодиспластических синдромов взрослых. *Гематология и трансфузиология*. 2016; 61(4) (1S): 1-32.

REFERENCES

1. Zufferey A., Kapur R., Semple J.W. Pathogenesis and therapeutic mechanisms in immune thrombocytopenia (ITP). *Journal of Clinical Medicine*. 2017; 6(2): 16. DOI: 10.3390/jcm6020016.
2. Lev P., Goette N., Marta R. Pathophysiological mechanisms leading to low platelet count in immune thrombocytopenia. *Journal of Immunological Sciences*. 2020; 4: 1-7. DOI: 10.29245/2578-3009/2020.2.1185.
3. Gaman M.A., Gaman A.M. Pathophysiology, Diagnosis and treatment of immune thrombocytopenia. *International Journal of Medical Students*. 2017; 5: 32-6. DOI: 10.5195/ijms.2017.171.
4. Iraqi M., Perdomo J., Yan F., Choi P.Y., Chong B.H. Immune thrombocytopenia: antiplatelet autoantibodies inhibit proplatelet formation by megakaryocytes and impair platelet production *in vitro*. *Haematologica*. 2015; 100: 623-32. DOI: 10.3324/haematol.2014.115634.
5. Audia S., Mahevas M., Samson M., Godeau B., Bonnotte B. Pathogenesis of immune thrombocytopenia. *Autoimmunity Reviews*. 2017; 16: 620-32. DOI: 10.1016/j.autrev.2017.04.012.

6. Consolini R., Legitimo A., Caparelo M.C. The Centenary of immune thrombocytopenia—part 1: revising nomenclature and pathogenesis. *Frontiers in Pediatrics*. 2016; 4: 102. DOI: 10.3389/fped.2016.00102.
7. Melikyan A.L., Pustovaya E.I., Tsvetaeva N.V., Ptushkin V.V., Gritsaev S.V., Golenkov A.K. et al. National clinical recommendations for the diagnosis and therapy of idiopathic thrombocytopenic purpura (primary immune thrombocytopenia) in adults (2016). *Gematologiya i transfuziologiya*. 2017; 62(1) (suppl.1): 1-60. (in Russian)
8. Kuhne T., Berchtold W., Michaels L.A., Wu R., Donato H., Espina B. et al. Newly diagnosed immune thrombocytopenia in children and adults, a comparative prospective observational registry of the Intercontinental Cooperative Immune Thrombocytopenia Study Group. *Haematologica*. 2011; 96(12): 1831-7. DOI: 10.3324/haematol.2011.050799.
9. Schulze H., Gaedicke G. Immune thrombocytopenia in children and adults: what's the same, what's different? *Haematologica*. 2011; 96(12): 1739-41. DOI: 10.3324/haematol.2011.055830.
10. Ogawa T., Kitagawa M., Hirokawa K. Age-related changes of human bone marrow: A histometric estimation of proliferative cells, apoptotic cells, T cells, B cells and macrophages. *Mechanisms of Ageing and Development*. 2000; 117: 57-68. DOI: 10.1016/S0047-6374(00)00137-8.
11. Kelley K.W., Arkins S., Minshall C., Liu Q., Dantzer R. Growth hormone, growth factors and hematopoiesis. *Hormone Research in Pediatrics*. 1996; 45(1-2): 38-45. DOI: 10.1159/000184757.
12. Minshall C., Arkins S., Straza J., Conners J., Dantzer R., Freund G.G. et al. IL-4 and insulin-like growth factor-I inhibit the decline in Bcl-2 and promote the survival of IL-3-deprived myeloid progenitors. *Journal of Immunology*. 1997; 159(3): 1225-32.
13. Gabril'chak A.I. Diagnostic value of platelet parameters and megakaryocyte formula of bone marrow in idiopathic thrombocytopenic purpura. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2021; 66(12): 739-46. (in Russian)
14. Allakhverdiv V.M., Bogdanova S.I., Vansovskaya L.I. Age periods of human development. In: *Psikhologiya*. Krylov A.A., ed. Moscow: Prospekt; 2005: 201-18. (in Russian)
15. Sokolov V.V., Gribova I.A. Hematological parameters of a healthy person. Moscow: Meditsina; 1972. (in Russian)
16. Hu Y., Li Haiyan, Zhang L., Shan B., Xu X., Li Hong et al. Elevated profiles of Th22 cells and correlations with Th17 cells in patients with immune thrombocytopenia. *Human Immunology*. 2012; 73(6): 629-35. DOI: 10.1016/j.humimm.2012.04.015.
17. Nandakumar S.K., Ulirsch J.C., Sankaran V.G. Advances in understanding erythropoiesis: evolving perspectives. *British Journal of Haematology*. 2016; 173(2): 206-18. DOI: 10.1111/bjh.13938.
18. Roweth H.G., Parvin S., Machlus K.R. Megakaryocyte modification of platelets in thrombocytopenia. *Current Opinion in Hematology*. 2018; 25(5): 410-4. DOI: 10.1097/MOH.0000000000000451.
19. Alekseev G.I. Evaluation of the thrombocytopoietic function of the bone marrow. *Problemy gematologii i perelivaniya krovi*. 1959; 6: 33-9. (in Russian)
20. Malakhovskiy Yu.E. Megakaryocytogram in healthy young children. *Laboratornoe delo*. 1964; 12: 729-33. (in Russian)
21. Zolotnitskaya R.P. Megakaryocytes. In book: *Spravochnik po klinicheskim laboratornym metodam issledovaniya*. Kost E.A., ed. Moscow: Meditsina; 1975: 150-3. (in Russian)
22. Zolotnitskaya R.P. Parameters of the functional state of megakaryocytes in healthy people. *Laboratornoe delo*. 1967; 5: 271-3. (in Russian)
23. Cunin P., Nigrovic P.A. Megakaryocyte emperipoiesis: a new frontier in cell-in-cell interaction. *Platelets*. 2020; 31(6): 700-6. DOI: 10.1080/09537104.2019.1693035.
24. Cunin P., Bouslama R., Machlus K.R., Martínez-Bonet M., Lee P.Y., Wactor A. et al. Megakaryocyte emperipoiesis mediates membrane transfer from intracytoplasmic neutrophils to platelets. *Elife*. 2019; 8: e44031. DOI: 10.7554/eLife.44031.
25. Savchenko V.G., Parovichnikova E.N., Kokhno A.V., Semochkin S.V., Afanas'ev B.V., Morozova E.V. et al. National clinical recommendations for the diagnosis and treatment of myelodysplastic syndromes in adults. *Gematologiya i transfuziologiya*. 2016; 61 (4) (Suppl.1): 1-32. (in Russian)

ИММУНОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2023

Ащина Л.А.¹, Баранова Н.И.¹, Лесина О. Н.¹, Болгова А.И.^{1,2}

ПОКАЗАТЕЛИ ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНТНОГО АНАЛИЗА НЕЙТРОФИЛОВ У БОЛЬНЫХ COVID-19

¹Пензенский институт усовершенствования врачей - филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава РФ, 440060, Пенза, Россия;

²ГБУЗ «Пензенский областной клинический центр специализированных видов медицинской помощи», 440052, Пенза, Россия

Вирусная инфекция COVID-19 оказалась серьезным вызовом для общественного здравоохранения. Показано, что важное значение в патогенезе данного заболевания имеют нейтрофилы, которые способны не только уничтожать патогены, но и регулировать иммунный ответ и воспаление, в том числе при вирусной инфекции. Целью исследования явилось изучение функциональной активности нейтрофилов у больных COVID-19 в зависимости от степени тяжести. Проведено обследование 85 пациентов с COVID-19, которые были разделены по степени тяжести на три группы: с легкой, со средней и с тяжелой и крайне тяжелой степенями тяжести. Контрольную группу составили 30 здоровых доноров. Хемилюминесцентным анализом определены показатели функциональной активности нейтрофилов. У больных COVID-19 с легкой степенью тяжести было выявлено снижение спонтанной и стимулированной продукции АФК нейтрофилами и времени выхода на максимум свечения, что свидетельствует о снижении функциональной активности клеток. В группе пациентов со средней степенью тяжести было показано снижение спонтанной продукции нейтрофилов, но более высокий показатель коэффициента активации по сравнению со здоровыми людьми. Больные с тяжелым и крайне тяжелым течением характеризовались пониженной спонтанной и стимулированной продукцией АФК нейтрофилами, временем выхода на максимум свечения, но повышенным коэффициентом активации, что свидетельствует о снижении функциональной активности нейтрофилов, но повышенной активации клеток в ответ на стимуляцию. Сравнительный анализ показателей активности нейтрофилов в зависимости от степени тяжести заболевания показал, что наиболее высокие значения спонтанной и стимулированной продукции АФК нейтрофилами были получены у пациентов со средней степенью тяжести. Корреляционный анализ выявил прямую зависимость коэффициента активации нейтрофилов от степени тяжести COVID-19, что позволит использовать данный показатель в качестве одного из предикторов тяжести заболевания.

Ключевые слова: COVID-19; тяжесть заболевания; нейтрофилы; хемилюминесцентный анализ.

Для цитирования: Ащина Л.А., Баранова Н.И., Лесина О.Н., Болгова А.И. Показатели хемилюминесцентного анализа нейтрофилов у больных COVID-19. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2023; 68 (6): 349-355 DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2023-68-6-349-355>.

Для корреспонденции: Ащина Людмила Андреевна, канд. биол. наук, ст. науч. сотр. Центральной научно-исследовательской лаборатории; e-mail: pushino2008@yandex.ru

Финансирование. Исследование выполнено при финансовой поддержке государственного задания «Разработка персонализированных алгоритмов прогнозирования тяжелых форм COVID-19 на основе иммуногенетических биомаркеров с целью оптимизации патогенетической терапии и улучшения исходов заболевания» № 123021300244-8 от 13.02.2023 г.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 10.04.2023

Принята к печати 17.04.2023

Опубликовано 05.06.2023

Aschina L.A.¹, Baranova N.I.¹, Lesina O.N.¹, Bolgova A.I.^{1,2}

CHEMILUMINESCENT ANALYSIS OF NEUTROPHILS IN COVID-19 PATIENTS

¹Penza Institute for Further Training of Physicians – Branch Campus of the Federal State Budgetary Educational Institution of Further Professional Education "Russian Medical Academy of Continuing Professional Education" of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, 440060, Penza, Russia;

²State Budget Health Care Institution "Penza Regional Clinical Center of Specialized Types of Medical Care", 440052, Penza, Russia

COVID-19 viral infection has proven to be a major public health challenge. Neutrophils have been shown to be important in the pathogenesis of this disease, being capable not only of destroying pathogens, but also of regulating the immune response and inflammation, including viral infection. The aim of the study was to investigate the functional activity of neutrophils in COVID-19 patients depending on the severity degree. We examined 85 patients with COVID-19 which were divided into three groups depending on severity degree: mild, moderate, and severe and extremely severe. The control group consisted of 30 healthy donors. By chemiluminescence analysis we determined indices of neutrophil functional activity. In COVID-19 patients with mild degrees of severity we detected a decrease in spontaneous and stimulated production of ROS by neutrophils and in time to reach the maximum luminescence, which indicated the reduced functional activity of cells. The group of patients with moderate severity

showed a decrease in spontaneous production of neutrophils, but a higher activation factor compared to healthy individuals. Patients with severe and extremely severe disease were characterized by decreased spontaneous and stimulated production of ROS by neutrophils, time to maximum luminescence, but an increased activation factor, which indicates a decrease in the functional activity of neutrophils, but increased activation of cells in response to stimulation. A comparative analysis of indicators of neutrophil activity depending on the severity of the disease showed that the highest values of spontaneous and stimulated production of ROS by neutrophils were obtained in patients with a moderate degree of severity. Correlation analysis revealed a direct dependence of neutrophil activation factor on COVID-19 severity, which will allow to use this index as one of the predictors of disease severity.

Key words: COVID-19; disease severity; neutrophils; chemiluminescent analysis.

For citation: Aschina L.A., Baranova N.I., Lesina O.N., Bolgova A.I. Chemiluminescent analysis of neutrophils in COVID-19 patients. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2023; 68 (6): 349-355 (in Russ.) DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2023-68-6-349-355>

For correspondence: Aschina Lyudmila Andreevna, Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher of the Central Research Laboratory; e-mail: pushino2008@yandex.ru

Information about authors:

Aschina L.A., <https://orcid.org/0000-0002-4445-5619>;
Baranova N.I., <https://orcid.org/0000-0002-5930-846X>;
Lesina O.N., <https://orcid.org/0000-0003-0434-1972>;
Bolgova A.I., <https://orcid.org/0000-0003-4129-2815>.

Acknowledgment. The study was supported financially by the state task "Development of personalized algorithms for prognosis of severe forms of COVID-19 based on immunogenetic biomarkers to optimize pathogenetic therapy and improve disease outcomes" № 123021300244-8 dated February 13, 2023.

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

Received 10.04.2023

Accepted 17.04.2023

Published 05.06.2023

Введение. Коронавирусная инфекция, вызванная вирусом SARS-CoV-2, в 2020 году была официально объявлена пандемией. Показано, что данный вирус способен вызывать заболевания, варьирующие от обычной простуды до тяжелой пневмонии, острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС) и септического шока [1 - 3]. Несмотря на усилия по улучшению методов диагностики, вакцинации и лечению пациентов с COVID-19, до сих пор остаются пробелы в вопросе патогенеза данного заболевания, связанного с врожденным иммунитетом [4, 5]. Как следует из данных литературы, немаловажное значение в патогенезе COVID-19 имеют клеточные компоненты иммунной системы. Особое внимание уделяется нейтрофилам. Данные клетки способны не только уничтожать патогены, но и регулировать иммунный ответ и воспаление, в том числе и при вирусной инфекции [6, 7]. Кроме того, показано их влияние на адаптивный иммунный ответ путем презентации антигена и супрессорной модуляции ответа Т-клеток [8]. Реализация функций нейтрофилов при инфекционных заболеваниях происходит за счет фагоцитоза, образования активных форм кислорода (АФК), формирования нейтрофильных ловушек, а также способности синтезировать и секретировать цитокины, дефенсины и интерфероны [9, 10]. Исследования последних лет показали, что, с одной стороны, нейтрофилы способны осуществлять противовирусную защиту, с другой стороны - многие вирусы способны негативно влиять на функции нейтрофилов, за счет изменения их фенотипа [11]. Присутствие в периферической крови достаточного количества нейтрофилов и их наличие практически во всех органах обуславливает вероятность для этих клеток одними из первых взаимодействовать с вирусами [12]. При этом тяжесть течения

пневмонии и исход заболевания зависят не только от возбудителя, но и от состояния иммунной системы человека. Общий уровень нейтрофилов служит маркером острого инфекционного процесса [13]. Так, вскрытие пациентов, погибших от COVID-19, выявило выраженную инфильтрацию нейтрофилов в легочных капиллярах, их выход в альвеолярное пространство, острое воспаление капилляров с отложением фибрина, а также нейтрофильный мукозит [14]. Данные клетки имеют высокую реактивность и способны быстро функционально перестраиваться в ответ на сигналы об изменении условий внутренней среды, тем самым определяя процесс развития воспаления [15]. Вместе с тем, показатели продукции АФК у больных с COVID-19 остаются недостаточно изученными. Поэтому одним из перспективных направлений является изучение влияния активности основных ферментативных реакций на интенсивность «респираторного взрыва» нейтрофилов. Исследование особенностей хемилюминесцентной активности нейтрофильных гранулоцитов у больных COVID-19 позволит в дальнейшем охарактеризовать механизмы воспалительного процесса, его регуляцию и разработать методы прогноза характера течения и исхода заболевания.

Целью настоящего исследования явилось изучение функциональной активности нейтрофилов у больных COVID-19 в зависимости от степени тяжести.

Материал и методы. Проанализированы результаты хемилюминесцентного анализа у 85 больных с COVID-19 в возрасте от 19 до 65 лет, находящихся на лечении в ГБУЗ «Пензенский областной клинический центр специализированных видов медицинской помощи». Средний возраст больных составил 42±21 года. Диагноз устанавливался на основании выявления РНК SARS-CoV-2 в мазках из носа и зева мето-

дом ПЦР. В контрольную группу вошли практически здоровые люди ($n=30$) аналогичного возрастного диапазона. Диагностический алгоритм обследования пациента амбулаторного центра диагностики и лечения новой коронавирусной инфекции COVID-19 включал: сбор анамнеза, физикальное обследование, методы общей лабораторной диагностики (общий (клинический) анализ крови, биохимический анализ крови, этиологическая лабораторная диагностика, пульсоксиметрия, КТ легких). Больные COVID-19 были разделены на 3 группы в зависимости от степени тяжести согласно действующим рекомендациям «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19), версия № 9 от 26.10.2020 г., версия № 10 от 08.02.2021 г., версия № 11 от 07.05.2021 г. В 1-ю группу вошли пациенты с COVID-19 ($n=32$), которые характеризовались легким течением заболевания (КТ 1). Во 2-ю группу больных COVID-19 ($n=30$) вошли пациенты, которые характеризовались среднетяжелым течением. Изменения при КТ (рентгенографии), типичные для вирусного поражения (объем поражения минимальный или средний; КТ 1-2). В 3-ю группу вошли пациенты с COVID-19 ($n=23$) с тяжелым и крайне тяжелым течением. Тяжелое течение характеризовалось следующими признаками: изменения в легких при КТ, типичные для вирусного поражения (объем поражения значительный или субтотальный; КТ 3-4). При крайне тяжелом течении наблюдалась стойкая фебрильная лихорадка, ОРДС, острая дыхательная недостаточность (ОДН) с необходимостью респираторной поддержки (инвазивная вентиляция легких), септический шок, полиорганная недостаточность, изменения в легких (КТ 4).

Было проведено клиническое, открытое, проспективное, рандомизированное исследование. Критериями включения больных в исследование явились: диагноз COVID-19, возраст от 19 до 65 лет, информированное согласие на участие в исследовании. Критериями исключения были: ОРВИ, вызванные другими респираторными вирусами, возраст пациентов до 18 лет, отказ пациента от участия в исследовании.

Изучение функциональной активности нейтрофилов у пациентов было проведено в Центральной научно-исследовательской лаборатории Пензенского института усовершенствования врачей – филиала ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России в период с января по сентябрь 2021 года. От всех пациентов было получено добровольное информированное согласие на проводимые исследования.

Взятие крови для исследования у пациентов осуществляли утром, натощак, из кубитальной вены в объеме 5 мл в вакутейнеры с Li-гепарином. Функциональную активность нейтрофилов изучали с помощью хемилюминесцентного анализа по методике, предложенной И.В. Образцовым [16], которая заключается в последовательной стимуляции нейтрофилов двумя стимулами: форбол-12-миристат-13-ацетатом (ФМА) и N-формилметионил-лейцилфенилаланином (фМЛФ) с последующей регистрацией результатов хемилюминесценции (ХЛ) на аппарате Lum-1200 (ДИСофт, Россия) с программным обе-

спечением PowerGraph 3.0. Объектом исследования являлась цельная кровь, без выделения фагоцитов. В качестве активатора ХЛ использовали люминол (Sigma-Aldrich, США). ФМА (Sigma-Aldrich, США), используемый в качестве стимула, выполнял роль праймера, а фМЛФ (Sigma-Aldrich, США) являлся основным стимулом для люминол-зависимого хемилюминесцентного анализа.

В исследовании были определены следующие показатели: светосумма спонтанной и ФМА+фМЛФ-стимулированной продукции нейтрофилов (Спонт., Стим.), максимальная интенсивность свечения нейтрофилов (I_{max}), коэффициент активации (K_a), равный отношению показателя светосуммы ФМА+фМЛФ-стимулированных нейтрофилов к показателю светосуммы спонтанной продукции нейтрофилов и время выхода на максимум (T_{max}). Единицы измерения показателей светосуммы и максимальной интенсивности свечения выражали в РРс (количество импульсов света в секунду времени в пересчете на миллион нейтрофилов). Время выхода на максимум свечения выражали в секундах.

Статистическую обработку полученных результатов проводили при помощи программ STATISTICA 12.0 (США). Описание полученных в исследовании результатов производили с помощью подсчета медианы (Me) и интерквартильного размаха в виде 25 и 75 перцентилей ($Q_{0.25}$ и $Q_{0.75}$). Анализируемые показатели не имели нормального распределения (применяли критерий Шапиро-Уилка). Сравнительный анализ групп оценивали по критерию Манна-Уитни. Корреляционный анализ оценивали по критерию Спирмена. Достоверно значимыми считали различия при $p < 0,05$.

Результаты. Хемилюминесцентный анализ показателей нейтрофилов у больных COVID-19 с легкой степенью тяжести (1-я группа) выявил следующие особенности (см. таблицу 1).

Показатель спонтанной продукции нейтрофилов у пациентов был достоверно снижен в 2,3 раза по сравнению с группой контроля ($p=0,0003$). Уровень стимулированной продукции нейтрофилов по сравнению со здоровыми людьми также был более низким ($p=0,002$). Однако уровень максимальной интенсивности свечения нейтрофилов в данной группе больных достоверно не отличался от контрольных значений. Анализ времени выхода на максимум свечения клеток показал более низкое значение данного показателя у больных COVID-19 по сравнению со здоровыми людьми ($p=0,008$). Значение коэффициента активации нейтрофилов у пациентов с легкой степенью тяжести не имели достоверных отличий по сравнению с контрольной группой. При сравнительном анализе больных 1-й группы со 2-й (со средней степенью тяжести) и 3-й группой (тяжелое и крайне тяжелое течение) было выявлено, что значение спонтанной продукции АФК клетками у больных с легкой степенью тяжести была достоверно более высокой по сравнению с больными с тяжелым и крайне тяжелым течением ($p=0,04$). При этом показатель стимулированной продукции АФК клетками в 1-й группе был достоверно более низким, чем во 2-й и 3-й группах

Показатели хемилюминесцентного анализа у пациентов с COVID-19 с разной степенью тяжести [Mediana Q0.25–Q0.75]

Значения	Пациенты с COVID-19			Контрольная группа (n = 30)
	1-я группа (n = 32)	2-я группа (n = 30)	3-я группа (n = 23)	
S _{спонт.} , PPs	11,0 [6,7-19,0] p=0,003	16,0 [7,0-38,0] p=0,005 p2=0,03	7,0 [6,0-37,0] p=0,002 p3=0,04	25,3 [15,8-42,3]
S _{стим.} , PPs	164,0 [132,0-396,0] p=0,002 p1=0,004	382,5 [211,0-750,0] p2=0,02	240,0 [190,0-452,0] p=0,004 p3=0,002	410,8 [280,1-577,5]
I _{max} , PPs	0,7 [0,39-0,8]	0,6 [0,42-1,5]	0,56 [0,54-1,07]	0,48 [0,32-0,61]
T _{max} , с	2160 [2136-2364] p=0,008	2148 [2112-2460] p=0,01	2100 [1950-2280] p=0,006	2760 [2200-3350]
K _a	13,5 [7,6-22,5] p1=0,0025	22,6 [8,8-32,6] p=0,002 p2=0,03	35,6 [19,8-46,2] p=0,001 p3=0,004	15,7 [9,6-24,5]

Примечание. *p* - статистически значимые различия групп больных COVID-19 и контрольной группой; *p*₁ - статистически значимые различия 1-й и 2-й групп больных COVID-19 (*p*<0,05); *p*₂ - статистически значимые различия 2-й и 3-й групп больных COVID-19 (*p*<0,05). *p*₃ - статистически значимые различия 1-й и 3-й групп больных COVID-19 (*p*<0,05).

