

Учредитель:
ООО «Издательская группа
«Медиа Сфера»

Журнал зарегистрирован
Федеральной службой по надзору
в сфере связи, информационных
технологий и массовых коммуникаций.

Δ КЛИНИЧЕСКАЯ ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА

Том 68
9 • 2023

Russian Clinical Laboratory Diagnostics

Е Ж Е М Е С Я Ч Н Ы Й Н А У Ч Н О - П Р А К Т И Ч Е С К И Й Ж У Р Н А Л

СЕНТЯБРЬ

Журнал основан в январе 1955 г.

Издатель:
Акционерное общество
"ЭКОлаб"

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 20.08.2023.
Подписано в печать 01.09.2023.
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 издания не может быть занесена в память компьютера либо воспроизведена любым способом без предварительного письменного разрешения издателя.

Журнал представлен в базе данных Российского 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_heskey_a-laboratornay_adiagnostika/

Подписка на электронную версию:
https://elibrary.ru/title_about_new.asp?id=7849

ISSN 0869-2084.
Клин. лаб. диагностика. 2023. № 9.
506-577

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);

Земсков В.М., д.м.н., профессор (Москва, Россия)

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

Ипполитов Е.В., д.м.н., профессор (Москва, Россия);

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

Тотоян 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);

Тальбов 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)

Founders:
LLC "Publishing Group
"Media Sphere"

Publisher:
Closed joint-stock
company "ECOLab"

D KLINICHESKAYA LABORATORNAYA iagnostika

Volume 68
9 • 2023

SCIENTIFIC Russian Clinical Laboratory Diagnostics

PRACTICAL MONTHLY JOURNAL

SEPTEMBER

The Journal is founded in 1955.

Publisher:
Joint-stock company "ECOLab 142530,
Moscow region, Elektrogorsk,
st. Budyonny, d. 1.

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

ПИ № ФС77-37760 от 07. 10. 2009 г.

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.

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*);

Vladimir M. Zemskov, Dr. Sci. (Med.), Professor (*Moscow, Russia*);

Evgeny V. Ippolitov, Dr. Sci. (Med.), Professor (*Moscow, Russia*);

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

Seifaddin G. Mardanly, 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*);

Iliia 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. Tartakovskiy, 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*)

ISSN 0869-2084.



LLC "Publishing Group "Media Sphere"

СОДЕРЖАНИЕ

БИОХИМИЯ

Ким Л.Б., Путятин А.Н.

Возрастные изменения показателей липидного профиля и артериального давления у мужчин, жителей Арктики510

Базарный В.В., Копенкин М.А., Полушина Л.Г., Семенцова Е.А., Мандра Ю.В.

Диагностическая эффективность определения некоторых белков митохондриального пути апоптоза в ротовой жидкости при возраст-ассоциированных заболеваниях полости рта518

ИММУНОЛОГИЯ

Авдеева А.С.

Интерферопатии типа I как один из механизмов развития иммуновоспалительных ревматических заболеваний (обзор литературы)527

ГЕМАТОЛОГИЯ

Халиулин А.В., Калашикова А.Н., Габрильчак А.И., Гусякова О.А., Селезнева И.А.

Патобиохимические особенности системы кроветворения при миелодиспластическом синдроме (обзор литературы)535

КОАГУЛОЛОГИЯ

Хабилова А. И., Литвинов Р. И.

Вклад сократительной способности тромбоцитов в лабораторные показатели, характеризующие функцию тромбоцитов544

МИКРОБИОЛОГИЯ

Мануйлова Е.Б., Садеков Т.Ш., Мехтиев Э.Р.О., Затевалов А.М.,

Самойлова М.В., Миронов А.Ю.

Микробиом-ассоциированная метаболомика в клинической лабораторной диагностике тонзиллита553

КЛИНИЧЕСКИЕ МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Гордеева Л.А., Поленок Е.Г., Воронина Е.Н., Соколова Е.А., Мун С.А.,

Чернокульская К.С., Култаева И.В., Оскорбина О.С., Глушков А.Н.