больных (*p*=0,004; *p*=0,002 соответственно). Значение максимальной интенсивности свечения нейтрофилов и время выхода на максимум свечения достоверно не различалось между 1-й, 2-й и 3-й группами. Однако показатель коэффициента активации в группе с легкой степенью тяжести (1-я группа) был достоверно более низким по сравнению с группой со средней (2-я группа) и тяжелой и крайне тяжелой степенью тяжести (3-я группа) (*p*=0,0025; 0,004 соответственно).

Изучение показателей нейтрофилов в группе больных COVID-19 со средней степенью тяжести (2-я группа) выявило снижение показателя спонтанной продукции АФК клетками по сравнению с контрольными значениями (*p*=0,005). Уровень стимулированной продукции нейтрофилов и максимальной интенсивности свечения клеток достоверно не отличался от здоровых доноров. Однако показатель времени выхода на максимум у больных 2-й группы был достоверно более низким по сравнению с контрольными значениями (*p*=0,01). Коэффициент активации нейтрофилов, который показывает отношение стимулированной продукции нейтрофилов к спонтанной продукции, в данной группе больных был достоверно выше по сравнению со здоровыми людьми (*p*=0,002). Сравнительный анализ функциональной активности нейтрофилов во 2-й и 3-й группе показал, что спонтанная продукция нейтрофилов у больных со средней степенью тяжести (2-я группа) была достоверно более высокой, чем в группе больных с тяжелым и крайне тяжелым течением заболевания (*p*=0,03). Кроме того,

во 2-й группе пациентов был более высокий уровень стимулированной продукции нейтрофилов по сравнению с 3-й группой (*p*=0,02). Показатели максимальной интенсивности свечения клеток и время выхода на максимум достоверно не различались между сравниваемыми группами. Значение коэффициента активации в группе больных со средней степенью тяжести (2-я группа) был более низким по сравнению с группой с тяжелым и крайне тяжелым течением (3-я группа) (*p*=0,03).

Анализ показателей функциональной активности нейтрофилов в группе больных с тяжелой и крайне тяжелой степенью тяжести (3-я группа) показал снижение спонтанной продукции АФК клетками в 3,6 раза по сравнению с контрольными значениями (*p*=0,02). Индуцированная продукция нейтрофилов также была достоверно более низкой по сравнению со значениями у здоровых лиц (*p*=0,004). Значение максимальной интенсивности свечения не имело достоверных различий с группой контроля. Показатель времени выхода на максимум свечения клеток также, как и в 1-й и во 2-й группе больных, был достоверно более низким по сравнению со здоровыми людьми (*p*=0,006). Однако коэффициент активации нейтрофилов в данной группе больных был достоверно выше по сравнению со здоровыми людьми (*p*=0,001).

Таким образом, в результате проведенного хемилюминесцентного анализа было выявлено, что функциональная активность нейтрофилов у пациентов с легкой степенью тяжести COVID-19 (1-я группа) ха-

рактировалась сниженной спонтанной и стимулированной продукцией АФК клетками по сравнению со здоровыми людьми. В группе со средней степенью тяжести у пациентов (2-я группа) было выявлено снижение спонтанной продукции нейтрофилов и более высокий показатель коэффициента активации в сравнении с контрольными значениями. В группе с тяжелой и крайне тяжелой степенью тяжести (3-я группа) показатели спонтанной и стимулированной продукции АФК нейтрофильными гранулоцитами были более низкими по сравнению со значениями здоровых доноров, однако коэффициент активации клеток был более высоким. Сравнительный анализ показателей функциональной активности нейтрофилов в зависимости от степени тяжести заболевания показал, что наиболее высокие значения спонтанной и стимулированной продукции АФК нейтрофилами были получены у пациентов со средней степенью тяжести. Самые низкие значения показателя спонтанной продукции нейтрофилов наблюдали в группе с тяжелым и крайне тяжелым течением, а наиболее низкие значения стимулированной продукции нейтрофилов были в группе с легким течением заболевания. Коэффициент активации клеток был более высоким в группе больных с тяжелой и крайне тяжелой степенью тяжести и имел прямую корреляционную взаимосвязь со степенью тяжести заболевания ($p=0,022$).

Обсуждение. С момента распространения коронавирусной инфекции COVID-19, вызванной вирусом SARS-CoV-2, остаются неясными причины развития тяжелых форм COVID-19, которые проявляются нарушениями гемостаза, приводящие к острому респираторного дистресс-синдрому [17]. Доказано, что нейтрофильные гранулоциты играют важнейшую роль в первой линии клеточно-опосредованной защиты от микроорганизмов и вирусов. Основная функция нейтрофилов - очистка организма от патогенов, путем фагоцитоза, который осуществляется за счет слияния патогена с гранулами, содержащими протеазы, дефенсины, антимикробные пептиды и АФК. Однако до сих пор мало изученным остается роль популяции нейтрофильных гранулоцитов в развитии тяжелых форм заболевания при COVID-19 [18].

В работе были изучены показатели функциональной активности нейтрофилов у больных COVID-19 с различной степенью тяжести. Примененная методика регистрации ХЛ основана на применении двух стимулов – ФМА и фМЛФ, один из которых является праймером, а другой - основным стимулом продукции АФК клетками, а использование люминола позволило осуществлять регистрацию всего пула АФК нейтрофилами [19].

Хемилюминесцентный анализ позволил выявить, что уровни спонтанной (базовой) продукции АФК нейтрофилами у больных COVID-19 1-й группы (легкое течение), 2-й группы (среднетяжелое течение) и 3-й группы (тяжелое и крайне тяжелое течение) были ниже по сравнению с группой здоровых лиц. При этом наиболее низкие результаты данного показателя наблюдались в группе с тяжелым и крайне тяжелым течением заболевания. Было выявлено, что показате-

тель базовой продукции АФК нейтрофильными гранулоцитами у тяжелых больных был достоверно более низкий по сравнению с пациентами с легким и среднетяжелым течением заболевания. Полученные результаты сопоставимы с данными, полученными в работе А. Лазаревой и соавт. [20], которые изучали люминол- и люцигенин-зависимую хемилюминесценцию нейтрофильных гранулоцитов у больных с COVID-19. Так, было показано снижение спонтанной и индуцированной продукции АФК нейтрофилами, а также показателей максимальной интенсивности, времени выхода на максимум и индекса активации люминол-зависимого ответа относительно контрольных значений.

При исследовании стимулированной продукции нейтрофилов под действием двух стимулов – ФМА и фМЛФ, было выявлено, что в группах с легким и тяжелым и крайне тяжелым течением COVID-19 показатель светосуммы хемилюминесценции нейтрофилов (S стим.) был достоверно более низким по сравнению со здоровыми людьми. В группе больных со средней степенью тяжести данный показатель не различался с контрольными значениями. Наиболее низкое значение показателя стимулированной продукции нейтрофилов наблюдался в группе с легким течением заболевания. В проведенной зарубежной работе J. Schulte-Schrepping и соавт. [21] не было выявлено изменения способности к фагоцитозу нейтрофилов у пациентов с легкой и тяжелой формами COVID-19. Однако продукция АФК фагоцитами при стимуляции ФМА и культивировании с *Escherichia coli* была значительно снижена у пациентов с тяжелой формой заболевания по сравнению с пациентами с легкой формой COVID-19 или здоровыми людьми.

Исследование максимальной интенсивности свечения нейтрофилов у больных COVID-19 не показало достоверно значимых различий между группами пациентов с различными степенями тяжести и по сравнению с группой здоровых людей. Данный показатель характеризовал максимальную активность синтеза АФК клетками [22]. Несмотря на достаточно большое количество работ о роли нейтрофилов при COVID-19, данные о функциональной активности при данной патологии носят противоречивый характер. В работе J. Masso-Silva и соавт. [23] напротив, указывается, что нейтрофилы имели повышенный окислительный взрыв, нетоз и фагоцитоз по сравнению с контрольной группой, а нейтрофилы были выявлены в дыхательных путях и альвеолах в паренхиме легких у 40% инфицированных вирусом SARS-CoV-2 пациентов.

Изучение показателя времени выхода на максимум хемилюминесцентного свечения клеток показало достоверно более низкий его уровень у пациентов с COVID-19 во всех трех группах по сравнению с контрольными значениями. Однако различия между больными в зависимости от степени тяжести не были выявлены. Полученные результаты могут быть связаны с более быстрым ответом нейтрофильных гранулоцитов пациентов на стимулирующие агенты, в связи с чем продукция АФК клетками осуществляется за более короткий промежуток времени по сравнению со здоровыми донорами.

Анализ коэффициента активации, который был равен отношению стимулированной к спонтанной продукции АФК клетками, выявил следующие особенности. В группе с легким течением заболевания данный показатель не отличался от контрольных значений. Однако, у больных со средней степенью тяжести и тяжелым и крайне тяжелым течением заболевания, коэффициент активации нейтрофилов был достоверно выше по сравнению со здоровыми людьми. Значение данного показателя увеличивалось в зависимости от степени тяжести COVID-19. Наиболее низкое значение наблюдалось в группе с легким течением, а наиболее высокое в группе с тяжелым и крайне тяжелым течением заболевания. Данный показатель в дальнейшем можно использовать в качестве одного из предикторов тяжести болезни. В доступной научной литературе предполагается, что нейтрофилы могут усиливать патологическое повреждение у пациентов с тяжелой формой COVID-19 при дисфункции иммунного ответа и гипервоспалении, а также способны контролировать другие подмножества клеток в зависимости от особенностей инфекции [24]. Кроме того, показано, что у пациентов с тяжелой формой COVID-19 были выявлены повышенные уровни в сыворотке крови ферментов нейтрофилов – миелопероксидазы и нейтрофильной эластазы [25]. Также исследователи связали тяжелое течение заболевания с циркулирующей нейтрофилией, а нейтрофилы пациентов с COVID-19 показали более высокую экспрессию маркеров активации, чем у здоровых людей из контрольной группы [26, 27].

Таким образом, роль нейтрофильных гранулоцитов в иммунопатологии COVID-19 представляет большой интерес. Доказано, что снижение абсолютного числа клеток или нарушение функциональной активности нейтрофилов может играть роль в развитии от легких до тяжелых клинических состояний COVID-19 [28]. Кроме того, соотношение нейтрофилов и лимфоцитов является одним из маркеров воспаления при COVID-19, а повышенные значения данного показателя свидетельствуют о плохом прогнозе заболевания [29, 30]. В проведенном исследовании было выявлено, что больные с COVID-19 с различной степенью тяжести от легкой до крайне тяжелой, характеризовались снижением функциональной активности нейтрофилов. Кроме того, больные со средней степенью тяжести и тяжелым и крайне тяжелым течением заболевания имели повышенный коэффициент активации фагоцитов к продукции АФК, что можно использовать в качестве маркера тяжести заболевания при данной патологии.

Выводы

У больных COVID-19 с легкой степенью тяжести выявлено снижение спонтанной и стимулированной продукции АФК, а также времени выхода на максимум свечения клеток, что свидетельствует о снижении функциональной активности нейтрофилов.

В группе со средней степенью тяжести пациентов выявлено снижение спонтанной продукции нейтрофилов, но более высокий показатель коэффициента активации в сравнении с контрольными значениями, что

указывает на повышенную активацию нейтрофилов.

Пациенты с тяжелым и крайне тяжелым течением COVID-19 характеризовались одновременно снижением спонтанной и стимулированной продукцией АФК нейтрофилами и повышением коэффициента активации.

Сравнительный анализ показателей функциональной активности нейтрофилов в зависимости от степени тяжести заболевания показал, что наиболее высокие значения спонтанной и стимулированной продукции АФК нейтрофилами были получены у пациентов со средней степенью тяжести. Коэффициент активации клеток был более высоким в группе больных с тяжелой и крайне тяжелой степенью тяжести.

Коэффициент активации нейтрофилов у больных COVID-19 повышался прямо пропорционально степени тяжести. Данный показатель можно использовать в качестве предиктора тяжести заболевания.

ЛИТЕРАТУРА (п.п. 1, 4-7, 9-10, 12-15, 17, 18, 20, 21, 23-30 см. REFERENCES)

2. Никифоров В.В., Суранова Т.Г., Чернобровкина Т.Я., Янковская Я.Д., Бутова С.В. Новая коронавирусная инфекция (COVID-19): клинико-эпидемиологические аспекты. *Архив внутренней медицины*. 2020; 10(2):87-93. DOI: 10.20514/2226-6704-2020-10-2-87-933.
3. Бевова М.Р., Нетесов С.В., Аульченко Ю.С. Новая коронавирусная инфекция COVID-19. *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология*. 2020; 38(2):51-8. DOI: 10.17116/mol-gen20203802151.
4. Нестерова И.В., Колесникова Н.В., Чудилова Г.А., Ломтатидзе Л.В., Ковалева С.В., Евлевский А.А. и др. Новый взгляд на нейтрофильные гранулоциты: переосмысление старых догм. Часть 2. *Инфекция и иммунитет*. 2018; 8(1):7-18. DOI: 10.15789/2220-7619-2018-1-7-18.
5. Федорова Н.Д., Сумбатян Д.А., Стукова М.А., Иванов А.В., Семенова Е.В., Филатов М.В. и др. Вирусные инфекции влияют на функциональную активность нейтрофилов периферической крови. *Актуальные вопросы биологической физики и химии*. 2021; 6(1): 115-23.
6. Образцов И.В., Годков М.А., Полимова А.М., Демин Е.М., Проскурнина Е.В., Владимиров Ю.А. Оценка функциональной активности нейтрофилов цельной крови методом двухстадийной стимуляции: новый подход к хемилюминесцентному анализу. *Российский иммунологический журнал*. 2015; 9(4): 418-25.
7. Владимиров Ю.А., Проскурнина Е. В. Свободные радикалы и клеточная хемилюминесценция. *Успехи биологической химии*. 2009; 49: 341-88.
8. Савченко А.А., Кудрявцев И.В., Борисов А.Г. Методы оценки и роль респираторного взрыва в патогенезе инфекционно-воспалительных заболеваний. *Инфекция и иммунитет*. 2017; 7(4): 327-40. DOI: 10.15789/2220-7619-2017-4-327-340.

REFERENCES

1. Kutti-Sridharan G., Vegunta R., Vegunta R., Mohan B. P., Rokkam V. R. P. SARS-CoV2 in different body fluids, risks of transmission, and preventing COVID-19: a comprehensive evidence-based review. *International Journal of Preventive Medicine*. 2020; 11:97. DOI: 10.4103/ijpvm.IJPVM_255_20.
2. Nikiforov V.V., Suranova T.G., Chernobrovkina T.Ya., Yankovskaya Ya.D., Burova S.V. New coronavirus infection (COVID-19): clinical and epidemiological aspects. *Arkhiv vnutrenney meditsiny*. 2020; 10(2):87-93. DOI: 10.20514/2226-6704-2020-10-2-87-93. (in Rus-

- sian)
3. Bevova M.R., Netesov S.V., Aul'chenko Yu.S. New coronavirus infection COVID-19. *Molekulyarnaya genetika, mikrobiologiya i virusologiya*. 2020; 38(2):51-8. DOI: 10.17116/molgen20203802151. (in Russian)
 4. Fernandes L.L., Pacheco V.B., Borges L., Athwal H.K., Eduardo F.P., Bezinelli L. et al. Saliva in the diagnosis of COVID-19: a review and new research directions. *Journal of Dental Research*. 2020; 99(13):1435–43. DOI: 10.1177/0022034520960070.
 5. Fernandes A.C.L., Vale A.J.M., Guzen F.P., Pinheiro F.I., Cobucci R.N., Azevedo E. P. Therapeutic options against the new coronavirus: updated clinical and laboratory evidences. *Frontiers in Medicine*. 2020; 7:546. DOI: 10.3389/fmed.2020.00546.
 6. Mayadas T.N., Cullere X., Lowell C.A. The multifaceted functions of neutrophils. *Annu. Rev. Pathol.* 2014; 9:181–218. DOI: 10.1146/annurev-pathol-020712-164023.
 7. Barr F.D., Ochsenbauer C., Wira C.R., RodriguezGarcia M. Neutrophil extracellular traps prevent HIV infection in the female genital tract. *Mucosal Immunology*. 2018; 11(5):1420–8. DOI: 10.1038/s41385-018-0045-0.
 8. Nesterova I.V., Kolesnikova N.V., Chudilova G.A., Lomtatidze L.V., Kovaleva S.V., Evglevskiy A.A., Nguen T.Z.L. A new look at neutrophil granulocytes: rethinking old dogmas. Part 2. *Infektsiya i immunitet*. 8 (1):7–18. DOI: 10.15789/2220-7619-2018-1-7-18. (in Russian)
 9. Lamichhane P.P., Samarasinghe A.E. The role of innate leukocytes during influenza virus infection. *Journal of Immunology Research*. 2019; 2019:1-17. DOI: 10.1155/2019/8028725.
 10. Lagunas-Rangel F.A. Neutrophil-to-lymphocyte ratio and lymphocyte-to-C-reactive protein ratio in patients with severe coronavirus disease 2019 (COVID-19): a meta-analysis. *Journal of Medical Virology*. 2020; 92(10):1733-4. DOI: 10.1002/jmv.25819.
 11. Fedorova N.D., Sumbatyan D.A., Stukova M.A., Ivanov A.V., Semenova E.V., Filatov M.V., Varfolomeeva E.Yu. Viral infections affect the functional activity of peripheral blood neutrophils. *Aktual'nye voprosy biologicheskoy fiziki i khimii*. 2021; 1(6): 115-23. (in Russian)
 12. Rosales C. Neutrophils at the crossroads of innate and adaptive immunity. *J. Leuk. Biol.* 2020; 108(1):377–96. DOI: 10.1002/JLB.4MIR0220-574RR.
 13. Sun S., Cai X., Wang H., He G., Lin Y., Lu B. et al. Abnormalities of peripheral blood system in patients with COVID-19 in Wenzhou, China. *Clin. Chim. Acta*. 2020; 507:174–80. DOI: 10.1016/j.cca.2020.04.024.
 14. Wang D., Hu B., Hu C., Zhu F., Liu H., Zhang J. et al. Clinical characteristics of 138 hospitalized patients with 2019 novel coronavirus-infected pneumonia in Wuhan, China. *JAMA*. 2020; 323(11): 1061–9. DOI:10.1001/jama.2020.1585.
 15. Rosales C. Neutrophil: A Cell with Many Roles in Inflammation or Several Cell Types? *Front. Physiol.* 2018; 9: 1-17. DOI: https://doi.org/10.3389/fphys.2018.00113.
 16. Obratsov I.V., Godkov M.A., Polimova A.M., Demin E.M., Proskurnina E.V., Vladimirov Yu.A Assessment of the functional activity of whole blood neutrophils by two-stage stimulation: a new approach to chemiluminescence analysis. *Rossiyskiy immunologicheskij zhurnal*. 2015; 9(4): 418–25. (in Russian)
 17. Thierry A., Roch B. Neutrophil Extracellular traps and byproducts play a key role in COVID-19: pathogenesis, risk factors, and therapy. *J. Clin. Med.* 2020; 9(9): 2942. DOI: 10.3390/jcm9092942.
 18. Morrissy S., Geller A.E., Hu X., Trier D., Ding C., Klaes C.K. et al. A specific low-density neutrophil population correlates with hypercoagulation and disease severity in hospitalized COVID-19 patients. *JCI Insight*. 2021; 6(9): 1-19. DOI: 10.1172/jci.insight.148435.
 19. Vladimirov Yu.A., Proskurnina E. V. Free radicals and cell chemiluminescence. *Uspekhi biologicheskoy khimii*. 2009; 49: 341–88. (in Russian)
 20. Lazareva A., Kolenchukova O., Smirnova S., Melder V., Tereshchenko S. Hemiluminescent activity of blood phagocytes in patients with COVID-19. *European Respiratory Journal*. 2021; 58(65):3878. DOI: 10.1183/13993003.congress-2021.PA3878.
 21. Schulte-Schrepping J., Reusch N., Paclik D., Baßler K., Schlickeiser S., Zhang B. et al. Severe COVID-19 is marked by a dysregulated myeloid cell compartment. *Cell*. 2020; 182(6):1419–40. DOI: 10.1016/j.cell.2020.08.001.
 22. Savchenko A.A., Kudryavtsev I.V., Borisov A.G. Methods of evaluation and the role of respiratory burst in the pathogenesis of infectious and inflammatory diseases. *Infektsiya i immunitet*. 2017; 7(4): 327–40. DOI:10.15789/2220-7619-2017-4-327-340. (in Russian)
 23. Masso-Silva J., Moshensky A., Lam M., Odish M., Patel A., Xu L. et al. Increased peripheral blood neutrophil activation phenotypes and neutrophil extracellular trap formation in critically ill coronavirus disease 2019 (COVID-19) patients: a case series and review of the literature. *Clin. Infect. Dis.* 2022; 74(3): 479-89. DOI: 10.1093/cid/ciab437.
 24. Ruan Q., Yang K., Wang W., Jiang L., Song J. Clinical predictors of mortality due to COVID-19 based on an analysis of data of 150 patients from Wuhan, China. *Intensive Care Medicine*. 2020; 46(5):846–8. DOI: 10.1007/s00134-020-05991-x.
 25. Parackova Z., Zentsova I., Bloomfield M., Vrabcova P., Smetanova J., Klocperk A. et al. Disharmonic Inflammatory Signatures in COVID-19: Augmented Neutrophils but Impaired Monocytes and Dendritic Cells Responsiveness. *Cells*. 2020; 9(10):2206. DOI: 10.3390/cells9102206.
 26. Leppkes M., Knopf J., Naschberger E., Lindemann A., Singh J., Herrmann I. et al. Vascular occlusion by neutrophil extracellular traps in COVID-19. *EBioMedicine*. 2020; 58:102925. DOI: 10.1016/j.ebiom.2020.102925.
 27. Wang J., Li Q., Yin Y., Zhang Y., Cao Y., Lin X. et al. Excessive neutrophils and neutrophil extracellular traps in COVID-19. *Frontiers Immunol.* 2020; 11:2063. DOI: 10.3389/fimmu.2020.02063.
 28. Reusch N., Domenico E.D., Bonaguro L., Schulte-Schrepping J., Baßler K., Schultze J. et al. Neutrophils in COVID-19. *Front Immunol.* 2021; 12:652470 DOI: 10.3389/fimmu.2021.652470.
 29. Jimeno S., Ventura P., Castellano J., Garcia-Adasme S., Miranda M. Touza P. Prognostic implications of neutrophil-lymphocyte ratio in COVID-19. *Clin. Invest.* 2021; 51(1): e13404. DOI: 10.1111/eci.13404.
 30. Barnes B. J., Adrover J. M., Baxter-Stoltzfus A., Borczuk A., Cools-Lartigue J., Crawford J.M. et al. Targeting potential drivers of COVID-19: neutrophil extracellular traps. *The Journal of Experimental Medicine*. 2020; 217(6): 1-7. DOI: 10.1084/jem.20200652.



ЭКОлаб

производитель диагностических наборов и лекарственных препаратов

ДИАГНОСТИКА ВИРУСНЫХ ГЕПАТИТОВ



«ИФА-антиВГА-IgM»

для выявления антител класса М к вирусу гепатита А



«ИФА-антиHBcore-IgM»

для выявления антител класса М к core-антигену вируса гепатита В



«ИФА-HBsAg»

для выявления и подтверждения содержания HBs-антигена вируса гепатита В



«ИФА-СО-HBsAg»

стандартный образец (СО) поверхностного антигена вируса гепатита В



«ИФА-HBsAg-0,01»

для выявления и подтверждения содержания HBs-антигена вируса гепатита В с чувствительностью 0.01 МЕ/мл



«ИФА-ВГС»

для выявления и подтверждения наличия антител к вирусу гепатита С



«ИФА-HBeAg»

для выявления HBe-антигена вируса гепатита В



«Лайн-Блот ВГС»

для выявления антител к отдельным антигенам вируса гепатита С методом иммунного блоттинга с использованием рекомбинантных антигенов



«ИФА-антиHBcore»

для выявления антител к core-антигену вируса гепатита В



«ИФА-антиВГС-IgM»

для выявления иммуноглобулинов класса М к вирусу гепатита С



ЭКОлаб

производитель диагностических наборов и лекарственных препаратов



Сифилис - инфекционное венерическое заболевание, вызываемое бледной трепонемой (*Treponema pallidum*), характеризуется волнообразным прогрессирующим течением и разнообразными клиническими проявлениями с чередованием манифестных и скрытых периодов.

«Сифилис-РПГА-тест»

№ ФСР 2010/08228 от 07.09.2021 г.

Набор реагентов для определения антител к *Treponema pallidum* в реакции пассивной гемагглютинации.

Функциональное назначение: скрининг и диагностика.

«Сифилис-АгКЛ-РМП»

№ ФСР 2011/09957 от 25.06.2018 г.

Набор реагентов для качественного выявления и полуколичественного определения антител к *Treponema pallidum* в сыворотке, плазме крови, спинно-мозговой жидкости (СМЖ) человека в реакции микропреципитации (РМП) с антигеном кардиолипиновым.

Функциональное назначение: скрининг и диагностика.

«Сифилис-RPR-тест»

№ ФСР 2007/00406 от 08.10.2019 г.

Набор реагентов для качественного и полуколичественного определения неспецифических реакиновых антител в реакции флоккуляции.

Функциональное назначение: скрининг и диагностика.

«Лайн-Блот Сифилис»

№ РЗН 2014/1657 от 25.03.2022 г.

Набор реагентов для качественного выявления антител классов G и M к *Treponema Pallidum* методом линейного иммуноблоттинга и подтверждения результатов скрининговых исследований (RPR, РПГА или ИФА).

Функциональное назначение: подтверждение и диагностика.

«Сыворотки контрольные для диагностики сифилиса»*

Комлект 1/1	СК+ Сыворотка контрольная положительная	10 фл. (1 мл)
Комлект 1/2	СК+сл Сыворотка контрольная слабоположительная	10 фл. (1 мл)
Комлект 1/3	СК- Сыворотка контрольная отрицательная	10 фл. (1 мл)

* Для контроля качества лабораторных исследований на сифилис в реакции пассивной гемагглютинации (РПГА), реакции связывания комплемента (РСК), реакции микропреципитации (РМП), реакции быстрых плазменных реагинов (RPR).

www.ekolab.ru

142530, Российская Федерация, Московская область,
г. Электрогорск, ул. Буденного, д. 1
тел: 8-800-333-33-47
e-mail: ekolab-sbyt@mail.ru



«ИФА-общий ПСА»

для количественного определения
общего простатического антигена (ПСА)

«ИФА-РЭА»

для количественного определения
раково-эмбрионального антигена (РЭА)

«ИФА-АФП»

для количественного определения альфа-фетопротеина

«ИФА-СА19-9»

для количественного определения СА-19-9

«ИФА-СА-125»

для количественного определения антигена СА-125





«ИФА-ТТГ»

для количественного определения тиреотропного гормона

«ИФА-Трийодтиронин свободный»

для количественного определения
свободного трийодтиронина (Т3)

«ИФА-Трийодтиронин общий»

для количественного определения
общего трийодтиронина (Т3)

«ИФА-тироксин-свободный»

для количественного определения свободного тироксина

«ИФА-тироксин-общий»

для количественного определения общего тироксина (Т4)

«ИФА-ат-ТПО»

для количественного определения аутоантител к тиреопероксидазе



МИКРОБИОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2023

Мангутов Э.О.¹, Харсеева Г.Г.¹, Подойницына О.А.², Носков А.К.², Кругликов В.Д.², Алутина Э.Л.¹, Горох А.М.², Воронина Н.А.¹, Ивлиева О.Н.²

CORYNEBACTERIUM SPP.: АНАЛИЗ ПРОФИЛЕЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ К АНТИМИКРОБНЫМ ПРЕПАРАТАМ У ИЗОЛЯТОВ ОТ БОЛЬНЫХ С ВОСПАЛИТЕЛЬНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ РЕСПИРАТОРНОГО ТРАКТА И ПРАКТИЧЕСКИ ЗДОРОВЫХ ЛИЦ

¹ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, 344022, Ростов-на-Дону, Россия;
²ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, 344002, Ростов-на-Дону, Россия

Цель исследования - провести сравнительный анализ фено- и генотипических маркёров резистентности к АМП изолятов Corynebacterium spp. от больных с воспалительными заболеваниями респираторного тракта и практически здоровых лиц. Штаммы Corynebacterium spp. выделены от больных с воспалительными заболеваниями респираторного тракта (99 шт.) и практически здоровых лиц (33 шт.), идентифицированы масс-спектрометрическим методом. Фенотипическая резистентность изолятов к АМП определена диско-диффузионным методом и с помощью автоматизированного баканализатора VITEK 2 Compact (BioMerieux), генотипическая - с помощью полногеномного секвенирования. Фено- и генотипической резистентностью к АМП чаще обладали изоляты от больных с воспалительными заболеваниями респираторного тракта, чем от практически здоровых лиц. У всех штаммов недифтерийных коринебактерий вне зависимости от источника выделения превалировала резистентность к клиндамицину (74,2±1,1%), связанная с наличием гена erm(X), локализованного в хромосоме и имеющего вертикальный путь распространения. Расположение других генов резистентности к АМП (aph(3'')-Ia, aph(3'')-Ib, aph(6)-Id, tetAB(A), tet(W), ctx, sul1) в составе мобильных генетических элементов свидетельствует о возможности их горизонтального переноса. Наличие фено- и генотипической резистентности к АМП у изолятов недифтерийных коринебактерий от больных с воспалительными заболеваниями респираторного тракта указывает на возможную взаимосвязь патогенных свойств и резистентности к АМП.

Ключевые слова: Corynebacterium spp.; фено- и генотипические маркёры резистентности к АМП; воспалительные заболевания респираторного тракта; полногеномное секвенирование.

Для цитирования: Мангутов Э.О., Харсеева Г.Г., Подойницына О.А., Носков А.К., Кругликов В.Д., Алутина Э.Л., Горох А.М., Воронина Н.А., Ивлиева О.Н. Corynebacterium spp.: анализ профилей резистентности к антимикробным препаратам у изолятов от больных с воспалительными заболеваниями респираторного тракта и практически здоровых лиц. Клиническая лабораторная диагностика. 2023; 68 (6): 356-364. DOI: https://doi.org/10.51620/0869-2084-2023-68-6-356-364

Для корреспонденции: Харсеева Галина Георгиевна, д-р мед. наук, проф., зав. кафедрой микробиологии и вирусологии № 2; e-mail: galinagh@bk.ru

Финансирование. Исследование проведено за счёт средств Федерального бюджета в рамках государственного задания «Маркёры патогенности и антибиотикорезистентности условно-патогенных микроорганизмов, связанных с воспалительными заболеваниями респираторного тракта» и Отраслевой программы Роспотребнадзора.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 17.04.2023

Принята к печати 20.04.2023

Опубликовано 05.06.2023

Mangutov E.O.¹, Kharseeva G.G.¹, Podoynitsyna O.A.², Noskov A.K.², Kruglikov V.D.², Alutina E.L.¹, Gorokh A.M.², Voronina N.A.¹, Ivlieva O.N.²

CORYNEBACTERIUM SPP.: ANALYSIS OF ANTIMICROBIAL RESISTANCE PROFILES IN ISOLATES FROM PATIENTS WITH INFLAMMATORY DISEASES OF THE RESPIRATORY TRACT AND PRACTICALLY HEALTHY INDIVIDUALS

¹Federal State Educational Institution of Higher Education «Rostov State Medical University» Ministry of Health of Russia, 344022, Rostov-on-Don, Russian Federation;

²Federal public health institution Rostov-on-Don Plague Control Research Institute of Rosпотребнадзор; 344002, Rostov-on-Don, Russian Federation

The aim of the study was to conduct a comparative analysis of phenotypic and genotypic markers of resistance to AMPs in isolates of Corynebacterium spp. from patients with inflammatory diseases of the respiratory tract and practically healthy individuals. Strains of Corynebacterium spp., isolated from patients with inflammatory diseases of the respiratory tract (99 pcs.) and practically healthy individuals (33 pcs.), were identified by mass spectrometric method. The phenotypic resistance of isolates to AMPs was determined by the disk diffusion method and using the VITEK 2 Compact automated bacterial analyzer (BioMerieux), genotypic resistance was determined using whole genome sequencing. Isolates from patients with inflammatory diseases of the respiratory tract more often had phenotypic and genotypic resistance to AMPs than from practically healthy individuals. In all strains of non-diphtheria corynebacteria, regardless of the source of isolation, resistance to clindamycin prevailed (74.2±1.1%), associated with

the presence of the *erm(X)* gene localized in the chromosome and having a vertical distribution pathway. The location of other AMP resistance genes (*aph(3'')-Ia*, *aph(3'')-Ib*, *aph(6)-Id*, *tetAB(A)*, *tetW*, *cmx*, *sul1*) in mobile genetic elements indicated the possibility their horizontal transfer. The presence of pheno- and genotypic resistance to AMP in isolates of non-diphtheria corynebacteria from patients with inflammatory diseases of the respiratory tract indicates a possible relationship between pathogenic properties and resistance to AMP.

Key words: *Corynebacterium* spp.; phenotypic and genotypic markers of resistance to AMPs; inflammatory diseases of the respiratory tract; whole genome sequencing.

For citation: Mangutov E.O., Kharseeva G.G., Podoyntsina O.A., Noskov A.K., Kruglikov V.D., Alutina E.L., Gorokh A.M., Voronina N.A., Ivlieva O.N. *Corynebacterium* spp.: analysis of antimicrobial resistance profiles in isolates from patients with inflammatory diseases of the respiratory tract and practically healthy individuals. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2023; (6): 356-364 (in Russ.) DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2023-68-6-356-364>

For correspondence: Kharseeva Galina Georgievna, MD, Professor, Head of the Department of Microbiology and Virology № 2; e-mail: galinagh@bk.ru

Information about authors:

Mangutov E.O., <https://orcid.org/0000-0001-6959-2540>;
Kharseeva G.G., <https://orcid.org/0000-0002-6226-2183>;
Podoyntsina O.A., <https://orcid.org/0000-0002-9996-4189>;
Noskov A.K., <https://orcid.org/0000-0003-0550-2221>;
Kruglikov V.D., <https://orcid.org/0000-0002-6540-2778>;
Alutina E.L., <https://orcid.org/0000-0001-6968-0583>;
Gorokh A.M., <https://orcid.org/0000-0002-2017-7992>;
Voronina N.A., <https://orcid.org/0000-0002-9655-6876>;
Ivlieva O.N., <https://orcid.org/0009-0009-5877-9823>.

Financing. The study was carried out at the expense of the federal budget within the framework of the state task "Pathogenicity and antibiotic resistance markers of opportunistic microorganisms associated with inflammatory diseases of the respiratory tract" and the Rospotrebnadzor Industry Program.

Conflict of interests. The authors declare absence of conflict of interests.

Received 17.04.2023

Accepted 20.04.2023

Published 05.06.2023

Введение. *Corynebacterium* spp., входящие в состав микробиома человека, могут способствовать развитию воспалительных заболеваний респираторного и урогенитального тракта, кожи [1-3], явиться возбудителями бактериальной коинфекции и выделяться при бактериемии из крови больных с COVID-19 [4]. Наибольшую настороженность вызывает обнаружение в биоматериале от больных таких видов недифтерийных коринебактерий как *C. striatum*, *C. amycolatum*, *C. riegelii*, которые многие исследователи в последнее время расценивают как патогенные [5-7]. *C. striatum* описан как часто встречаемый патоген с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ), вызывающий инфекции, связанные с оказанием медицинской помощи (ИСМП), особенно у лиц с иммунодефицитными состояниями [5, 8, 9]. В промышленно развитых и развивающихся странах мира участились случаи ИСМП, этиологическим агентом развития которых являются штаммы *C. striatum* с МЛУ [9, 10]. Многие штаммы *Corynebacterium* spp. обладают генами лекарственной устойчивости, что является серьезной причиной для беспокойства. Они часто проявляют резистентность к ампициллину, ципрофлоксацину, гентамицину, эритромицину, пенициллину, тетрациклину, но сохраняют чувствительность к ванкомицину, линезолиду, хлорамфениколу [11, 12]. Известно, что изоляты *C. striatum* с МЛУ обладают повышенной способностью к биоплёнокообразованию [13, 14], что позволяет рассматривать этот вид коринебактерий как новый патоген, требующий повышенного внимания [13].

До недавнего времени для *Corynebacterium* spp.

отсутствовала ясность в понимании вопроса о критериях оценки их резистентности к антимикробным препаратам (АМП). Полагали, что следует сравнивать результаты определения их чувствительности к АМП с аналогичными данными при грамположительных бактериях (стафилококки, стрептококки) или принимать во внимание только случаи полной резистентности, выявляемые диско-диффузионным методом. В настоящее время для *Corynebacterium* spp. определены критерии оценки резистентности к АМП [15], однако молекулярные механизмы перехода от колонизации к способности вызывать развитие инфекционного процесса у этих микроорганизмов, особенно с МЛУ, исследованы пока недостаточно. У штаммов *Corynebacterium* spp. обнаружены гены, кодирующие резистентность к различным АМП. Известно, что некоторые механизмы устойчивости к фторхинолонам (ципрофлоксацину и моксифлоксацину) у недифтерийных коринебактерий связаны со спонтанными мутациями в *gyrA*-гене [11, 13]. У изолятов *C. striatum*, характеризующихся МЛУ, выявлены гены резистентности к эритромицину и клиндамицину (*erm(X)*), тетрациклину (*tetAB(A)* и *tetAB(B)*), аминогликозидам (*aac*, *ant*, *aph*), хлорамфениколу (*cmx*) [13, 16, 17]. Описаны генетически разнообразные изоляты недифтерийных коринебактерий, с различной представленностью генетических детерминант, обуславливающих резистентность к АМП, что подтверждает роль горизонтального переноса генов в быстром формировании фенотипа МЛУ у *Corynebacterium* spp. [13, 18, 19]. Повышение клинической значимости недиф-

терийных коринебактерий, увеличение количества штаммов с МЛЮ, недостаточное понимание механизмов формирования потенциальной устойчивости к АМП указывает на необходимость проведения дальнейших исследований в этом направлении.

Цель исследования - провести сравнительный анализ фено- и генотипических маркеров резистентности к АМП изолятов *Corynebacterium* spp. от больных с воспалительными заболеваниями респираторного тракта и практически здоровых лиц.

Материал и методы. Исследованы штаммы *Corynebacterium* spp., выделенные в 2017-2021 гг. из верхних дыхательных путей (нос, зев) от больных с тонзиллитом, ангиной, ринофарингитом, бронхитом, пневмонией (99 штаммов) и практически здоровых лиц (33 штамма) в бактериологической лаборатории МБУЗ «Детская городская больница № 1 города Ростова-на-Дону», МБУЗ «Городская больница № 20 города Ростова-на-Дону», ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России. Штаммы *Corynebacterium* spp. выделены от больных в количестве 10^5 КОЕ/мл и более, практически здоровых лиц - 10^4 КОЕ/мл и менее, их идентификация проведена масс-спектрометрическим методом (MALDI-ToF MS) на приборе Bruker Daltonics Biotyper (Германия) и баканализаторе VITEK 2 Compact (BioMerieux, Франция). Изоляты *Corynebacterium* spp. от больных с воспалительными заболеваниями респираторного тракта (*C. pseudodiphtheriticum* R7, R9, R11, *C. amycolatum* R2, R3, *C. afermentans* R12, *C. falsenii* R132, *C. striatum* R546) и практически здоровых лиц (*C. pseudodiphtheriticum* Дон2, Дон4, Дон5, Дон6) задепонированы в Государственной коллекции патогенных микроорганизмов и клеточных культур «ГКМП-Оболенск». Аннотированные последовательности генома депонированы в базе данных GenBank как проект секвенирования PRJNA339674 с регистрационными номерами: SAMN31031755, SAMN31031754, SAMN31031753, SAMN31031752, SAMN31031751, SAMN31031750, SAMN31031749, SAMN31031748, SAMN31031747, SAMN31031746, SAMN31031745, SAMN31031744.

Определение чувствительности к АМП проводили диско-диффузионным методом и с помощью автоматизированного баканализатора VITEK 2 Compact (BioMerieux) к бензилпенициллину, ципрофлоксацину, моксифлоксацину, гентамицину, ванкомицину, эритромицину, клиндамицину, тетрациклину, линезолиду, рифампицину в соответствии с Клиническими рекомендациями [15], а также к левомицетину и триметоприму-сульфаметоксазолу.

Полногеномное секвенирование и биоинформационный анализ. Тотальную ДНК штаммов недифтерийных коринебактерий выделяли с помощью набора PureLink™ Mini (Thermo Fisher Scientific, США). Полногеномное секвенирование осуществляли на платформе MGI (MGI Tech Co., Ltd, США) с использованием наборов MGIEasy FS DNA Library Prep Kit и MGI-Seq 2000RS High-throughput sequencing kit PE200 (MGI Tech Co., Ltd, США) согласно рекомендациям производителя. Единичные прочтения собира-

ли в контиги с помощью программного обеспечения SPAdes 3.9.0 [20].

Анализ качества сборки проведён с использованием пакета Quast 5.0.2 [21]. Поиск генов резистентности к АМП проведён с использованием программы Abricate 1.0.1 [22]. Сравнение нуклеотидных нуклеотидных и аминокислотных последовательностей выполнено посредством Mega 6 [23].

Статистическую обработку данных проведена с помощью программы STATISTICA 12.0 (StatSoftInc, США) и MedCalc (версия 9.3.5.0).

Результаты. Рассматривая показатели резистентности к АМП штаммов недифтерийных коринебактерий (табл. 1), выделенных на территории г. Ростова-на-Дону от больных с воспалительными заболеваниями респираторного тракта, установлено, что большинство ($77,8 \pm 4,2\%$) клинических изолятов обладали резистентностью к клиндамицину. Резистентность штаммов *Corynebacterium* spp. к другим АМП выявляли значительно реже: к ципрофлоксацину - у $22,2 \pm 4,2\%$ штаммов, бензилпенициллину и эритромицину - $14,1 \pm 3,5\%$, тетрациклину - $8,1 \pm 2,7\%$, гентамицину и моксифлоксацину - $4,0 \pm 2,0\%$, линезолиду - $2,0 \pm 1,4\%$. Среди штаммов *Corynebacterium* spp., выделенных от практически здоровых лиц, количество изолятов, резистентных к АМП, меньше по сравнению с аналогичными результатами у больных. Большинство из них также проявляли резистентность к клиндамицину ($63,6 \pm 8,5\%$). Из 99 изолятов *Corynebacterium* spp. от больных с воспалительными заболеваниями респираторного тракта обнаружено 6 ($6,1 \pm 2,4\%$) штаммов с МЛЮ и 2 ($2,0 \pm 1,4\%$) экстремально резистентных штамма (ЭР). Среди изолятов *Corynebacterium* spp. от практически здоровых лиц обнаружен только один штамм с МЛЮ.

Представляли интерес выяснить, каковы механизмы формирующейся у *Corynebacterium* spp. резистентности к АМП и насколько они отличны у обследованных с патологией респираторного тракта и практически здоровых лиц. Для этого проведено полногеномное секвенирование 12 штаммов недифтерийных коринебактерий. Чувствительность и резистентность к АМП этих изолятов определяли с помощью модифицированного метода серийных разведений с использованием двух пограничных значений МПК (табл. 2).

Для детекции генов резистентности к АМП с помощью полногеномного секвенирования исследованы 8 штаммов, выделенных от больных с воспалительными заболеваниями респираторного тракта, и 4 изолята от практически здоровых лиц. С помощью программного обеспечения Abricate 1.0.1 проведён поиск генов резистентности к АМП. Обнаруженные детерминанты представлены в табл. 3.