Изучение связи между иммунным ответом на ксено- и эндобиотики и полиморфными локусами генов ферментов биотрансформации у женщин с врожденными пороками развития у плода559

Гимранова И.А., Хакимова Л.Р., Акмалова Г.М., Газизуллина Г.Р.

Современные методы диагностики заболеваний пародонта: возможности и перспективы (обзор литературы)570

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

Kim L.B., Putyatina A.N.

Age-related changes in lipid profile and blood pressure in men, residents of the Arctic510

Bazarnyi V.V., Kopenkin M.A., Polushina L.G., Sementsova E.A., Mandra Yu.V.

The diagnostic efficacy of determination some proteins of apoptosis mitochondrial pathway
in saliva at age-related oral diseases518

IMMUNOLOGY

Avdeeva A.S.

Type I interferonopathy as one of the mechanisms of the development systemic
autoimmune rheumatic diseases (review of literature)527

HEMATOLOGY

Khaliulin A.V., Kalashnikova A.N., Gabrilchak A.I., Gusjakova O.A., Selezneva I.A.

Pathobiochemical features of hemopoies in myelodysplastic syndrome (review of literature)535

COAGULOLOGY

Khabirova A. I., Litvinov R. I.

Contribution of platelet contractility to the laboratory parameters that
characterize platelet function544

MICROBIOLOGY

Manuylova E.B., Sadekov T.Sh., Mekhiev E.R.O., Zatevalov A.M.,

Samoylova M.V., Mironov A.Yu.

Microbiome-associated metabolomic in the clinical laboratory diagnosis of tonsillitis.553

CLINICAL MOLECULAR STUDIES

Gordeeva L.A., Polenok E.G., Voronina E.N., Sokolova E.A., Mun S.A.,

Chernokulskaya K.S., Kultaeva I.V., Oskorbina O.S., Glushkov A.N.

The research of relationship between immune response to xeno- and endobiotics
and polymorphic loci of gene biotransformation enzymes in women with congenital
malformations in the fetus559

Gimranova I.A., Khakimova L.R., Akmalova G.M., Gazizullina G. R.

Modern methods of diagnosis of periodontal diseases: opportunities and prospects
(review of literature)570

БИОХИМИЯ

© КИМ Л.Б., ПУТЯТИНА А.Н., 2023

Ким Л.Б., Путятин А.Н.

ВОЗРАСТНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЛИПИДНОГО ПРОФИЛЯ И АРТЕРИАЛЬНОГО ДАВЛЕНИЯ У МУЖЧИН, ЖИТЕЛЕЙ АРКТИКИ

ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины» (ФИЦ ФТМ), 630117, Новосибирск, Россия

Представлены результаты исследования стандартных липидных показателей, липидных индексов и артериального давления у 91 мужчины работоспособного возраста, проживающих в экстремальных условиях Арктической зоны Российской Федерации. В зависимости от возраста все обследуемые распределены на 5 групп (1-я группа – до 29 лет, 2-я группа – 30-39 лет, 3-я группа – 40-49 лет, 4-я группа – 50-59 лет, 5-я группа – 60-69 лет). Мужчины 1-й группы имели нормальные величины артериального давления, индекса массы тела (ИМТ), показатели липидного профиля соответствовали референсным значениям. Однако два липидных индекса (коэффициент атерогенности – КА) и индекс накопления липидов (lipid accumulation product – LAP) оказались повышенными. У мужчин 2-й группы отмечено увеличение ИМТ, окружности талии, отношения окружности талии/окружности бедер, свидетельствующие о формировании абдоминальной формы ожирения. В этой группе были повышены 4 липидных индекса (КА, LAP, холестерин (ХС), не связанный с липопротеинами высокой плотности – ХС-нЛПВП и отношение триглицеридов/ХС-ЛПВП). У мужчин 3-й группы зарегистрировано высокое нормальное давление, признаки абдоминальной формы ожирения, гипертриглицеридемия, максимально высокие липидные индексы, особенно КА, LAP и отношение триглицеридов/ХС-ЛПВП. В 4-й группе на фоне высокого нормального давления и наличия абдоминальной формы ожирения обнаружено увеличение ХС и холестерина липопротеинов низкой плотности (ХС-ЛПНП), тенденция к снижению липидных индексов, кроме ХС-нЛПВП. У мужчин 5-й группы сохраняются высокое нормальное давление и признаки абдоминальной формы ожирения, повышенные липидные индексы. При этом стандартные липидные показатели соответствовали референсным значениям. Показатель ремнантный ХС в 3-й и 5-й группах был выше, чем в 1-й группе. Таким образом, результаты исследования свидетельствуют о целесообразности использования липидных индексов при обследовании северян. Несмотря на отсутствие субъективных ощущений, полезным становится изменение образа жизни (сбалансированное питание, осознанная двигательная активность, соблюдение режима труда и отдыха и др.), которое позволит регулировать массу тела и артериальное давление.