При исследовании штаммов *Corynebacterium* spp., выделенных от больных с воспалительными заболеваниями респираторного тракта (табл. 3), установлено, что у большинства (7 из 8 исследованных изолятов) выявлен ген *erm(X)*, детерминирующий резистентность к линкозамидам (клиндамицин, линкомицин), макролидам (эритромицин) и стрептограминам (вир-

Таблица 1

Резистентные к АМП штаммы *Corynebacterium* spp. (абс. / %±m)

АМП	Источник выделения штаммов <i>Corynebacterium</i> spp.				Всего штаммов <i>Corynebacterium</i> spp. (132 шт./100%)	
	Больные с воспалительными заболеваниями респираторного тракта (99 шт./100%)		Практически здоровые лица (33 шт./100%)			
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Бензилпенициллин	14	14,1±3,5	1	3,0±3,0*	15	11,4±2,7
Ципрофлоксацин	22	22,2±4,2	1	3,0±3,0*	23	17,4±3,2
Моксифлоксацин	4	4,0±2,0	-		4	3,0±1,5
Гентамицин	4	4,0±2,0	-		4	3,0±1,5
Ванкомицин	-		-		-	
Эритромицин	14	14,1±3,5	3	9,1±5,2	17	12,9±2,8
Клиндамицин	77	77,8±4,3	21	63,6±12,3	98	74,2±1,1
Тетрациклин	8	8,1±2,7	3	9,1±5,2	11	8,3±2,4
Линезолид	2	2,0±1,4	-		2	1,5±1,1
Рифампицин	-		1	3,0±3,0	1	0,8±0,8

Примечание. * - Достоверность различий ($p \leq 0,05$) между показателями у больных с воспалительными заболеваниями респираторного тракта и практически здоровых лиц.

Таблица 2

Чувствительность штаммов *Corynebacterium* spp. к антимикробным препаратам

Вид	МПК антимикробных препаратов, мг/л						
	Бензилпенициллин	Ципрофлоксацин	Моксифлоксацин	Ванкомицин	Тетрациклин	Линезолид	Рифампицин
Изоляты от больных с воспалительными заболеваниями респираторного тракта							
<i>C. amycolatum</i> R2	>0,125	>1,0	>0,5	≤2,0	>2,0	≤2,0	≤0,06
<i>C. amycolatum</i> R3	≤0,125	>1,0	≤0,5	≤2,0	≤2,0	≤2,0	≤0,06
<i>C. pseudodiphtheriticum</i> R7	≤0,125	≤0,001	≤0,5	≤2,0	≤2,0	≤2,0	≤0,06
<i>C. pseudodiphtheriticum</i> R9	≤0,125	≤0,001	≤0,5	≤2,0	≤2,0	>2,0	≤0,06
<i>C. pseudodiphtheriticum</i> R11	≤0,125	≤0,001	≤0,5	≤2,0	≤2,0	≤2,0	≤0,06
<i>C. afermentans</i> R12	>0,125	≤0,001	≤0,5	≤2,0	>2,0	≤2,0	≤0,06
<i>C. falsenii</i> R132	>0,125	≤0,001	≤0,5	≤2,0	≤2,0	≤2,0	≤0,06
<i>C. striatum</i> R546	>0,125	>1,0	>0,5	≤2,0	>2,0	>2,0	≤0,06
Изоляты от практически здоровых лиц							
<i>C. pseudodiphtheriticum</i> Дон2	≤0,125	≤0,001	≤0,5	≤2,0	≤2,0	≤2,0	≤0,06
<i>C. pseudodiphtheriticum</i> Дон4	>0,125	≤0,001	≤0,5	>2,0	≤2,0	≤2,0	>0,5
<i>C. pseudodiphtheriticum</i> Дон5	≤0,125	≤0,001	≤0,5	≤2,0	≤2,0	≤2,0	≤0,06
<i>C. pseudodiphtheriticum</i> Дон6	≤0,125	≤0,001	≤0,5	≤2,0	≤2,0	≤2,0	≤0,06

Примечание. Резистентность штаммов к АМП выделена темным фоном.

гинамицин, хинупристин, пристидамицин). Фено-тип гена *erm(X)* проявлялся у 4 штаммов наличием резистентности к клиндамицину и эритромицину, у 2 - только к клиндамицину, у одного штамма - отсутствовал.

При исследовании четырёх изолятов недифтерийных коринебактерий от практически здоровых лиц

выявлен только ген *erm(X)*, фенотипически проявляющийся резистентностью к клиндамицину. При этом у единственного штамма *C. pseudodiphtheriticum* Дон4, относящегося к категории МЛУ, генов резистентности к АМП не обнаружено (табл. 4).

Участок нуклеотидной последовательности с геном

Фено- и генотипические маркёры резистентности к АМП изолятов *Corynebacterium* spp. от больных с воспалительными заболеваниями респираторного тракта

Вид <i>Corynebacterium</i> spp.	Фенотип резистентности к АМП в соответствии с [15]	Категория	Гены	Фенотип генов резистентности к АМП
<i>C. amycolatum</i> R2	Бензилпенициллин Ципрофлоксацин Моксифлоксацин Гентамицин Эритромицин Клиндамицин Тетрациклин	ЭР	<i>erm(X)</i>	Клиндамицин Эритромицин
			<i>aph(3')-Ia, aph(3'')-Ib, aph(6)-Id, aac(3)-XI, strA, strB</i>	Гентамицин
			<i>tetAB(A)</i>	Тетрациклин
			<i>cmx</i>	Левомецетин
<i>C. amycolatum</i> R3	Ципрофлоксацин	-	<i>cmx</i>	-
<i>C. pseudodiphtheriticum</i> R7	Эритромицин Клиндамицин	-	<i>erm(X)</i>	Клиндамицин, Эритромицин
			<i>sulI</i>	Триметоприм-сульфаметоксазол
<i>C. pseudodiphtheriticum</i> R9	Линкомицин	-	<i>erm(X)</i>	-
			<i>cmx</i>	Левомецетин
<i>C. pseudodiphtheriticum</i> R11	Эритромицин Клиндамицин	-	<i>erm(X)</i>	Клиндамицин, Эритромицин
			<i>sulI</i>	Триметоприм-сульфаметоксазол
<i>C. afermentans</i> R12	Пенициллин Клиндамицин Тетрациклин	МЛУ	<i>erm(X)</i>	Клиндамицин
			<i>aph(3')-Ia, aph(3'')-Ib, aph(6)-Id, strA, strB</i>	Гентамицин
			<i>tetAB(A)</i>	Тетрациклин
			<i>cmx</i>	Левомецетин
<i>C. falsenii</i> R132	Бензилпенициллин Клиндамицин	-	<i>erm(X)</i>	Клиндамицин
<i>C. striatum</i> R546	Бензилпенициллин Ципрофлоксацин Моксифлоксацин Гентамицин Эритромицин Клиндамицин Тетрациклин Линкомицин	ЭР	<i>erm(X)</i>	Клиндамицин, Эритромицин
			<i>aph(3')-Ia, aph(3'')-Ib, aph(6)-Id, strA, strB</i>	Гентамицин
			<i>tetAB(A), tet(W)</i>	Тетрациклин
			<i>cmx</i>	Левомецетин

Фено- и генотипические маркёры резистентности к АМП изолятов *Corynebacterium* spp. от практически здоровых лиц

Вид	Фенотип резистентности к АМП в соответствии с [15]	Категория	Гены	Фенотип резистентности к АМП
<i>C. pseudodiphtheriticum</i> Дон 2	Клиндамицин	-	<i>erm(X)</i>	Клиндамицин
<i>C. pseudodiphtheriticum</i> Дон 4	Бензилпенициллин Клиндамицин Рифампицин	МЛУ	-	-
<i>C. pseudodiphtheriticum</i> Дон 5	Клиндамицин	-	<i>erm(X)</i>	Клиндамицин
<i>C. pseudodiphtheriticum</i> Дон 6	Клиндамицин	-	<i>erm(X)</i>	Клиндамицин

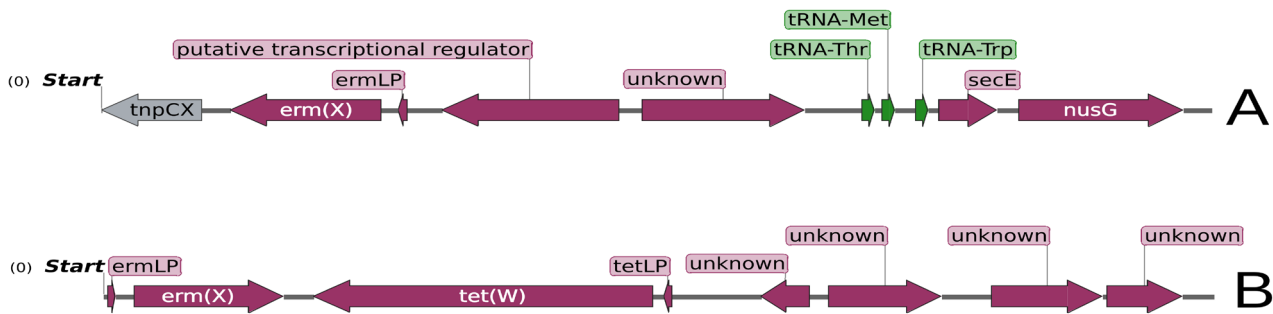


Рис.1. Участок нуклеотидной последовательности. А - с геном *erm(X)* у изолятов от больных с воспалительными заболеваниями респираторного тракта (*C. amycolatum* R2, *C. pseudodiphtheriticum* R7, R9, R11, *C. afermentans* R12, *C. falsenii* R132) и практически здоровых лиц (*C. pseudodiphtheriticum* Дон2, Дон5, Дон6); В - с генами *erm(X)* и *tet(W)* у *C. striatum* R546.

DNA Sequences	Translated Protein Sequences
Species/Abbrv	* *
1. <i>C. amycolatum</i> R3	a g c g c t c t c g c a a a c a c a g g a t t c c t c g c c
2. <i>C. striatum</i> 9438	a g c g c t c t c g c a a a c g c a g g a t t c c t c g c c
3. <i>C. afermentans</i> R12	a g c g c t c t c g c a a a c g c a g g a t t c c t c g c c
4. <i>C. pseudodiphtheriticum</i> R9	a g c g c t c t c g c a a a c g c a g g a t t c c t c g c c
5. <i>C. amycolatum</i> R2	a g c g c t c t c g c a a a c g c a g g a t t c c t c g c c
DNA Sequences	Translated Protein Sequences
Species/Abbrv	* *
1. <i>C. amycolatum</i> R3	T P V F S L L L I T R V L S A L A N T G F L A V A L S T A T T L V
2. <i>C. striatum</i> 9438	T P V F S L L L I T R V L S A L A N A G F L A V A L S T A T T L V
3. <i>C. afermentans</i> R12	T P V F S L L L I T R V L S A L A N A G F L A V A L S T A T T L V
4. <i>C. pseudodiphtheriticum</i> R9	T P V F S L L L I T R V L S A L A N A G F L A V A L S T A T T L V
5. <i>C. amycolatum</i> R2	T P V F S L L L I T R V L S A L A N A G F L A V A L S T A T T L V

Рис. 2. Фрагменты нуклеотидных и аминокислотных последовательностей у недифтерийных коринебактерий. А - фрагмент нуклеотидной последовательности гена *stmX* у штамма *C. amycolatum* R3 с мутацией G316A; В - фрагмент аминокислотной последовательности штамма *C. amycolatum* R3 с заменой A106T.

erm(X) у изолятов от больных с воспалительными заболеваниями респираторного тракта (*C. amycolatum* R2, *C. pseudodiphtheriticum* R7, R9, R11, *C. afermentans* R12, *C. falsenii* R132) и практически здоровых лиц (*C. pseudodiphtheriticum* Дон2, Дон5, Дон6) одинаков и представлен транспозазой (*tnpCX*), собственно геном *erm(X)*, а также *ermLP*, кодирующим лидирующий пептид, участвующий, как предполагают, в регуляции экспрессии гена *erm(X)* (рис. 1). По-видимому, у этих штаммов область с геном *erm(X)* локализована в составе хромосомы, о чём можно косвенно судить, ориентируясь на соседние гены, кодирующие белки структурных единиц рибосом, субъединицы РНК-полимеразы, различные тРНК. У *C. striatum* R546 локализация генов *ermLP/erm(X)* отличалась от остальных исследованных штаммов. Детерминанты устойчивости к макролидам и линкозамидам у этого штамма располагались рядом с геном *tet(W)*, которому предшествует ген *tetLP*, кодирующий предполага-

емый лидерный пептид. Расположение и ориентация этих четырёх генов соответствуют их локализации в плазмиде *pJA144188* [24], однако всей плазмиды в геноме этого изолята не обнаружено. Возможно, эти гены у *C. striatum* R546 интегрированы в хромосому в составе общего мобильного генетического элемента.

Другими относительно часто встречаемыми являлись гены *aph(3')-Ia*, *aph(3')-Ib*, *aph(6)-Id*, *tetAB(A)*, обнаруженные одновременно у трёх исследованных штаммов недифтерийных коринебактерий, которые проявили фенотипическую резистентность к гентамицину и тетрациклину (табл. 3). У исследованных изолятов *Corynebacterium* spp. выявлены гены резистентности к АМП, определение чувствительности к которым не регламентировано Клиническими рекомендациями [15]. У 5 клинических изолятов обнаружен ген *stmX*, фенотипически проявлявшийся у 4 из них резистентностью к левомицетину, у двух штаммов - ген *sull*, обусловивший резистентность к триметоприму-суль-

фаметоксазолу. Отсутствие фенотипической резистентности к левомицетину у штамма *C. amycolatum* R3 может быть связано с единичной нуклеотидной заменой G316A (рис. 2), приводящей к смене аминокислоты аланина на треонин (A106T). Вероятно, такая замена ведёт к утрате способности белка выполнять свою функцию, в результате чего штамм *C. amycolatum* R3 утратил резистентность к левомицетину.

В нуклеотидных последовательностях *cmx* у всех пяти штаммов встречались и другие единичные замены, однако они являлись синонимичными и не вели к замене аминокислот. Гены *aph(3'')-Ib*, *aph(6)-Id*, *cmx* расположены у штаммов *C. amycolatum* R2, *C. afermentas* R12, *C. striatum* R546 рядом, в одинаковой очерёдности и ориентации друг относительно друга. Здесь же расположен ген *tnpR*, кодирующий резолвазу - фермент, проводящий сайт-специфическую рекомбинацию и обеспечивающий перемещение ряда транспозонов, в частности, нечётного транспозона Tn3 [25]. Ген *aac(3)-XI* обнаружен только у штамма *C. amycolatum* R2. Ген *aph(3')-Ia* выявлен у изолятов *C. amycolatum* R2, *C. afermentas* R12, *C. striatum* R546. Судя по поиску в Blast, этот ген часто представлен в составе плазмид у микроорганизмов многих видов, родов и семейств. Ген *cmx* у штамма *C. amycolatum* R3 находится в составе транспозона на хромосоме, а у штамма *C. pseudodiphtheriticum* R9 может быть как на хромосоме, так и на плазмиде. Ген *tetAB(A)* обнаружен у трёх штаммов недифтерийных коринебактерий: *C. amycolatum* R2, *C. striatum* R546, *C. afermentas* R12. Этот ген может быть локализован у штаммов *C. amycolatum* R2 и *C. striatum* R546 как в составе плазмиды, так и хромосомы, тогда как у *C. afermentas* R12, по всей видимости, - в составе хромосомы. Рядом с геном *tetAB(A)* у этих трёх штаммов располагался парный ему ген, кодирующий АТФ-связывающую пермеазу *YheH*. Помимо этого, в данной области присутствуют ещё 7 генов. Весь указанный участок генома (около 9000 п.н.) аналогичен фрагменту плазмиды pTP10. Ген *sull* у штаммов *C. pseudodiphtheriticum* R7 и *C. pseudodiphtheriticum* R11 находится на хромосоме в окружении генов трансферазы и транспозазы.

Обсуждение. Большинство исследованных штаммов *Corynebacterium* spp. вне зависимости от источника выделения обладали фенотипической резистентностью к клиндамицину (74,2±1,1%). Резистентность к клиндамицину, относящемуся к линкозамидам, связывают с наличием гена *erm(X)*, который обнаружен у 10 из 12 штаммов недифтерийных коринебактерий, исследованных с помощью полногеномного секвенирования. Ген *erm(X)* кодирует у коринебактерий выработку фермента 23S рРНК-аденин-N-6-метилтрансферазы *erm(X)*, модифицирующего мишень для связывания антибиотика - 23S РНК, являющуюся компонентом 50S субъединицы рибосом бактерий. Приобретение микроорганизмами этого гена ведёт к развитию высокого уровня устойчивости к макролидам, линкозамидам, стрептограминам [5]. По нашим данным, наряду с доминирующей резистентностью изолятов *Corynebacterium* spp. к клиндамицину, только 12,9±2,8% из 132 исследованных штаммов

проявили фенотипическую резистентность к эритромицину. Устойчивость микроорганизмов к эритромицину обусловлена защитным действием продукта гена *erm(X)* ферментом эритромицинометилазой, метилирующей остаток аденина в молекуле 23S рибосомной РНК и, соответственно, предотвращающей связывание эритромицина с бактериальной клеткой. Несмотря на достаточно высокий уровень гомологии между генами *erm(X)* у различных видов коринебактерий (*C. diphtheriae*, *C. jeikeium*, *C. xerosis* и др.), их нуклеотидные последовательности имеют отличия и могут являться составной частью плазмид или быть интегрированными в хромосому [5]. По нашим данным, участок нуклеотидной последовательности с геном *erm(X)* представлен транспозазой (*tnpCX*), генами *erm(X)* и *ermLP*, которые расположены в одинаковой ориентации в составе хромосомы у изолятов от больных и практически здоровых лиц. Исключение составил штамм *C. striatum* R546, у которого ген *erm(X)* расположен рядом с геном *tet(W)* и, по всей видимости, может находиться как на плазмиде, так и быть интегрирован в хромосому в составе общего мобильного генетического элемента. Это свидетельствует о том, что для гена *erm(X)* характерен у исследованных изолятов коринебактерий, в основном, вертикальный путь передачи, но не исключен и горизонтальный. Одновременное наличие резистентности к клиндамицину и чувствительности к эритромицину у штаммов *Corynebacterium* spp., содержащих ген *erm(X)*, может быть связано с рядом факторов: наличие гена *ermLP*, регулирующего экспрессию *erm(X)* и, соответственно, продукцию фермента эритромицинометилазы; локализация гена *erm(X)* в хромосоме; особенности структуры гена *erm(X)*, предполагающими отсутствие аллели *erm(X)cd*, кодирующей резистентности к эритромицину. Следует учитывать особенности строения и состава клеточной стенки коринебактерий, содержащей гликолипид корд-фактор, миколовые и миколоновые кислоты.

У трёх исследованных штаммов недифтерийных коринебактерий обнаружены одновременно гены *aph(3')-Ia*, *aph(3'')-Ib*, *aph(6)-Id*, кодирующие продукцию аминокликозидмодифицирующих ферментов, и гены *tetAB(A)* и *tet(W)*, обеспечивающие выработку транспортных белков семейства MFS, кодирующих эффлюксные помпы для тетрациклинов и позволяющие бактериям синтезировать белок даже при связывании тетрациклина с рибосомальной мишенью. Наличие этих генов проявилось фенотипической резистентностью исследованных изолятов к гентамицину и тетрациклину соответственно. Гены *aph(3')-Ia*, *aph(3'')-Ib*, *aph(6)-Id*, *tetAB(A)*, *tet(W)* локализованы у исследованных штаммов недифтерийных коринебактерий в составе мобильных генетических элементов - транспозонов и могли находиться как в составе плазмид, так и хромосом.

Ген *cmx*, кодирующий хлорамфеникол-эффлюксный MFS транспортер *cmx*, и ген *sull*, ответственный за выработку невосприимчивой к сульфаниламидам дигидроптероат-синтазы, локализованы у изолятов *Corynebacterium* spp. в составе транспозона на хро-

мосоме. Клинические изоляты *Corynebacterium* spp. от больных с воспалительными заболеваниями респираторного тракта чаще проявляли фено- и генотипическую резистентность к АМП, чем изоляты от практически здоровых лиц. Это может быть связано с использованием АМП, способствующих селекции антибиотикорезистентных штаммов у больных с воспалительными заболеваниями респираторного тракта. Известно, что под действием АМП метаболизм у бактерий приостанавливается, вследствие чего они выживают, но не размножаются, изменяя свое морфологическое строение, химический состав и, возможно, патогенные свойства [26]. Имеются данные о том, что лечение пациентов АМП, даже способствует колонизации их организма *C. pseudodiphtheriticum*, вследствие чего коринебактерии могут увеличивать свой патогенный потенциал, переходя от комменсализма к паразитизму [27]. Популяция *Corynebacterium* spp., являющихся условно-патогенными микроорганизмами, гетерогенна и такие изменения, по всей видимости, касаются лишь определённой части представителей микробиоты, наиболее подверженных действию АМП.

У исследованных изолятов *Corynebacterium* spp. в составе мобильных генетических элементов выявлены гены *ctx* и *sull*, кодирующие резистентность к хлорамфениколу (левомецитину) и триметоприму-сульфаметоксазолу соответственно, а также обнаружена фенотипическая резистентность к этим препаратам, определение чувствительности к которым не регламентировано Клиническими рекомендациями [15].

Заключение. Фено- и генотипической резистентностью к АМП чаще обладали штаммы *Corynebacterium* spp., выделенные от больных с воспалительными заболеваниями респираторного тракта, чем от практически здоровых лиц. Среди изолированных на территории г. Ростова-на-Дону штаммов *Corynebacterium* spp. от больных с воспалительными заболеваниями респираторного тракта и практически здоровых лиц превалирует резистентность к клиндамицину, связанная с наличием гена *erm(X)*, локализованного в хромосоме и имеющего вертикальный путь распространения. Расположение других выявленных у коринебактерий генов резистентности к АМП (*aph(3')-Ia*, *aph(3'')-Ib*, *aph(6)-Id*, *tetAB(A)*, *tet(W)*, *ctx*, *sull*) в составе мобильных генетических элементов свидетельствует об их горизонтальном переносе, что, по всей видимости, может приводить к их быстрому распространению в популяции. Наличие фено- и генотипической резистентности к АМП у изолятов недифтерийных коринебактерий от больных с воспалительными заболеваниями респираторного тракта указывает на возможную взаимосвязь патогенных свойств и резистентности к АМП.

ЛИТЕРАТУРА (п.п. 1-14, 16-18, 20-25 см.
REFERENCES)

15. Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам : клинические рекомендации (EUCAST, 2023). - <https://www.antibiotic.ru/library/eucast-eucast-clinical-breakpoints-bacteria-13-0-rus/>.

19. Миронов А.Ю., Зур Н.В. Молекулярные маркеры патогенов. М.: Тираж; 2013.
20. Чеботарь И.В., Бочарова Ю.А., Гурьев А.С., Маянский Н.А. Стратегии выживания бактерий в условиях контакта с антибиотиками. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2020; 65 (2): 116-21.
21. Мангутов Э.О., Алиева А.А., Харсеева Г.Г., Воронина Н.А., Алексеева Л.П., Евдокимова В.В. и др. *Corynebacterium* spp.: взаимосвязь патогенных свойств и резистентности к антимикробным препаратам. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2022; 67 (9): 519-24.

REFERENCES

1. Valdoeiros S.R., Neves C.S., Carvalho J.A., Gonçalves C., Pereira P., Vasconcelos O. et al. Infection and colonization by *Corynebacterium pseudodiphtheriticum*: a 9-year observational study in a university central hospital. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2020; 39(9): 1745-52. DOI: 10.1007/s10096-020-03891-y.
2. Chauvelot P., Ferry T., Tafani V., Diot A., Tasse J., Conrad A. et al. Bone and joint infection involving *Corynebacterium* spp.: from clinical features to pathophysiological pathways. *Front Med. (Lausanne)*. 2021; 7: 539501. DOI: 10.3389/fmed.2020.539501.
3. Clariot S., Constant O., Lepeule R., Fihman V., Razazi K., Cook F. et al. Clinical relevance and impact of *Corynebacterium* isolation in lower respiratory tract of critically ill patients requiring mechanical ventilation. *Infection*. 2020; 48(3): 413-20. DOI: 10.1007/s15010-020-01411-w.
4. Marino A., Campanella E., Stracquadanio S., Ceccarelli M., Zagami A., Nunnari G. et al. *Corynebacterium striatum* bacteremia during SARS-CoV2 infection: case report, literature review, and clinical considerations. *Infectious Disease Reports*. 2022; 14(3): 383-90. DOI: 10.3390/idr14030042.
5. Leyton B., Ramos J.N., Baio P.V.P., Veras J.F.C., Souza C., Burkovski A. et al. Treat Me Well or Will Resist: uptake of mobile genetic elements determine the resistome of *Corynebacterium striatum*. *Int. J. Mol. Sci.* 2021; 22(14):7499. DOI: 10.3390/ijms22147499. PMID: 34299116; PMCID: PMC8304765.
6. Heggendorf L.H., Gomes S.W.C., Sant'Anna L.O., Longo L., Farsura A.F. et al. Virulence potential and characteristics of multidrug-resistant *Corynebacterium amycolatum* strains isolated from nosocomial infections. *Human Journals*. 2022; 22(4): 1-24. DOI: 10.25166/IJSRM/2022.22.4.2.
7. Aygün G., Midilli K., Çilingir H., Yılmaz M., Kütükçü A. ve Eker, E. A fatal case of urosepsis due to *Corynebacterium riegliei*. *Braz. J. Microbiol.* 2013; 44(2): 475-6. DOI: org/10.1590/S1517-83822013000200022.
8. Kang Y., Chen S., Zheng B., Du X., Li Z., Tan Z. et al. Epidemiological Investigation of Hospital Transmission of *Corynebacterium striatum* Infection by Core Genome Multilocus Sequence Typing Approach. *Microbiol. Spectr.* 2023; 11(1): e0149022. DOI:10.1128/spectrum.01490-22.
9. Wang X., Zhou H., Chen D., Du P., Lan R., Qiu X. et al. Whole-Genome Sequencing Reveals a Prolonged and Persistent Intra-hospital Transmission of *Corynebacterium striatum*, an Emerging Multidrug-Resistant Pathogen. *J. Clin. Microbiol.* 2019; 57(9): e00683-19. DOI: 10.1128/JCM.00683-19.
10. Wang X., Zhou H., Du P., Lan R., Chen D., Dong A. et al. Genomic epidemiology of *Corynebacterium striatum* from three regions of China: an emerging national nosocomial epidemic. *J. Hosp. Infect.* 2021; 110: 67-75. DOI: 10.1016/j.jhin.2020.10.005.
11. Yoon S., Kim H., Lee Y., Kim S. Bacteremia caused by *Corynebacterium amycolatum* with a novel mutation in *gyrA* gene that confers high-level quinolone resistance. *Korean J. Lab. Med.* 2011; 31(1): 47-8. DOI: 10.3343/kjlm.2011.31.1.47.
12. Reddy B.S., Chaudhury A., Kalawat U., Jayaprada R., Reddy G., Ramana B.V. Isolation, speciation, and antibiogram of clinically relevant non-diphtherial *Corynebacteria* (Diphtheroids). *Indian J. Med. Microbiol.* 2012; 30(1): 52-7. DOI: 10.4103/0255-0857.93033.

MICROBIOLOGY

13. Silva-Santana G., Silva C.M.F., Olivella J.G.B., Silva I.F., Fernandes L.M.O., Sued-Karam B.R. et al. Worldwide survey of *Corynebacterium striatum* increasingly associated with human invasive infections, nosocomial outbreak, and antimicrobial multidrug-resistance, 1976-2020. *Arch. Microbiol.* 2021; 203(5):1863-80. DOI: 10.1007/s00203-021-02246-1.
14. Alibi S., Ramos-Vivas J., Ben Selma W., Ben Mansour H., Boukadda J., Navas J. Virulence of clinically relevant multidrug resistant *Corynebacterium striatum* strains and their ability to adhere to human epithelial cells and inert surfaces. *Microb. Pathog.* 2021; 155: 104887. DOI: 10.1016/j.micpath.2021.104887.
15. Antimicrobial susceptibility testing: clinical guidelines (EUCAST, 2023). <https://www.antibiotic.ru/library/eucast-eucast-clinical-breakpoints-bacteria-13-0-rus/>.
16. Campanile F., Carretto E., Barbarini D., Grigis A., Falcone M., Goglio A. et al. Clonal multidrug-resistant *Corynebacterium striatum* strains, Italy. *Emerg. Infect. Dis.* 2009; 15(1): 75-8. DOI: 10.3201/eid1501.080804.
17. Ramos J.N., Souza C., Faria Y.V., da Silva E.C., Veras J.F.C., Baio P.V.P. et al. Bloodstream and catheter-related infections due to different clones of multidrug-resistant and biofilm producer *Corynebacterium striatum*. *BMC Infect. Dis.* 2019; 19(1): 672. DOI: 10.1186/s12879-019-4294-7.
18. Suh J.W., Ju Y., Lee C.K., Sohn J.W., Kim M.J., Yoon Y.K. Molecular epidemiology and clinical significance of *Corynebacterium striatum* isolated from clinical specimens. *Infect. Drug. Resist.* 2019; 12:161-71. DOI: 10.2147/IDR.S184518.
19. Mironov A.Yu., Zur N.V. Molecular markers of pathogens. Moscow: Tirazh; 2013. (in Russian)
20. Prjibelski A., Antipov D., Meleshko D., Lapidus A., Korobeynikov A. Using SPAdes De Novo Assembler. *Curr. Protoc. Bioinformatics.* 2020; 70(1): e102. DOI: 10.1002/cpbi.102.
21. Gurevich A., Saveliev V., Vyahhi N., Tesler G. QUAST: quality assessment tool for genome assemblies. *Bioinformatics.* 2013; 29(8): 1072-5. DOI: 10.1093/bioinformatics/btt086.
22. Feldgarden M., Brover V., Haft D.H., Prasad A.B., Slotta D.J., Tolstoy I. et al. Validating the AMRFinder tool and resistance gene database by using antimicrobial resistance genotype-phenotype correlations in a collection of isolates. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2019; 63(11): e00483-19. DOI: 10.1128/AAC.00483-19.
23. Kumar S., Stecher G., Li M., Knyaz C., Tamura K. MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Mol. Biol. Evol.* 2018; 35(6):1547-9. DOI: 10.1093/molbev/msy096.
24. Schroder J., Maus I., Meyer K., Wördemann S., Blom J., Jaenicke S. et al. Complete genome sequence, lifestyle, and multi-drug resistance of the human pathogen *Corynebacterium resistens* DSM 45100 isolated from blood samples of a leukemia patient. *BMC Genomics.* 2012; 13: 141. DOI: 10.1186/1471-2164-13-141.
25. Montañó S.P., Rowland S.J., Fuller J.R., Burke M.E., MacDonald A.I., Boocock M.R. et al. Structural basis for topological regulation of Tn3 resolvase. *Nucleic. Acids Res.* 2023; 51(3): 1001-18. DOI: 10.1093/nar/gkac733.
26. Chebotar' I.V., Bocharova Y.A., Gur'ev A.S., Mayansky N.A. Bacteria survival strategies in contact with antibiotics. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika.* 2020; 65(2): 116-21. DOI: 10.18821/0869-2084-2020-65-2-116-121. (in Russian)
27. Mangutov E.O., Alieva A.A., Kharseeva G.G., Voronina N.A., Alekseeva L.P., Evdokimova V.V. et al. *Corynebacterium* spp.: relationship of pathogenic properties and antimicrobial resistance. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika.* 2022; 67(9): 519-24. DOI: 10.51620/0869-2084-2022-67-9-519-524. (in Russian)

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2023

Петрова О.А., Червинец В.М., Червинец Ю.В., Михайлова Е.С., Григорьянц Э.О.,
Леонтьева А.В., Самоукина А.М.

ФОРМИРОВАНИЕ КИШЕЧНОЙ МИКРОБИОТЫ НЕДОНОШЕННЫХ НОВОРОЖДЕННЫХ ДЕТЕЙ, ПОЛУЧАВШИХ И НЕ ПОЛУЧАВШИХ КУРС АНТИБИОТИКОВ И ПРОБИОТИКОВ

ФГБОУ ВО Тверской государственный медицинский университет Минздрава РФ, 170100, г. Тверь, Россия

*Цель работы - мониторинг состава микрофлоры толстого кишечника у недоношенных новорожденных детей без и после приёма антибиотиков и пробиотиков. В исследование включены 30 недоношенных детей без приёма антибиотиков и пробиотиков (контрольная группа), 30 недоношенных новорожденных детей после приёма пробиотиков, 30 недоношенных новорожденных детей после назначения антибиотиков. Проведено культуральное исследование с применением оптимальных питательных сред (HiMedia, Индия) и тест-систем для идентификации (bio Mérieux Vitek, Inc, Индия). В кишечной микрофлоре у недоношенных новорожденных на фоне приёма пробиотиков по сравнению с детьми, не получавшими антимикробные препараты (АМП), чаще изолировались *Stomatococcus spp.*, *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Bacteroides spp.*, *Escherichia coli*, *Lactobacillus spp.*, *Staphylococcus epidermidis*. Реже выделялись *Micrococcus spp.*, *Clostridium spp.*, *Peptococcus spp.* На фоне приёма АМП по сравнению с контрольной группой реже изолировались *Bifidobacterium spp.*, *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Peptococcus spp.* Чаще выделялись *Candida albicans*, *Bacillus subtilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus epidermidis*, *Clostridium spp.*, *Bacteroides spp.*, *Enterococcus faecalis*. Только после курса АМП в 4-8% появлялись *Veillonella spp.*, *Proteus mirabilis*, *Bacillus megaterium*. Пробиотики в отличие от АМП улучшают нормобиоценоз и в некоторых случаях более эффективно угнетают патогенную и условно-патогенную микрофлору.*

Ключевые слова: кишечник; микробиота; дисбактериоз; недоношенные новорождённые; антибиотики; пробиотики; терапия.

Для цитирования: Петрова О.А., Червинец В.М., Червинец Ю.В., Михайлова Е.С., Григорьянц Э.О., Леонтьева А.В., Самоукина А.М. Формирование кишечной микробиоты недоношенных новорожденных детей, получавших и не получавших курс антибиотиков и пробиотиков. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2023; 68 (6): 365-370 DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2023-68-6-365-370>

Для корреспонденции: Петрова Ольга Александровна, аспирант каф. микробиологии и вирусологии с курсом иммунологии; e-mail: ollgap@mail.ru

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Поступила 28.03.2023
Принята к печати 07.04.2023
Опубликовано 05.06.2023

Petrova O.A., Chervinets V.M., Chervinets Yu.V., Mikhailova E.S., Grigoryants E.O., Leontieva A.V., Samoukina A.M.
FORMATION OF THE INTESTINAL MICROBIOTA OF PREMATURE NEWBORNS WHO RECEIVED AND DID NOT RECEIVE A COURSE OF ANTIBIOTICS AND PROBIOTICS

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education Tver State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Tver

*To monitor the composition of the microflora of the large intestine in premature newborns without and after taking antibiotics and probiotics. The study included 30 premature infants without antibiotics and without probiotics, 30 premature newborns after taking probiotics, and 30 premature newborns after prescribing antibiotics. A bacteriological study was conducted using optimal culture media (HiMedia, India) and identification systems (bio Mérieux Vitek, Inc). *Stomatococcus spp.*, *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Bacteroides spp.*, *Escherichia coli*, *Lactobacillus spp.*, and *Staphylococcus epidermidis* were more often isolated in the intestinal microflora of premature newborns while taking probiotics compared to children who did not receive antibacterial drugs. *Micrococcus spp.*, *Clostridium spp.*, *Peptococcus spp.*, were less frequently isolated. Against the background of taking antibiotics, compared with the control group, *Bifidobacterium spp.*, *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Peptococcus spp.* were isolated less often. However, *Candida albicans*, *Bacillus subtilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus epidermidis*, *Clostridium spp.*, *Bacteroides spp.* and *Enterococcus faecalis* were isolated more often. The use of probiotics, in contrast to antibiotics, improves the normabiocenosis and, like antibiotics, in some cases more effectively inhibit pathogenic and conditionally pathogenic microflora.*

Key words: intestines; microbiota; dysbiosis; premature newborns; antibiotics; probiotics; therapy.

For citation: Petrova O.A., Chervinets V.M., Chervinets Yu.V., Mikhailova E.S., Grigoryants E.O., Leontieva A.V., Samoukina A.M. Formation of the intestinal microbiota of premature newborns without and after taking antibiotics and probiotics. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2023; 68 (6): 365-370 (in Russ.) DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2023-68-6-365-370>

For correspondence: Petrova O.A., PhD student of the Department of Microbiology and Virology with a Course in Immunology; e-mail: ollgap@mail.ru

Information about authors:

Petrova O. A., <https://orcid.org/0000-0002-9127-8600>;
Chervinets V. M., <https://orcid.org/0000-0001-5304-1963>;
Chervinets Yu. V., <https://orcid.org/0000-0001-9209-7839>;

Mikhailova E. S., <https://orcid.org/0000-0002-4757-3303>;
Grigoryants E. O., <https://orcid.org/0000-0003-4712-3043>;
Leontyeva A. V., <https://orcid.org/0000-0002-4641-9718>;
Samoukina A. M., <https://orcid.org/0000-0002-9405-0142>.

Conflict of interests. *The authors declare absence of conflict of interests.*

Acknowledgment. *The study had no sponsor support.*

Received 28.03.2023

Accepted 07.04.2023

Published 05.06.2023

Введение. Ведущая роль в нормализации видового спектра и функций кишечной микрофлоры принадлежит пробиотикам [1-4]. Важным свойством пробиотиков является обеспечение колонизационной резистентности кишечника за счёт конкурентного антагонизма с патогенными и условно-патогенными микроорганизмами (УПМ) и участия в иммунной защите [5-8].

Пробиотики, используемые в клинической практике, должны быть стандартизированы [11]. Исходя из полученных данных *L. rhamnosus* и *L. paracasei* являются перспективными для конструирования новых пробиотиков для коррекции микробиома у новорожденных детей [22,25]. Лактобациллы отличаются друг от друга ферментативной активностью, способностью к адгезии и активностью по отношению к условно-патогенным и патогенным микроорганизмам [21,29 - 31]. Пробиотики нового поколения способны продуцировать рекомбинантные белки - цитокины, ферменты. У младенцев, страдающих коликами, отмечается малое количество лактобацилл, большое количество грамотрицательных бактерий, в том числе, *Escherichia coli*, *Klebsiella* [9]. Повышенное содержание *E. coli* в сочетании со сниженным уровнем лактобацилл может спровоцировать избыточное газообразование в кишечнике и дискоординацию кишечной моторики. В одних исследованиях выявляют доминирование определённых штаммов *Lactobacillus* при коликах, в других - у детей обнаруживают иные разновидности *Bifidobacterium* и *Lactobacillus* [10]. Пробиотики обеспечивают снижение частоты пищеварительных дисфункций у недоношенных пациентов [12]. В мультицентровых исследованиях показано, что комбинированный пробиотик, содержащий *B. bifidum* и *L. acidophilus*, позволил сократить частоту некротического энтероколита у недоношенных детей [13,14].

Метаболиты *Escherichia coli*, *Streptococcus faecalis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus helveticus* способствуют выживанию симбионтной микрофлоры, и в то же время могут тормозить рост патогенной микрофлоры [15].

АМП негативно влияют на спектр и количество нормальной микробиоты как во время, так и после их приёма. У недоношенных новорожденных, которым назначают АМП резерва, нарушается формирование нормомикробиоценоза и отмечается усиленный рост резистентных патогенных микроорганизмов и УПМ [16]. У новорождённых детей, получавших антибактериальную терапию, могут развиваться осложнения в виде псевдомембранозного колита с уменьшением

количества *Bifidobacteria animalis* и привести к нарушению баланса микрофлоры [17]. Показано, что новорождённые, получающие ампициллин и гентамицин в первые сутки жизни, содержат в кишечнике большое количество *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Lactobacillus* [18]. При применении АМП в фекальной микробиоте отмечено большое количество стафилококков и грибов рода *Candida* [19]. В литературе имеются противоречивые сведения о действии АМП на формирование нормальной микробиоты новорожденных.

Применение пробиотиков, в отличие от АМП, улучшает нормобиоценоз и так же, как и АМП, в некоторых случаях более эффективно угнетает патогенную микрофлору и УПМ [23]. Для восстановления адекватной микробиоты необходима коррекция с использованием препаратов, обладающих антимикробной активностью и иммуномодулирующими свойствами [24]. Пробиотики и антибиотики дополняя друг друга образуют единую симбиотическую систему [26,27,28].

Цель исследования - провести мониторинг состава микрофлоры толстого кишечника у недоношенных новорожденных детей, получавших и не получавших курс антибиотиков и пробиотиков.

Материал и методы. Проведено исследование микрофлоры биотопов у 30 недоношенных детей, не получавших антимикробные препараты (АМП) и пробиотики в первые 5 суток жизни ребёнка (1-я группа), 30 недоношенных новорожденных детей, получавших пробиотики (2-я группа), 30 недоношенных новорожденных детей после курса АМП (3-я группа).

Во 2-й группе взятие материала производилось на фоне приёма пробиотика в течение не менее 5 дней. 90% детей принимали бифидумбактерии 5 доз ежедневно, 5% биогай (пробиотик, содержащий *Lactobacilli reuteri Protectis*), 4% линекс (эубиотик), 1% нормабакт (БАД-синбиотик). Пробиотики и пребиотики назначаются с целью снижения риска энтероколита у недоношенных детей и для коррекции дисбиотических расстройств. С февраля 2017 года руководствуются Глобальными практическими рекомендациями Всемирной Гастроэнтерологической Организации [20].

В 3-й группе обследованных детей взятие материала производилось через 7 дней после отмены АМП. Показанием к назначению АМП являлось клиническое состояние ребёнка, признаки воспаления в клиническом анализе крови и выявление многокамерных кист при ультразвуковом исследовании головного мозга и т. п.

Согласно приказа Минздрава РФ новорожденным

недоношенным детям с дисбиотическими расстройствами кишечника, симптомом срыгивания, неблагоприятным изменением в клиническом анализе крови, отрицательной весовой кривой и т. п. назначают курс группы полусинтетических пенициллинов и с целью усиления антибактериальной терапии 30% новорожденным - аминогликозиды, 20% - макролиды и 10% - гликопептиды и карбопенем¹.

Работа проводилась с разрешения этического комитета ФГБОУ ВО Тверской ГМУ Минздрава России. Материал собирали в стерильные пробирки, в течение 2-х часов доставляли в бактериологическую лабораторию Тверского ГМУ. Для выделения факультативно анаэробных и аэробных бактерий использованы следующие питательные среды: хромогенный селективный агар для уропатогенных кишечных бактерий, маннит-солевой агар (M118) - для стафилококков, агар Бэарда-Паркера - для выявления лецитиназной активности, HiCrome Bacillus Agar для обнаружения и идентификации бацилл, МРС лактоагар - для лактобацилл, HiCrome Enterococcus faecium Agar - для энтерококков, желчно-эскулиновый агар - для бактероидов, шоколадный агар - для нейссерий, хромогенные среды для выявления грибов рода *Candida*, HiCrom Listeria Agar - для листерий, Mitis Salivarius Agar - для стрептококков (HiMedia). Для культивирования анаэробов использован бифидоагар и кровяной агар Шедлера.

Идентификация выделенных микроорганизмов проводилась по культуральным, морфологическим, тинкториальным свойствам. Биохимическая активность определялась с использованием API систем (bioMérieux). Количество выделенных микроорганизмов выражали в lg КОЕ/мл или КОЕ/г.

Статистическую обработку материала проводили с использованием программы «STATISTICA» (StatSoftRussia). Статистическую обработку результатов проводили с использованием критерия Фишера, различия считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты. Из содержимого толстой кишки недоношенных новорожденных, не получавших пробиотиков и АМП, выделялись *Staphylococcus epidermidis* в 66%, *Enterococcus spp.* в 56%, *Staphylococcus aureus* и *Peptostreptococcus spp.* по 44%,

Escherichia coli в 39%, *Peptococcus spp.* *Klebsiella pneumonia* и *Lactobacillus spp.* по 33%, *Micrococcus spp.* и *Proteus spp.* по 28%, *Stomatococcus spp.*, *Clostridium spp.*, *Bacteroides spp.* *Bifidobacterium spp.*, *Bacillus subtilis* и *Enterococcus faecalis* по 22%, *Streptococcus spp.* и *Bacillus spp.* по 17%, *Enterococcus faecium* в 11%, в 9% - *Candida spp.*, *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Actinomyces spp.* и другие бактерии семейства *Enterobacteriaceae* (см. рисунок).

Количество микробиоты колебалось от 6 lg КОЕ/мл до 8 lg КОЕ/мл у *Enterococcus spp.*, *Peptostreptococcus spp.*, *Lactobacillus spp.*, *Proteus spp.*, *Clostridium spp.*, *Bacteroides spp.* *Bifidobacterium spp.*, *Bacil-*

lus subtilis, *Streptococcus spp.*, *Enterococcus faecium*, *Actinomyces spp.*; от 4 lg КОЕ/мл до 6 lg КОЕ/мл у *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Stomatococcus spp.*, *Micrococcus spp.*, *Peptococcus spp.*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia*, *Candida spp.*, *Bacillus spp.*, *Enterobacteriaceae* и меньше 4 lg КОЕ/мл у *Candida albicans*.

В содержимом толстой кишки у недоношенных новорожденных на фоне приема только пробиотиков выделялись в 76% *Staphylococcus epidermidis*, в 54% - *Klebsiella pneumonia*, в 53% - *Enterococcus spp.* и *Escherichia coli*, в 46% - *Stomatococcus spp.*, *Peptostreptococcus spp.*, *Enterococcus faecalis* и *Lactobacillus spp.*, в 23% - *Staphylococcus aureus*, *Listeria spp.* и *Bifidobacterium spp.*, в 38% *Bacteroides spp.*, в 15% - *Peptococcus spp.*, *Pseudomonas spp.* и *Bacillus spp.*; в 7% - *Micrococcus spp.*, *Clostridium spp.*, *Enterococcus faecium*, *Yersinia spp.*

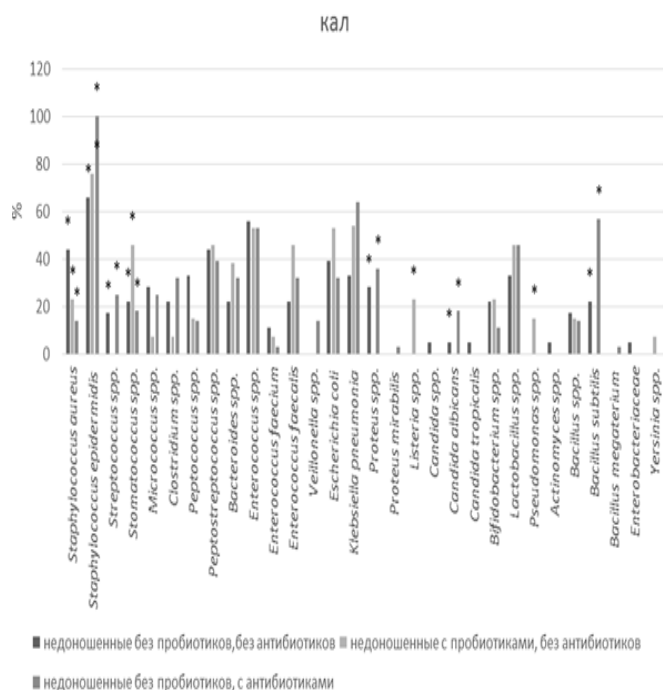
Количество микроорганизмов составляло от 6 lg КОЕ/мл до 8 lg КОЕ/мл у *Klebsiella pneumonia*, *Enterococcus spp.*, *Escherichia coli*, *Peptostreptococcus spp.*, *Enterococcus faecalis*, *Lactobacillus spp.*, *Bifidobacterium spp.*, *Bacteroides spp.*, *Peptococcus spp.*, *Bacillus spp.*, *Clostridium spp.*, *Enterococcus faecium*, *Yersinia spp.*; от 4 lg КОЕ/мл до 6 lg КОЕ/мл у *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Stomatococcus spp.*, *Micrococcus spp.*, *Listeria spp.*, *Pseudomonas spp.*

В содержимом толстой кишки у недоношенных новорожденных, не получавших пробиотиков, и после курса АМП выделялись *Staphylococcus epidermidis* в 100%, *Klebsiella pneumonia* в 64%, *Bacillus subtilis* в 57%, *Enterococcus spp.* в 53%, *Lactobacillus spp.* в 46%, *Peptostreptococcus spp.* в 39%, *Proteus spp.* в 36%, *Clostridium spp.*, *Enterococcus faecalis* *Bacteroides spp.*, *Escherichia coli* по 32%, *Streptococcus spp.* и *Micrococcus spp.* по 25%, *Stomatococcus spp.* и *Candida albicans* по 18%, *Peptococcus spp.*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus spp.* и *Veillonella spp.* по 14%, *Bifidobacterium spp.* в 11%, *Enterococcus faecium*, *Bacillus megaterium* и *Proteus mirabilis* по 3%.

Количество микробиоты колебалось от 6 lg КОЕ/мл до 7 lg КОЕ/мл у *Klebsiella pneumonia*, *Bacillus subtilis*, *Enterococcus spp.*, *Clostridium spp.*, *Enterococcus faecalis*, *Bacteroides spp.*, *Streptococcus spp.*, *Peptococcus spp.*, *Bacillus spp.*, *Veillonella spp.*, *Enterococcus faecium*, *Bacillus megaterium*, *Proteus mirabilis*; от 4 lg КОЕ/мл до 6 lg КОЕ/мл у *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Stomatococcus spp.*, *Micrococcus spp.*, *Peptostreptococcus spp.*, *Escherichia coli*, *Proteus spp.*, *Candida albicans*, *Bifidobacterium spp.*, *Lactobacillus spp.* и *Bacillus megaterium*.

Обсуждение. В содержимом толстого кишечника (см. рисунок) после курса АМП по сравнению с контрольной группой в 2 раза реже изолировались *Bifidobacterium spp.*, в 3,5 раза - *Enterococcus faecium*, в 3 раза - *Staphylococcus aureus*, в 2,3 раза - *Peptococcus spp.* В 3,5 раза чаще изолировались *Candida albicans*,

¹Приказ Минздрава РФ № 1130н 20 октября 2020 г. Об утверждении порядка оказания медицинской помощи по профилю «Акушерство и гинекология».



Частота встречаемости микроорганизмов в содержимом толстой кишки недоношенных новорожденных, получающих и не получающих АМП и пробиотики.

* - достоверно значимые значения для микроорганизмов при $p < 0,05$.

в 2,5 раза - *Bacillus subtilis*, в 1,9 раза - *Klebsiella pneumonia*, в 1,5 раза - *Staphylococcus epidermidis*, *Clostridium spp.*, *Bacteroides spp.* и *Enterococcus faecalis*. Только после курса АМП в 4-8% появлялись *Veillonella spp.*, *Proteus mirabilis*, *Bacillus megaterium*, в количестве 4,3-6,5 lg КОЕ/г.

У недоношенных новорожденных на фоне приёма пробиотиков по сравнению с контрольной группой в 2 раза чаще изолировались *Stomatococcus spp.*, *Enterococcus faecalis*, в 1,6 раза *Klebsiella pneumonia*, *Bacteroides spp.*, в 1,3 раза *Escherichia coli*, на 13% *Lactobacillus spp.*, на 10% *Staphylococcus epidermidis*. Реже в 4 раза выделялись *Micrococcus spp.*, в 3 раза - *Staphylococcus aureus*. Только на фоне пробиотиков появлялись *Listeria spp.*, *Pseudomonas spp.* и *Yersinia spp.*, в количестве 4,7-6,5 lg КОЕ/г.

Заключение. В содержимом толстого кишечника пробиотики и АМП в 1,5 раза ($p=0,786$) повышали выделяемость лактобацилл. Антимикробные препараты в 2 раза ($p=0,446$) снижали высеваемость бифидобактерий, пробиотики не изменяли частоту их выделяемости. Пробиотики стимулировали выделение *E. coli* в 1,5 раза ($p=0,281$), *Enterococcus faecalis*, *Stomatococcus spp.* и *Klebsiella pneumonia* в 2,5 раза ($p=0,181$), уменьшали частоту выделения в 2-4 раза ($p=0,273$) *Clostridium spp.*, *Micrococcus spp.*, *Peptococcus spp.*, *Staphylococcus aureus*. АМП, в отличие от пробиотиков, стимулировали рост клостридий, *Candida albicans*, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus subtilis*.

Применение пробиотиков, в отличие от антимикробных препаратов, улучшает формирование нормального микробиома у новорожденных и в некоторых случаях более эффективно угнетает патогенную микрофлору и УПМ.

ЛИТЕРАТУРА (п п . 6 , 7 , 1 4 , 1 8 , 2 0 , 3 1 с м .
 REFERENCES)

- Ковтун А. В., Яковенко А. В., Иванов А. Н., Прянишникова А. С., Васильев И. В., Агафонова Н. А., Яковенко Э. П. Использование пробиотиков в клинической практике. *Лечащий врач*. 2011; 10: 1-10. URL: <https://www.lvrach.ru/2011/10/15435284> (дата обращения: 20.06.2018).
- Захарова И.Н., Ардатская М.Д., Сугян Н.Г. Влияние мультиштаммового пробиотика на метаболическую активность кишечной микрофлоры у детей грудного возраста с функциональными нарушениями желудочно-кишечного тракта: результаты плацебоконтролируемого исследования. *Вопросы современной педиатрии*. 2016; 15(1): 68-73. DOI: 10.15690/vsp.v15i1.1501.
- Федотова Г.В., Вахлова И.В., Боронина Л.Г., Саматова Е.В. Метаболические аспекты состояния микробиоты кишечника у недоношенных детей. *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии*. 2016; 26(5): 44.
- Корниенко Е.А., Кубалова С.С. Роль лактазной недостаточности и кишечной микрофлоры в развитии функциональных расстройств желудочно-кишечного тракта у детей первого полугодия жизни. *Вопросы современной педиатрии*. 2013; 12(4): 159-65.
- Смирнова Г.И. Микробиота кишечника и использование пробиотиков в профилактике и лечении атопического дерматита у детей. *Лечащий врач*. 2016; 1: 1-11. - URL: <https://www.lvrach.ru/2016/01/15436371> (дата обращения: 30.06.2018).
- Хавкин А.И. Опыт применения пробиотического штамма *L. rhamnosus GG* в педиатрии. *Вопросы практической педиатрии*. 2014; 9(4): 58-65.
- Захарова И.Н., Кафарская Л.Н. Микробиота кишечника у детей: новые представления. *Педиатрия*. 2012; 5: 52-60.
- Беляева И.А. Пробиотические добавки для коррекции младенческих коликов: перспективы использования. *Эффективная фармакотерапия*. 2015; 41: 14-8.
- Приворотский В.Ф., Бельмер С.В., Чернова Т.М. Инновации в коррекции кишечного микробиоценоза у детей – есть ли преимущества у мультипробиотиков? *Эффективная фармакотерапия*. 2016; 7: 24-32.
- Беляева И.А., Бомбардинова Е.П. Онтогенез и дизонтогенез микробиоты кишечника у детей раннего возраста: триггерный механизм нарушений детского здоровья. *Вопросы современной педиатрии*. 2017; 16(1): 29-38.
- Гончар Н.В., Ло Скиаво Л.А., Суворов А.Н. Влияние использования пробиотического штамма энтерококка на динамику массы тела, снижение частоты осложнений и изменения микробиоты кишечника у глубоко недоношенных новорожденных детей. *Вопросы детской диетологии*. 2016; 14(1): 5-14.
- Хавкин А.И., Комарова О.Н. Продукты метаболизма кишечной микрофлоры: возможна ли избирательная коррекция? *Вопросы современной педиатрии*. 2015; 14(2): 212-8. DOI: 10.15690/vsp.v14i2.1289.
- Мальгина О.Г., Бажукова Т.А. Влияние антибиотиков на формирование микробиологии у недоношенных детей с низкой и экстремально низкой массой тела при рождении. *Журнал микробиологии*. 2014; 1: 61-5.
- Чернышева О.Е. Выбор пробиотика у детей первого года жизни: анализ лечебного и профилактического действия. *Журнал «Здоровье ребенка»*. 2016; 2: 114-6.
- Беляева И. А., Бомбардинова Е. П., Турти Т. В., Митиш М. Д., Потехина Т. В. Кишечная микробиота у недоношенных детей - современное состояние проблемы (обзор литературы). *Педиатрическая фармакология*. 2015; 12(3): 296-303.
- Глобальные практические рекомендации Всемирной Гастроэн-

- терологической Организации от февраля 2017 г. - URL: <https://www.worldgastroenterology.org/UserFiles/file/guidelines/probiotics-and-prebiotics-russian.2017.pdf>.
- Червинец В.М., Червинец Ю.В., Беляева Е.А., Лебедев С.Н., Чаркова А.Р., Трошин А.В. и др. Сравнительная характеристика лактобацилл, выделенных из фекалий здоровых людей, проживающих в Российской Федерации и Казахстане. *Современные проблемы науки и образования*. 2016; 6: 72-8.
 - Червинец В.М., Червинец Ю.В., Петрова О.А., Кравчук Э.С. Метаболическая активность лактобацилл желудочно-кишечного тракта человека. *Журнал Микробиология: от микроскопа до геномного анализа*. Санкт-Петербург 17-18 мая 2018; 175.
 - Петрова О.А., Червинец В.М., Червинец Ю.В. Формирование микробиоты и местного гуморального иммунитета полости рта и желудка у недоношенных новорожденных детей без и после приема антибиотиков и пробиотиков. *Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. Ю.А. Овчинникова*. 2021; 17(2): 55-63.
 - Червинец В. М., Миронов А. Ю., Червинец Ю. В., Базлов С.Н. Состояние и значение микробиоценозов пищевода, желудка, двенадцатиперстной кишки при язвенной болезни, хроническом гастрите, эзофагите. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2020; 65(1): 42-9.
 - Червинец В. М., Червинец Ю. В., Петрова О. А., Антонова Л. К., Погасян С. В., Ганина Е. Б., Миронов А. Ю. Микробиота желудочно-кишечного тракта новорожденных первого месяца жизни в Тверской области. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2018; 63(9): 579-83.
 - Червинец Ю.В., Червинец В.М., Шендеров Б.А. Современные представления о биотехнологическом потенциале симбиотической микробиоты человека. *Верхневолжский медицинский журнал*. 2018; 17(1): 19-26.
 - Червинец Ю.В., Червинец В.М., Миронов А.Ю. Симбиотические взаимоотношения лактобацилл и микроорганизмов желудочно-кишечного тракта. Монография. *Тверь: Тверская государственная медицинская академия*; 2016.
 - Червинец В.М., Червинец Ю.В., Борисова С.С., Петрова О.А., Антонова Л.К. Динамика колонизации микробиотой недоношенных детей на первой неделе жизни. В книге: *Материалы XI съезда Всероссийского научно-практического общества эпидемиологов, микробиологов и паразитологов «Обеспечение эпидемиологического благополучия: вызовы и решения»*. М.: 2017: 494.
 - Червинец В.М., Червинец Ю.В., Чичановская Л.В., Ганзя Д.В., Григорьянц Э.О., Беляев В.С., Миронов А.Ю. Спектр газовых сигнальных молекул кишечных лактобацилл у больных ишемическим инсультом. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2022; 67(3): 41-8.
 - Червинец В.М., Червинец Ю.В., Леонтьева А.В., Козлова Е.А., Стулов Н.М., Беляев В.С., Григорьянц Э.О., Миронов А.Ю. Микробиом полости рта у больных пародонитом, адгезивные и био пленкообразующие свойства. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2021; 66(1): 45-51.
 - intestinal microflora in the development of functional disorders of the gastrointestinal tract in children of the first half of life. *Voprosy sovremennoy pediatrii*. 2013; 12(4): 159-65. (in Russian)
 - Smirnova G.I. Gut microbiota and the use of probiotics in the prevention and treatment of atopic dermatitis in children. *Lechashchiy vrach*. 2016; 1:1-11. URL: <https://www.lvrach.ru/2016/01/15436371> (accessed: 30.06.2018). (in Russian)
 - Li M., Wang M., Donovan S.M. Early development of the gut microbiome and immune-mediated childhood disorders. *Semin. Reprod. Med*. 2014; 32 (1): 74-86.
 - Kalliomäki M., Antoine J.M., Herz U., Rijkers G.T., Wells J.M., Mercenier A. Guidance for substantiating the evidence for beneficial effects of probiotics: prevention and management of allergic diseases by probiotics. *J. Nutr*. 2010; 140 (3): 713-21.
 - Khavkin A.I. Experience in the use of probiotic strain *L. rhamnosus* GG in pediatrics. *Voprosy prakticheskoy pediatrii*. 2014; 9(4): 58-65. (in Russian)
 - Zakharova I.N., Kafarskaya L.N. Gut microbiota in children: new ideas. *Pediatriya*. 2012; 5: 52-60. (in Russian)
 - Belyaeva I.A. Probiotic supplements for the correction of infant colic: prospects of use. *Effektivnaya farmakoterapiya*. 2015; 41: 14-8. (in Russian)
 - Privorotsky V.F., Belmer S.V., Chernova T.M. Innovations in the correction of intestinal microbiocenosis in children - do multiprobiotics have advantages? *Effektivnaya farmakoterapiya*. 2016; 7: 24-32. (in Russian)
 - Belyaeva I.A., Bombardirova E.P. Ontogenesis and dysontogenesis of intestinal microbiota in young children: trigger mechanism of disorders of children's health. *Voprosy sovremennoy pediatrii*. 2017; 16(1): 29-38. (in Russian)
 - Gonchar N.V., Lo Schiavo L.A., Suvorov A.N. The effect of using a probiotic strain of enterococcus on body weight dynamics, reducing the frequency of complications and changes in the intestinal microbiota in preterm infants. *Voprosy detskoy dietologii*. 2016; 14 (1): 5-14. (in Russian)
 - Szajewska H., Guandalini S., Morelli L., van Goudoever J.B., Walker A. Effect of Bifidobacterium animalis subsp lactis Supplementation in Preterm Infants: A Systematic Review of Randomized Controlled Trials. *JPGN*. 2010; 51: 203-9.
 - Khavkin A.I., Komarova O.N. Products of intestinal microflora metabolism: is selective correction possible? *Voprosy sovremennoy pediatrii*. 2015; 14(2): 212-8. DOI: 10.15690/vsp.v14i2.1289. (in Russian)
 - Malygina O.G., Bazhukova T.A. The effect of antibiotics on the formation of microecology in premature infants with low and extremely low birth weight. *Zhurnal mikrobiologii*. 2014; 1: 61-5. (in Russian)
 - Chernysheva O.E. The choice of probiotic in children of the first year of life: analysis of therapeutic and preventive action. *Zhurnal "Zdorov'e rebyonka"*. 2016; 2: 114-6. (in Russian)
 - Fouhy F., Guinane C.M., Hussey S., Wall R., Ryan C.A., Dempsey E.M. et al. High-throughput sequencing reveals the incomplete, short-term recovery of infant gut microbiota following parenteral antibiotic treatment with ampicillin and gentamicin. *Antimicrob. Agents Chemother*. 2012; 56: 58-61.
 - Belyaeva I. A., Bombardirova E. P., Turti T. V., Mitish M. D., Potekhina T. V. Intestinal microbiota in premature infants - the current state of the problem (literature review). *Pediatricheskaya farmakologiya*. 2015; 12 (3): 296-303. (in Russian)
 - Global practical recommendations of the World Gastroenterological Organization of February 2017 - URL: <https://www.worldgastroenterology.org/UserFiles/file/guidelines/probiotics-and-prebiotics-russian.2017.pdf>.
 - Chervinets V.M., Chervinets Yu.V., Belyaeva E.A., Lebedev S.N., Charkova A.R., Troshin A.V. et al. Comparative characteristics of lactobacilli isolated from the feces of healthy people living in the Russian Federation and Kazakhstan. *Sovremennyye problemy nauki i obrazovaniya*. 2016; 6. 72-8. (in Russian)
 - Chervinets V.M., Chervinets Yu.V., Petrova O.A., Kravchuk E.S. Metabolic activity of lactobacilli of the human gastrointestinal tract. *Mikrobiologiya: ot mikroskopa do genomnogo analiza*. St. Petersburg

REFERENCES

- Kovtun A.V., Yakovenko A.V., Ivanov A. N., Pryanishnikova A. S., Vasiliev I. V., Agafonova N. A., Yakovenko E. P. The use of probiotics in clinical practice. *Lechashchiy vrach*. 2011; 10: 1-10. URL: <https://www.lvrach.ru/2011/10/15435284> (accessed: 20.06.2018). (in Russian)
- Zakharova I.N., Ardatskaya M.D., Sugyan N.G. The effect of a multi-strain probiotic on the metabolic activity of the intestinal microflora in infants with functional disorders of the gastrointestinal tract: the results of a placebo-controlled study. *Voprosy sovremennoy pediatrii*. 2016; 15(1): 68-73. DOI: 10.15690/vsp.v15i1.1501. (in Russian)
- Fedotova G.V., Vakhlova I.V., Boronina L.G., Samatova E.V. Metabolic aspects of the state of the intestinal microbiota in premature infants. *Rossiyskiy zhurnal gastroenterologii, gepatologii, kolo-proktologii*. 2016; 26(5): 44. (in Russian)
- Kornienko E.A., Kubalova S.S. The role of lactase deficiency and

MICROBIOLOGY

- burg May 17-18. 2018; 175. (in Russian)
23. Petrova O.A., Chervinets V.M., Chervinets Yu.V. Formation of microbiota and local humoral immunity of the oral cavity and stomach in premature newborns without and after taking antibiotics and probiotics. *Vestnik biotekhnologii i fiziko-khimicheskoy biologii im. Yu.A. Ovchinnikova*. 2021; 17(2): 55-63. (in Russian)
 24. Chervinets V.M., Mironov A.Yu., Chervinets Yu.V., Bazlov S.N. The state and significance of microbiocenoses of the esophagus, stomach, duodenum in peptic ulcer, chronic gastritis, esophagitis. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2020; 65 (1): 42-9.
 25. Chervinets V.M., Chervinets Yu.V., Petrova O.A., Antonova L.K., Pogosyan S.V., Ganina E.B., Mironov A.Yu. Microbiota of the gastrointestinal tract of newborns of the first month of life in the Tver region. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2018; 63 (9): 579-83.
 26. Chervinets Yu.V., Chervinets V.M., Shenderov B.A. Modern ideas about the biotechnological potential of the human symbiotic microbiota. *Verkhnevolzhskiy meditsinskiy zhurnal*. 2018; 17(1): 19-26. (in Russian)
 27. Chervinets Yu.V., Chervinets V.M., Mironov A.Yu. Symbiotic relationships of lactobacilli and microorganisms of the gastrointestinal tract. Monografiya. Tver': Tverskaya gosudarstvennaya meditsinskaya akademiya; 2016. (in Russian)
 28. Chervinets V.M., Chervinets Yu.V., Borisova S.S., Petrova O.A., Antonova L.K. Dynamics of microbiota colonization of premature infants in the first week of life. V knige: Materialy XI s"ezda Vserossiyskogo nauchno-prakticheskogo obshchestva epidemiologov, mikrobiologov i parazitologov «Obespechenie epidemiologicheskogo blagopoluchiya: vyzovy i resheniya». Moscow; 2017: 494.
 29. Chervinets V.M., Chervinets Yu.V., Chichanovskaya L.V., Ganzia D.V., Grigoryants E. O., Belyaev V.S., Mironov A.Yu. Spectrum of gas signaling molecules of intestinal lactobacilli in patients with ischemic stroke. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2022; 67(3): 41-8. (in Russian)
 30. Chervinets V.M., Chervinets Yu.V., Leontieva A.V., Kozlova E.A., Stulov N.M., Belyaev V.S., Grigoryants E.O., Mironov A.Yu. Oral microbiome in patients with paradontitis, adhesive and biofilm-forming properties. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2021; 66(1): 45-51. (in Russian)
 31. Chervinets Yu., Chervinets V., Shenderov B., Belyaeva E., Troshin A., Lebedev S., Danilenko V. Adaptation and probiotic potential of lactobacilli, isolated from the oral cavity and intestines of healthy people. Probiotics and antimicrobial proteins. Springer Science+Business Media, LLC, part of Springer. *Nature*. 2017; 5(6): 233-86. DOI: 10.1007/s12602-017-9348-9.

ОРГАНИЗАЦИЯ ЛАБОРАТОРНОЙ СЛУЖБЫ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2023

Ивойлов О.О.^{1,4}, Кочетов А.Г.^{1,2}, Гимадиев Р.Р.^{1,3,5}, Гераскин А.И.^{3,5}

ОЦЕНКА ТРУДОЗАТРАТ ПЕРСОНАЛА АВТОМАТИЗИРОВАННОЙ БИОХИМИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРИИ

¹АНО ДПО «Институт лабораторной медицины», 117042, Москва, Россия;

²ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, 117997, Москва, Россия;

³ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», 117198, Москва, Россия;

⁴ООО НПФ «Хеликс», 197022, г. Санкт-Петербург, Россия;

⁵ООО «Лаборатория Евротест», 129110, Москва, Россия

Современная биохимическая лаборатория характеризуется высокой степенью автоматизации трудового процесса, что вкупе с неразработанной методологией оценки трудозатрат, создает проблему нормирования труда персонала. Это препятствует объективному формированию штатного расписания и учета нагрузки, а также не позволяет прогнозировать эффект изменений, оптимизирующих рабочие процессы. Целью исследования стала оценка структуры и величины компонентов трудозатрат автоматизированного рабочего места сыровоточной зоны медицинской лаборатории и характеристика их влияния на нагрузку на персонал и трудоемкость исследования аналитов. Изучение трудозатрат персонала при работе на модульной платформе Roche Cobas 6000 (Roche Diagnostics, Швейцария) было проведено методом фотохронометража на базе лаборатории «Евротест» (Москва). Для получения и анализа данных была применена авторская методика исследования. В результате был определен классифицированный перечень стандартных манипуляций, формирующих трудовой процесс рабочего места, измерена их продолжительность. Полученные данные представлены в виде стратифицированных компонентов, как постоянные или переменные трудозатраты. На основе их величин осуществлено моделирование изменения общих трудозатрат рабочего места и трудоемкости одного лабораторного исследования (ЛИ) для разных сценариев работы, в зависимости от потока анализов и числа тестов, выполняемых из одной пробы биоматериала. Установлено, что наиболее значительная часть переменных трудозатрат (до 28 секунд на одно ЛИ) обусловлена ручным переносом лабораторной информации, а полноценно функционирующая лабораторная информационная система дает повышение производительности труда, минимум, в 2,6 раза. Другим ключевым фактором снижения затрат является увеличение числа выполняемых тестов из одной пробирки. Можно сделать вывод, что несмотря на автоматизацию, переменные трудозатраты доминируют на рабочем месте сыровоточной зоны, что требует гибких методов нормирования труда. Предложенная методика позволяет рассчитывать как трудоемкость ЛИ при произвольных их потоках, статистическом соотношении номенклатуры, конфигурации тестов, выполняемых из пробы биоматериала, так и прогнозировать эффективность мер, оптимизирующих работу лаборатории.

Ключевые слова: лаборатория; клиническая химия; автоматизация; хронометраж; нормирование труда; лабораторная информационная система; трудозатраты.

Для цитирования: Ивойлов О.О., Кочетов А.Г., Гимадиев Р.Р., Гераскин А.И. Оценка трудозатрат персонала автоматизированной биохимической лаборатории. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2023; 68 (6):371-380. DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2023-68-6-371-380>

Для корреспонденции: Ивойлов Олег Олегович, канд. мед. наук, преподаватель АНО ДПО «Институт лабораторной медицины», вед. аналитик по развитию процессов лабораторного производства ООО НПФ «Хеликс»; e-mail: kblld@mail.ru

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Поступила 04.04.2023

Принята к печати 12.04.2023

Опубликовано 05.06.2023

Ivoylov O.O.^{1,4}, Kochetov A.G.^{1,2}, Gimadiev R.R.^{1,3,5}, Geraskin A.I.^{3,5}

ESTIMATION OF LABOR COSTS OF THE AUTOMATED BIOCHEMISTRY LABORATORY STAFF

¹ Institute of Laboratory Medicine, 117042, Moscow, Russia;

² Pirogov Russian National Research Medical University (Pirogov Medical University), Moscow, Russia;

³ Peoples Friendship University of Russia (RUDN University), Moscow, Russia;

⁴ Research and Production Company «Helix» LLC, Saint Petersburg, Russia;

⁵ «Eurotest Laboratory» LLC, Moscow, Russia

The modern clinical chemistry laboratory is characterized by a high degree of the labor process automation, which, with an undeveloped methodology for estimating labor costs, creates the problem of staff work rationing. This prevents the objective formation of staffing and load accounting, and also does not allow predicting an effect of changes in order to optimize work processes. The aim of the study was to assess the structure and the magnitude of labor costs components at a serum assay automated workplace and to characterize its impact on the staff workload and the testing labor intensity. The time-and-motion study of staff labor costs when working on the Roche Cobas 6000 (Roche Diagnostics, Switzerland) modular platform was carried out at the «Eurotest» laboratory, Moscow. We applied the author's research methodology to obtain and analyze the data. As a result, we determined a classified list of

the standard manipulations that form the workplace labor process, and measured their duration. The data obtained was presented in the form of stratified components, as fixed or variable labor costs (as the labor time). Based on that, we carried out modeling of changes in the workplace total labor costs and the labor intensity per test for different work scenarios, depending on the volume of tests and the number of tests performed from a serum specimen. It has been established that the most significant part of the variable labor costs (up to 28 seconds per laboratory test) is created by manually transferring laboratory information, and a fully functioning laboratory information system can increase the labor productivity by at least 2.6 times. Another key factor in reducing the costs is an increase in the number of tests performed from one specimen. We can conclude that despite the automation, the variable labor costs dominate the serum assay workplace and it requires flexible methods of the labor rationing. The proposed method allows both to calculate the labor intensity of laboratory tests with an arbitrary volume, a statistical ratio of different tests, a configuration of tests performed from one specimen, and to predict an effect of measures aimed at optimizing the work of the laboratory.

Key words: laboratory; clinical chemistry; automation; time-and-motion study; labor rationing; laboratory information system; labor costs.

For citation: Ivoylov O.O., Kochetov A.G., Gimadiev R.R., Geraskin A.I. Estimation of labor costs of the automated biochemistry laboratory staff. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2023; 68(6):371-380 (in Russ.) DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2023-68-6-371-380>

For correspondence: Ivoylov O.O., PhD, Lecturer of The Institute of Laboratory Medicine; Lead Analyst for the development of laboratory production processes at Helix Laboratories; e mail: kblld@mail.ru

Information about authors:

Ivoylov O.O., <https://orcid.org/0000-0002-4684-8440>;

Kochetov A.G., <https://orcid.org/0000-0003-3632-291X>;

Gimadiev R.R., <https://orcid.org/0000-0002-9567-3317>;

Geraskin A.I., <https://orcid.org/0000-0003-1589-4564>.

Acknowledgment. *The study had no sponsor support.*

Conflict of interests. *The authors declare absence of conflict of interests.*

Received 04.04.2023

Accepted 12.04.2023

Published 05.06.2023

Автоматизация произвела техническую революцию в клинической лабораторной диагностике. Ее роль в данной отрасли медицины неоспорима и многогранна. Она заключается в уменьшении времени оборота теста, предотвращении человеческих ошибок и рисков, совершенствовании качества исследований, но, в первую очередь, в повышении производительности труда за счет снижения трудоемкости, что экономит штат персонала в условиях роста количества анализов [1,2].

Одним из наиболее значимых участков, откуда еще в прошлом веке начинался этот процесс, стала клиническая химия [2,3]. В настоящее время большая часть операций, связанных с непосредственным выполнением биохимического или иммунохимического анализа производится автоматически. Труд лаборанта в связи с этим изменился, став во многом операторским, направленным на обеспечение и контроль протекания роботизированного технологического процесса. В этих условиях стали неочевидными степень и характер влияния количества выполняемых тестов и обрабатываемых проб биоматериала на величину нагрузки персонала. Методология нормирования труда для современной автоматизированной лаборатории не разработана. Документы, датированные последним десятилетием XX века^{1,2}, были нацелены на определение трудозатрат при ручных технологиях выполнения анализов, где нагрузка пропорционально зависела от их количества, а типовые нормы време-

ни на 1 лабораторное исследование (ЛИ) исчислялись минутами. Единичные современные публикации, посвященные проблеме, декларируют лишь общие взгляды на возможные пути ее решения, но не подкреплены какими-либо объективными данными и примерами апробации [4]. Высказываются принципиальные сомнения в возможности создания единого методологического подхода к оценке трудозатрат работников лаборатории [5]. Разработка новых типовых норм времени в их прежнем, фиксированном виде не решит проблему, поскольку разнообразие трудового процесса в современных лабораториях велико – он определяется применяемыми коммерческими тест-системами, оборудованием, IT-решениями, а также объемами и номенклатурой исследований. Существующие попытки решить эту задачу [6] демонстрируют неопределенность в условиях получения данных и методах анализа. Авторы не приводят систематизированных цифр и, вследствие всего перечисленного, не могут предложить принципов их верификации и переноса на конкретную лабораторию. В результате отсутствия методологии оценки трудозатрат медицинские учреждения сталкиваются с проблемами формирования адекватного штатного расписания и учета нагрузки на персонал в условиях изменяющегося потока исследований. Другим следствием этого является невозможность прогнозирования эффективности любых изменений, оптимизирующих рабочие процессы, и сопутствующий этому субъективизм плани-

¹National Committee for Clinical Laboratory Standards. Basic Cost Accounting for Clinical Services; Approved Guideline. NCCLS document GP 11-A. Wayne, PA: NCCLS; 1998.

²Приказ Минздрава РФ № 380 от 25.12.1997 г. «О состоянии и мерах по совершенствованию лабораторного обеспечения диагностики и лечения пациентов в учреждениях здравоохранения Российской Федерации». <https://base.garant.ru/4173965/>.

рования. В качестве примера надо назвать такой ключевой аспект, как внедрение лабораторной информационной системы (ЛИС), реализующей полноценную интеграцию с приборами лаборатории [7]. Аппаратная автоматизация многих российских лабораторий опережает их информатизацию, а часть медицинских руководителей придерживаются архаичных взглядов и, обновляя парк анализаторов, надеются сэкономить на установке современной ЛИС. В литературе можно встретить пропаганду «кустарных», не обладающих полноценной функциональностью, сомнительных программных решений [8]. Такие работы требуют применения объективных механизмов критики, поскольку могут быть использованы для оправдания некомпетентных управленческих решений. В свете этого, разработка и апробация систематизированных принципов оценки структуры и величины трудозатрат сотрудников современной автоматизированной лаборатории является приоритетной и актуальной задачей. Методология ее решения может быть реализована на основе изложенных нами взглядов на типовую структуру затрат [9].

Целью настоящего исследования стала оценка структуры и величины компонентов трудозатрат на автоматизированном рабочем месте в современной медицинской лаборатории и характеристика их влияния на нагрузку на персонал и трудоемкость исследования сывороточных анализов.

Материал и методы. Исследование прямых затрат времени медицинского лабораторного техника было проведено методом фотохронометража на базе лаборатории «Евротест», Москва. Оценивалась работа на автоматизированной модульной платформе Roche Cobas 6000 (Roche Diagnostics, Швейцария), состоящей из биохимического модуля с501 и иммунохимического модуля e601. Выбор оборудования был обусловлен возможностью провести наблюдения, универсальные в отношении крупных модульных систем, масштабируемостью, объединением различных методов анализа в одном анализаторе, его распространенностью в медицинских лабораториях. Годовой бюджет рабочего времени медицинского лабораторного техника был принят исходя из длительности рабочей смены 7,2 часа и 247 рабочих дней в году, за вычетом 25 дней отпуска, и составил 5 754 240 секунд. Во время проведения наблюдений в лаборатории по организационно-техническим причинам отсутствовала передача данных между анализатором и ЛИС.

Ввиду отсутствия в литературе и в нормативных актах каких-либо методологических подходов к проведению хронометража и фактическому анализу трудозатрат, была применена авторская «Методика исследования трудозатрат персонала медицинской лаборатории» [10]. Методика включала следующие этапы: определение границ хронометрируемого рабочего места, анализ трудового процесса методом фотографии рабочего места³, выделение перечня стандартных манипуляций трудового процесса с их

классификацией по видам и компонентам затрат, подготовка карты фотохронометража, прямые замеры времени выполнения стандартных манипуляций. Статистическая обработка данных проводилась с использованием программного обеспечения SPSS и Excel. Меры центральной тенденции хронометражных замеров представлены в зависимости от нормальности распределения с 95% доверительным интервалом. Расчет компонентов трудозатрат и их моделирование были выполнены по отдельным аналитическим процедурам с помощью табличного инструмента, созданного в MS Excel. Здесь и далее, аналитическая процедура (АП) – документально установленная процедура лабораторного исследования отдельного анализа, основанная на физико-химических принципах определенного лабораторного метода, выполняемая на оборудовании определенного рабочего места с использованием уникального набора реактивов (расходных материалов) и алгоритма действий [10]. Этот термин был введен нами ввиду отсутствия в отраслевых глоссариях точных определений отдельной единицы лабораторной номенклатуры, для которой может производиться расчет трудозатрат / трудоемкости.

Результаты. В результате проведенного исследования был определен перечень стандартных манипуляций, формирующих трудовой процесс на рабочем месте. Они были классифицированы по компонентам трудозатрат и хронометрированы (табл. 1).

В отношении действий с калибраторами и контрольными материалами (КМ) для внутрилабораторного контроля качества (ВЛК) применялся следующий принцип деления. Если манипуляция в процессе своего однократного выполнения одновременно охватывала более чем одну АП, то ее относили к компоненту постоянных трудозатрат на обслуживание рабочего места. Для этого мы определили понятия «мультикалибратор» и «мультиконтроль» как референсные материалы, используемые для процедуры калибровки или ВЛК в рамках более чем одной АП. Например, восстановление и аликвотирование мультикалибратора одновременно дает аликвоты для будущей калибровки не одной, а сразу нескольких методик. Другим примером является заказ и выполнение ВЛК с помощью мультиконтроля – он заказывается сразу на несколько тестов, но ставится на борт однократно. Если манипуляция относилась только к одной АП, то ее классифицировали как постоянные трудозатраты на подготовку АП к работе. К таким действиям мы отнесли, например, восстановление и аликвотирование калибраторов и КМ, фактически используемых (в нашей конфигурации тестов и оборудования) только для одной АП, единичную калибровку, оценку ее результата и результата ВЛК. Такой подход корректно учитывает базы распределения для разных АП и позволяет оценить независимый вклад каждой из них в общие трудозатраты рабочего места [9].

В графе «Примечания» дана информация о частоте выполнения манипуляций (для постоянных тру-

³Приказ Минтруда России № 235 от 31.05.2013 г. «Об утверждении методических рекомендаций для федеральных органов исполнительной власти по разработке типовых отраслевых норм труда». <https://mintrud.gov.ru/docs/mintrud/orders/76>.

**Классификация по компонентам трудозатрат и продолжительность стандартных манипуляций рабочего места
Cobas 6000 (в секундах)**

№ п/п	Компоненты трудозатрат, стандартные манипуляции	Время, с	Примечания
1.	Постоянные трудозатраты на обслуживание рабочего места (FTw)		
1.1	Включение и ввод в рабочее состояние оборудования рабочего места (компьютер)	30 (28-32)	Ежедневно
1.2	Включение и ввод в рабочее состояние оборудования рабочего места (Cobas 6000)	18 (17-19)	Ежедневно
1.3	Проверка количества реагентов на борту	55 (50-60)	Ежедневно
1.4	ТО оборудования ежедневное (в соответствии с регламентом производителя)	65 (60-70)	Ежедневно
1.5	ТО оборудования периодическое (в соответствии с регламентом производителя)	65 (58-72)	1 раз в 7 дней
1.6	Выполнение процедуры shutdown анализатора	15 (14-16)	Ежедневно
1.7	Утилизация медицинских отходов	110 (100-120)	Ежедневно
1.8	Уборка рабочего места, обработка поверхностей	435 (400-470)	Ежедневно
1.9	Восстановление и алиquotирование биохимического мультикалибратора C.f.a.s.	155 (140-170)	1 раз в 14 дней
1.10	Восстановление и алиquotирование биохимического мультикалибратора C.f.a.s. Lipids	63 (59-67)	1 раз в 28 дней
1.11	Восстановление и алиquotирование иммунохимического КМ PC Tumor Marker (мультиконтроль)	130 (120-140)	1 раз в 31 день
1.12	Восстановление и алиquotирование иммунохимического КМ PC Varia (мультиконтроль)	130 (120-140)	1 раз в 31 день
1.13	Восстановление и алиquotирование биохимического КМ PC ClinChem Multi (мультиконтроль)	185 (171-209)	1 раз в 28 дней
1.14	Заказ и выполнение процедуры ВЛК иммунохимического КМ PC Tumor Marker (мультиконтроль)	40 (36-44)	Ежедневно
1.15	Заказ и выполнение процедуры ВЛК иммунохимического КМ PC Varia (мультиконтроль)	40 (36-44)	Ежедневно
1.16	Заказ и выполнение процедуры ВЛК биохимического КМ PC ClinChem Multi (мультиконтроль)	50 (44-56)	Ежедневно
2.	Постоянные трудозатраты на подготовку АП к работе (FTa)		
2.1	Восстановление и алиquotирование отдельного калибратора для АП иммунохимии	135 (127-143)	Периодически*
2.2	Восстановление и алиquotирование калибратора C. f.a.s. PAC	115 (108-122)	Периодически
2.3	Восстановление и алиquotир. калибратора Preciset Lp(a)	70 (66-74)	Периодически
2.4	Восстановление отдельного КМ для АП иммунохимии	25 (23-27)	Периодически
2.5	Заказ и выполнение калибровки для АП иммунохимии	35 (33-37)	Периодически
2.6	Заказ и выполнение калибровки калибратором C.f.a.s. PAC / C.f.a.s Lipids	40 (38-42)	Периодически
2.7	Заказ и выполнение калибровки калибратором Preciset Lp(a) /Preciset sTfR /C.f.a.s Proteins	85 (80-90)	Периодически
2.8	Заказ и выполнение калибровки калибратором цинка	40 (38-42)	Периодически
2.9	Заказ и выполнение калибровки калибратором C. f.a.s. для АП биохимии	40 (38-42)	Периодически

2.10	Заказ и выполнение процедуры ВЛК отдельным КМ для АП иммунохимии	30 (28-32)	Ежесерийно**
2.11	Заказ и выполнение процедуры ВЛК (не мультиконтроль) КМ sTfR Control Set	30 (28-32)	Ежесерийно
2.12	Заказ и выполнение процедуры ВЛК (не мультиконтроль) КМ PreciControl Lp(a)	30 (28-32)	Ежесерийно
2.13	Заказ и выполнение процедуры ВЛК (не мультиконтроль) КМ цинка	35 (33-37)	Ежесерийно
2.14	Оценка результата калибровки любой АП иммунохимии	21 (17-25)	Периодически
2.15	Оценка результата калибровки любой АП биохимии	20 (19-21)	Периодически
2.16	Проверка и оценка результата ВЛК любой АП иммунохимии или биохимии в программном обеспечении (контрольной карте) анализатора	17 (16-18)	Ежесерийно
3.	Переменные трудозатраты на подготовку АП к работе (АВТа)		
3.1	Подготовка (приготовление) раствора ПЭГ	13 (11-15)	На 1 ед. объема
3.2	Дозагрузка кассеты на биохимическую АП	70 (61-79)	На 1 шт.
3.3	Дозагрузка кассеты на иммунохимическую АП	57 (50-64)	На 1 шт.
3.4	Дозагрузка кассеты Zn	347 (304-390)	На 1 шт.
3.5	Дозагрузка AssayTip/AssayCup	48 (42-54)	На 1 уп.
3.6	Дозагрузка PreClean M	33 (29-37)	На 1 ед. объема
3.7	Дозагрузка Clean Cell M / ProCell M / Cell Wash Solution	35 (31-39)	На 1 ед. объема
3.8	Дозагрузка Sample Cleaner	55 (48-62)	На 1 ед. объема
3.9	Дозагрузка кассеты Anti-TSHR	130 (114-146)	На 1 шт.
4.	Переменные трудозатраты на работу с пробой биоматериала (АВТс)		
4.1	Регистрация биоматериала, сканирование штрих-кода, проверка несоответствий	5,5 (4,8-6,2)	На 1 пробу
4.2	Нумерация, подписи на пробирке вручную	8,5 (7,4-9,6)	На 1 пробу
4.3	Снятие крышек с пробирок	3,3 (2,9-3,7)	На 1 пробу
4.4	Загрузка проб в анализатор штативами	1,4 (1,2-1,6)	На 1 пробу
4.5	Выгрузка проб из анализатора	0,7 (0,6-0,8)	На 1 пробу
4.6	Закрытие крышек на пробирках	1,6 (1,4-1,8)	На 1 пробу
4.7	Архивирование проб: сканирование штрих-кода и размещение в штативе	2,0 (1,8-2,2)	На 1 пробу
5.	Переменные трудозатраты на отдельное исследование (АВТt)		
5.1	Ввод задания в анализатор на любое ЛИ вручную	8,1 (7,1-9,1)	На 1 ЛИ
5.2	Дозирование биоматериала и реактивов при исследовании на макропролактин, перемешивание на вортексе	81 (71-91)	На 1 ЛИ
5.3	Центрифугирование проб на макропролактин	24 (21-27)	На 1 ЛИ
5.4	Измерение макропролактина: ввод задания, постановка в прибор, извлечение из прибора	43 (38-48)	На 1 ЛИ

5.5	Пересчет результата на макропролактин по формуле вручную	50 (44-56)	На 1 ЛИ
5.6	Пересчет результатов СА-125 и HE-4 по алгоритму ROMA вручную	65 (57-73)	На 1 ЛИ
5.7	Запись и сохранение результата любого ЛИ в ЛИС вручную	11,5 (10,1-12,9)	На 1 ЛИ

Примечание. * - Периодичность определяется отдельно для каждой из АП, ассоциированных с данной манипуляцией; ** - в каждую аналитическую серию; определяется отдельно для каждой из АП, ассоциированных с данной манипуляцией, в соответствии с количеством проводимых аналитических серий в год.

дозатрат) или о том, чему пропорционально приведено время (для переменных трудозатрат).

В перечне стандартных манипуляций нами были отмечены пп. 4.2, 5.1 и 5.7, которые связаны с ручным переносом информации, что отличает работу лаборатории, не имеющей ЛИС, от лаборатории с автоматизированными протоколами обработки информации.

Результаты хронометражных замеров стандартных манипуляций были суммированы с учетом кратности их выполнения в той или иной аналитической процедуре по соответствующим компонентам (табл. 2). Те, в свою очередь, учитывались отдельно, по принадлежности к виду затрат времени: FT (fixed labor time) – постоянные трудозатраты в расчете на 1 год работы, и AVT (unit average variable labor time) – удельные переменные трудозатраты на 1 (одно) ЛИ. При этом FT были представлены в виде двух отдельных компонентов FTw и FTa, поскольку первые при расчете трудоемкости распределяются на общее число выполняемых на рабочем месте ЛИ, а вторые – на количество ЛИ только этой АП. Итоговое значение AVT складывалось из трех отдельно рассчитанных компонентов переменных трудозатрат: AVTa, AVTs и AVTt, характеризовавших, соответственно, подготовительные действия с реагентикой, обработку целой пробы и работу с отдельным ЛИ. Из величин AVT всех представленных АП были вычислены среднее и средневзвешенное значения для данного рабочего места, составившие, соответственно, 52,7 с и 46,1 секунды. Средневзвешенное значение лучше характеризует работу конкретной лаборатории, поскольку учитывает относительное соотношение выполняемой номенклатуры: удельный вес каждой из АП (по числу ее ЛИ) в общем количестве исследований.

Величины в табл. 2 приведены для ситуации, когда из 1-й пробы выполняется только 1 лабораторное исследование. Вариабельность этого условия для реальной лаборатории регулируется в используемой нами методике независимой переменной z [10]. Она представляет удельную долю ЛИ и определяется как отношение числа обработанных за анализируемый период времени проб к объему выполненных из них ЛИ, и влияет на величину компонента AVTs (1):

$$AVT_s = \sum \left(\frac{Vt_{si}}{n_{si}} \times z_i \right) \quad (1),$$

где: Vt_{si} – хронометрируемая продолжительность i -той манипуляции с партией проб данного типа;

n_{si} – число проб в хронометрируемой партии биоматериала;

z_i – удельная доля трудозатрат на 1 ЛИ в рамках обработки 1 пробы данного типа, подвергающейся i -той манипуляции, выраженная как отношение количества обработанных проб к количеству выполненных из них ЛИ.

С целью характеристики влияния различных компонентов и условий работы на нагрузку на персонал было выполнено моделирование общих трудозатрат (total labor time, TT) в зависимости от изменения суммарного количества выполняемых на рабочем месте исследований в существующей их пропорции. Мы рассмотрели два сценария работы: в условиях продолжающегося ручного переноса лабораторной информации (рис. 1, а) и при полной инсталляции ЛИС с настройкой протокола передачи информации между ней и анализатором (рис. 2, б). В качестве дополнительного фактора в обоих случаях учитывалось влияние доли z : 1, 0,5 и 0,1, что соответствовало ситуациям, когда из 1-й пробы в среднем выполняется 1, 2 или 10 исследований. Данные графики описываются формулой (2):

$$TT=FT+\Sigma(Q \times AVT) \quad (2),$$

где: FT – постоянные трудозатраты рабочего места за год, складывающаяся из FTw и суммы FTa всех АП рабочего места;

Q – количество выполняемых в течение года ЛИ для каждой АП данного рабочего места;

AVT – величина удельных переменных затрат на 1 ЛИ для каждой АП данного рабочего места.

На основе представленных в табл. 2 данных была смоделирована динамика средневзвешенной величины трудоемкости 1 ЛИ на рабочем месте в зависимости от суммарного количества выполняемых на рабочем месте исследований в существующей их пропорции (рис. 2). В качестве дополнительных вводных использовались те же факторы, что и в предыдущей модели. Приведенные графики описываются формулой (3):

$$t_{\text{ЛИ}}=AVT+ FT/Q \quad (3),$$

где: AVT – средневзвешенная величина удельных переменных трудозатрат на 1 ЛИ, из числа всех проводимых на данном рабочем месте (табл. 2);

Q – общее количество всех ЛИ, выполняемых в течение года на данном рабочем месте.

Таблица 2

Характеристика компонентов трудозатрат рабочего места Cobas 6000 (в секундах) при существующих условиях работы* и процентном соотношении выполняемой номенклатуры исследований

Аналитические процедуры	Общий объем ЛИ, %	Компоненты трудозатрат, с					
		FTw	FTa	AVTa	AVTs	AVTt	Итого AVT
Биохимические:							
Лактатдегидрогеназа-1	1,4		3 476	0,4	23	19,6	43,0
Общий белок	9,4		3 893	0,5			43,1
Холинэстераза	0,3		1 912	0,6			43,2
Липопротеин (а)	3,4		10 882	0,7			43,3
Аполипопротеин А	2,3		3 476	0,9			43,5
Аполипопротеин В	2,3		3 476	0,9			43,5
С3 компонент комплемента	1,8		4 480	0,9			43,5
С4 компонент комплемента	1,8		4 480	0,9			43,5
Церулоплазмин	3,4		6 474	0,9			43,5
Растворимые рецепторы трансферрина	0,4		4 916	1,1			43,7
Цинк	20,9		11 706	2,2			44,8
Иммунохимические:							
Остеокальцин	0,4		2 338	0,8	23	19,6	43,4
СА-125	3,0		3 828				
β-CrossLaps	3,2		4 063				
Кальцитонин	0,8		4 063				
Суфра 21-1	4,7		4 234				
PINP	0,7		4 389				
СА 72-4	7,3		4 771				
NSE	5,4		4 771				
NT-proBNP	10,8		10 107				
HE-4	7,5		10 172				
Антитела к рецепторам ТТГ	7,8		10 204				
Пролактин / макропролактин	1,1		10 107	14,4	217,6	255,0	
Расчетные показатели:							
Расчет ROMA	-		-	-	-	65,0	65,0
ИТОГО, рабочее место Cobas 6000	100 %	191 129	132 218				
Среднее AVT				1,5	23,0	28,2	52,7
Средневзвешенное AVT				1,2	23,0	21,9	46,1

Примечание. * – В условиях ручного переноса информации между ЛИС и анализатором. Для расчета компонентов трудозатрат в условиях настроенного протокола передачи информации из соответствующих компонентов AVT следует вычесть манипуляции 4.2, 5.1 и 5.7 табл. 1. Постоянные трудозатраты – в расчете на год, переменные – на 1 ЛИ данной АП. Удельная доля ЛИ в пробе (z) равна 1.

Обсуждение. Проведенное исследование продемонстрировало, что трудозатраты лаборанта автоматизированной сывороточной зоны существенно зависят от количества выполняемых лабораторных исследований. Об этом свидетельствует то, что сумма всех компонентов постоянных трудозатрат рабочего места составляет лишь около 6 % от полного бюджета рабочего времени ставки медицинского лабораторного техника, а остальные затраты времени являются переменными (см. рис. 1, а, б).

Отличия между большинством аналитических

процедур в компоненте FTa связаны, в основном, с особенностью проведения и частотой калибровок и ВЛК. Однако, они не столь существенны, поскольку постоянные трудозатраты нивелируются с ростом количества выполняемых ЛИ, что и продемонстрировано нами на рис. 2.

Значения удельных переменных трудозатрат для большинства биохимических и иммунохимических исследований весьма близки. Это связано с тем, что проба, из которой они выполняются, обрабатывается одновременно и одинаково вне зависимости

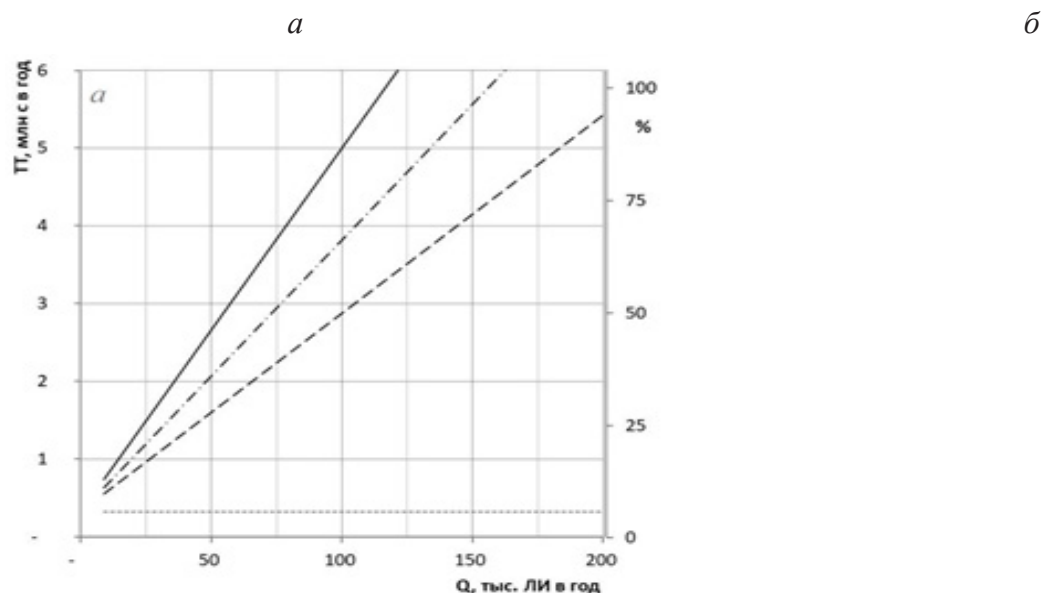


Рис. 1. Динамика общих трудозатрат (ТТ) рабочего места Cobas 6000 (в млн секунд), в зависимости от изменения суммарного количества исследований, выполняемых за год, в тысячах ЛИ. Дополнительная вертикальная ось справа отражает процент от полного бюджета рабочего времени 1 ставки медицинского лабораторного техника. Сплошная линия – $z=1$, штрихпунктирная – $z=0,5$, пунктирная – $z=0,1$.

a – при ручном переносе лабораторной информации; *б* – при автоматизированном переносе лабораторной информации

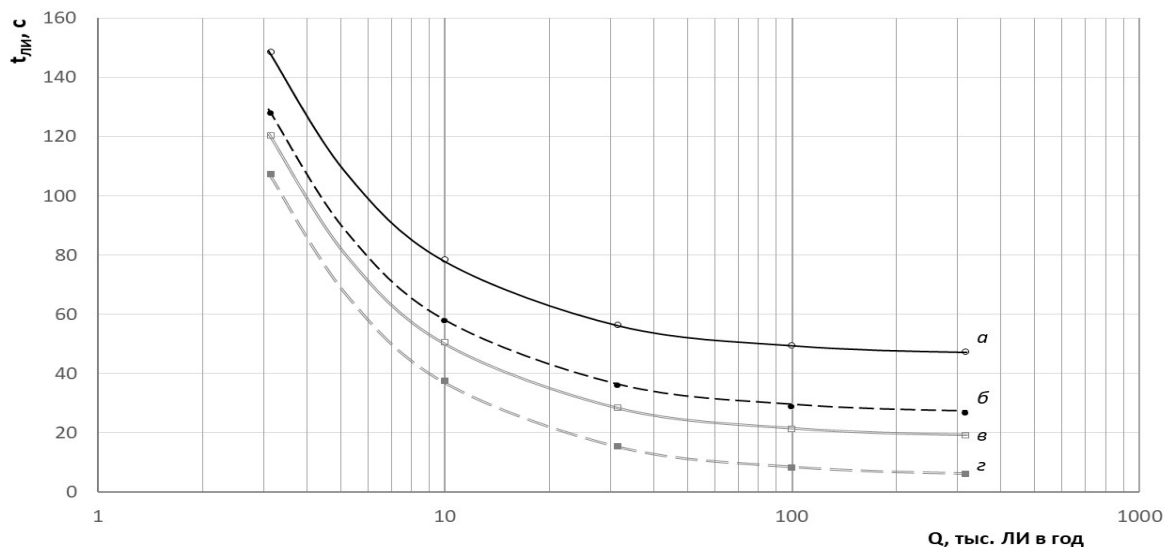


Рис. 2. Динамика средневзвешенной трудоемкости 1 ЛИ (t_{лм}) рабочего места Cobas 6000 (в секундах), в зависимости от изменения суммарного количества исследований, выполняемых за год, в тысячах ЛИ. *a*, *б* – при ручном переносе лабораторной информации, $z=1$ и $z=0,1$, соответственно; *в*, *г* – при автоматизированном переносе лабораторной информации, $z=1$ и $z=0,1$, соответственно.

от того, какие тесты заказаны, а какие-либо тест-специфические манипуляции отсутствуют. Различия в компоненте AVTa у биохимических АП связаны с емкостью кассет их основных реагентов. Время загрузки на борт любой такой кассеты в большинстве случаев одинаково, но количество выполняемых из них тестов, а, следовательно, и расчетные удельные трудозатраты на 1 ЛИ – разные. Для иммунохимических АП не было и таких отличий, поскольку все диагностические наборы были рассчитаны, в нашем случае, на 100 тестов. Определенное исключение соста-

вили: в биохимии – реактив для определения цинка от стороннего производителя, требующий переливания в стандартную кассету, а в иммунохимии – набор на антитела к рецепторам ТТГ, требующий приготовления реагента для предварительной обработки. Таким образом, из близкого ряда значений удельных трудозатрат выпадает лишь единственная аналитическая процедура – исследование на пролактин / макропролактин, требующая и ручного приготовления реактива, и дополнительной пробоподготовки, и повторной детекции образца. При этом следует ожидать разли-

чий в трудозатратах для АП, выполняемых из разных проб биоматериала, если через автоматизированное рабочее место проходят несколько разновидностей последних. Это связано как с тем, что алгоритм обработки таких проб может отличаться, так и с тем, что из них будет выполняться разное количество исследований.

Моделирование продемонстрировало существенное влияние соотношения количества обработанных проб к числу сделанных из них исследований на трудозатраты на рабочем месте и, как следствие, производительность труда (см. рис. 1, а), представляющую собой величину, обратную трудозатратам. В случае изменения доли z с 1 до 0,5 производительность увеличится в 1,4 раза, а до 0,1 – в 1,8 раза. Следовательно, одномоментное выполнение большего количества тестов из одной пробирки является выигрышной стратегией и дополнительно обосновывает целесообразность централизации автоматизированных биохимических и иммунохимических исследований, использования анализаторов комбинированной модульной схемы.

Однако более эффективна в отношении снижения трудозатрат в автоматизированной сывороточной зоне инсталляция ЛИС. Нами были выделены и хронометрированы манипуляции, связанные с ручным переносом лабораторной информации, которые мы можем классифицировать как издержки. Исключение этих действий даже в неоптимальных условиях выполнения только одного исследования из каждой пробы сэкономило бы 28,1 секунду из 46,1 секунд средневзвешенных удельных переменных трудозатрат на 1 ЛИ. Изменение производительности труда в этом случае можно оценить, сопоставив графики (сплошные линии) между рис. 1, а и 1, б: она увеличится в 2,6 раза. В условиях же снижения доли ЛИ в пробе до 0,5 или 0,1 (2 или 10 тестов из пробы) разница в производительности труда между анализатором, подключенным к ЛИС и неподключенным к ней, составит уже 3,2 и 5,1 раза соответственно. Для сравнения, ИТ-интеграция бактериологического лабораторного оборудования, по данным литературы, позволяет повысить производительность лаборатории в 1,75 раза [7].

Использование коэффициента z для установления пропорции между объемами поступающих проб и производимых ЛИ вместо отдельного учета количества пробирок рационально с точки зрения уменьшения количества факторов, входящих в расчет на финальном его этапе. Для каждого из видов проб, проходящих через лабораторию, можно определить такое статистическое соотношение. Это долговременный коэффициент, пересматривать его потребуется лишь периодически, с изменением номенклатуры, конфигурации тестов на оборудовании, стандартов оказания медицинской помощи. А значит, учет нагрузки, который можно проводить в повседневной управленческой практике, опираясь на ранее рассчитанные стратифицированные компоненты, оптимально будет свести к единой величине удельных переменных трудозатрат – АУТ, пропорциональной 1 ЛИ.

Несмотря на автоматизацию, переменные трудо-

затраты доминируют на рабочем месте сывороточной зоны, что требует гибких методов нормирования труда. Предложенная методика позволяет как рассчитывать трудоемкость лабораторных исследований при произвольных их потоках, статистическом соотношении номенклатуры, конфигурации тестов, выполняемых из пробы биоматериала, так и прогнозировать эффект мер, оптимизирующих работу лаборатории. Ключевыми факторами снижения переменных трудозатрат персонала автоматизированной биохимической лаборатории являются: наличие ЛИС, реализующей протокол обмена информацией с анализатором, и увеличение количества лабораторных исследований, одномоментно выполняемых из пробы биоматериала.

ЛИТЕРАТУРА

1. Melanson S.E.F., Lindeman N.I., Jarolim P. Selecting Automation for the Clinical Chemistry Laboratory. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 2007; 131(7): 1063–9. DOI: 10.5858/2007-131-1063-SAFTCC.
2. Yeo C.P., Ng W.Y. Automation and productivity in the clinical laboratory: experience of a tertiary healthcare facility. *Singapore Med. J.* 2018; 59(11):597–601. DOI: 10.11622/smedj.2018136.
3. Griffiths J. Automation and other recent developments in clinical chemistry. *Am. J. Clin. Pathol.* 1992; 98(4 Suppl. 1):S31–4. PMID: 1344702.
4. Ивашикина Т.М., Кадыров Ф.Н., Вавилова Т.В., Иванов А.М., Пашкова В.П., Клименкова О.А. Нормирование труда в лаборатории: алгоритмы для автоматизированных и неавтоматизированных методик. *Справочник заведующего КДЛ.* 2020; 2:3–14.
5. Ивашикина Т.М., Кадыров Ф.Н., Пашкова В.П., Клименкова О.А. Некоторые подходы к нормированию труда в лабораторной диагностике. *Менеджер здравоохранения.* 2019; 7:71–7.
6. Сон И.М., Иванова М.А., Вавилова Т.В., Люцко В.В., Сачек О.И., Оськова Л.П., Ворыханов А.В. Нормы времени на выполнение лабораторных исследований специалистами клинико-диагностических и микробиологических лабораторий. *Менеджер здравоохранения.* 2021; 3: 40–5. DOI: 10.21045/1811-0185-2021-3-40-45.
7. Золотарев П.Н., Черкасов С.Н. Современное состояние клинической лабораторной диагностики (обзор литературы). *Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Медицинские науки.* 2018; 4(48): 173–90. DOI: 10.21685/2072-3032-2018-4-18.
8. Андрюков Б.Г., Андрюков И.Б., Гельман Е.А., Ларичев В.Г., Логинова Т.В., Федосеева И.Н. Опыт создания и внедрения лабораторной информационной системы в практику клинико-диагностической лаборатории многопрофильного ведомственного лечебного учреждения. *Морская медицина.* 2017; 3(1): 34–41. DOI: 10.22328/2413-5747-2017-3-1-34-41.
9. Ивойлов О.О., Кочетов А.Г. Метод анализа типовой структуры прямых затрат в себестоимости лабораторного теста. *Клиническая лабораторная диагностика.* 2021; 66(3): 187–92. DOI: 10.51620/0869-2084-2021-66-3-187-192.
10. Ивойлов О.О. Методика исследования трудозатрат персонала медицинской лаборатории. www.researchgate.net. 2021; Доступно по адресу: https://www.researchgate.net/publication/355031944_Metodika_issledovania_trudozatrat_personala_medicinskoj_laboratorii. Последнее обращение: апрель 2023. doi: 10.13140/RG.2.2.12058.57288.

REFERENCES

1. Melanson S.E.F., Lindeman N.I., Jarolim P., Selecting Automation for the Clinical Chemistry Laboratory. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 2007; 131(7): 1063–9. DOI: 10.5858/2007-131-1063-SAFTCC.

2. Yeo C.P., Ng W.Y. Automation and productivity in the clinical laboratory: experience of a tertiary healthcare facility. *Singapore Med. J.* 2018; 59(11): 597–601. DOI: 10.11622/smedj.2018136.
3. Griffiths J. Automation and other recent developments in clinical chemistry. *Am J Clin Pathol.* 1992; 98(4 Suppl. 1):S31–4. PMID: 1344702.
4. Ivashikina T.M., Kadyrov F.N., Vavilova T.V., Ivanov A.M., Pashkova V.P., Klimenkova O.A. Normirovaniye truda v laboratorii: algoritmy dlya avtomatizirovannykh i neavtomatizirovannykh metodik. *Spravochnik zaveduyushchego KDL.* 2020; 2: 3–14. (in Russian)
5. Ivashikina T.M., Kadyrov F.N., Pashkova V.P., Klimenkova O.A. Some approaches to the labor normalization in the laboratory diagnostics. *Manadzher zdravookhraneniya.* 2019; 7:71–7. (in Russian)
6. Son I.M., Ivanova M.A., Vavilova T.V., Lyutsko V.V., Sachek O.I., Oskova L.P., Vorykhanov A.V. Time norms for laboratory tests by specialists of clinical diagnostic and microbiological laboratories. *Manadzher zdravookhraneniya.* 2021; 3:40–5. DOI: 10.21045/1811-0185-2021-3-40-45. (in Russian)
7. Zolotarev P.N., Cherkasov S.N. Current state of clinical laboratory diagnostics (Literature review). *Izvestiya vysshikh uchebnykh zavedeniy. Povolzhskiy region. Meditsinskie nauki.* 2018; 4(48): 173–90. DOI: 10.21685/2072-3032-2018-4-18. (in Russian)
8. Andryukov B.G., Andryukov I.B., Gelman E.A., Larichev V.G., Loginova T.V., Fedoseeva I.N. Experience creation and implementation of laboratory information systems in the practice clinical diagnostic laboratories the multidisciplinary departmental medical centers. *Morskaya meditsina.* 2017; 3(1): 34–41. DOI: 10.22328/2413-5747-2017-3-1-34-41. (in Russian)
9. Ivoylov O.O., Kochetov A.G. A method for analyzing the typical structure of direct costs in the cost of a laboratory test. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika.* 2021; 66(3): 187–92. DOI: 10.51620/0869-2084-2021-66-3-187-192. (in Russian)
10. Ivoylov O.O. The method for researching the labor costs of staff of medical laboratory. *www.researchgate.net.* 2021; Available at: https://www.researchgate.net/publication/355031944_Metodika_issledovania_trudozatrat_personala_meditsinskoj_laboratorii. Accessed April 2023. DOI: 10.13140/RG.2.2.12058.57288 (in Russian)