Ключевые слова: возраст; холестерин; триглицериды; холестерин липопротеинов высокой плотности (ХС-ЛПВП); холестерин липопротеинов низкой плотности (ХС-ЛПНП); липидные индексы; артериальное давление; мужчины; Арктика.

Для цитирования: Ким Л.Б., Путятин А.Н. Возрастные изменения показателей липидного профиля и артериального давления у мужчин, жителей Арктики. Клиническая лабораторная диагностика. 2023; 68 (9):510-517

DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2023-68-9-4-510-517>

Для корреспонденции: Ким Лена Борисовна, д-р мед. наук, гл. науч. сотр., руководитель группы биохимии соединительной ткани; e-mail: lbkim@frcftm.ru

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Работа выполнена в рамках Программы фундаментальных исследований Президиума РАН «Поисковые фундаментальные научные исследования в интересах развития Арктической зоны Российской Федерации» (проект № АААА-А-18-118012490030-7).

Благодарность. При выполнении исследования использовали оборудование ЦКП ФИЦ ФТМ «Современные оптические системы».

Поступила 01.06.2023

Принята к печати 21.06.2023

Опубликовано 08.09.2023

Kim L.B., Putyatina A.N.

AGE-RELATED CHANGES IN LIPID PROFILE AND BLOOD PRESSURE IN MEN, RESIDENTS OF THE ARCTIC

Federal state budgetary scientific institution «Federal Research Center of Fundamental and Translational Medicine» (FRC FTM), 630117, Novosibirsk, Russian Federation

The results of the study of standard lipid parameters, lipid indices and blood pressure in 91 men of working age living in extreme conditions of the Arctic zone of the Russian Federation are presented. Depending on the age, all the subjects were divided into 5 groups (1st – up to 29 years, 2nd – 30–39 years, 3rd – 40–49 years, 4th – 50–59 years, 5th – 60–69 years). Men of the 1st group had normal values of blood pressure, body mass index (BMI), lipid profile indicators corresponded to reference values. However, two lipid indices (atherogenicity coefficient – AC) and the lipid accumulation product index (LAP) were elevated. In men of the 2nd group, an increase in BMI, waist circumference, the ratio of waist circumference/hip circumference was noted, indicating

the formation of an abdominal form of pre-obesity. In this group, 4 lipid indices were increased (AC, LAP, cholesterol (TC) not associated with high-density lipoproteins – TC-nonHDL and the ratio of triglyceride/HDL-C). In men of group 3rd, high normal blood pressure, signs of abdominal pre-obesity, hypertriglyceridemia, the highest lipid indices, especially AC, LAP and ratio triglyceride/HDL-C, were registered. In group 4th, against the background of high normal pressure and the presence of abdominal pre-obesity, an increase in TC and low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) was found, a tendency to decrease lipid indices, except for HDL-C. Men of the 5th group have high normal blood pressure and signs of abdominal pre-obesity, elevated lipid indices. At the same time, the standard lipid parameters corresponded to the reference values. Thus, the results of the study indicate the expediency of using lipid indices in the examination of Northerners, especially among young people. Despite the absence of subjective feelings, it will be useful to change the lifestyle (balanced diet, conscious motor activity, compliance with work and rest, etc.), which will allow you to regulate body weight and blood pressure.

Key words: age, total cholesterol; triglycerides; high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C); low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C); lipid indices; blood pressure; men; Arctic.

For citation: Kim L.B., Putyatina A.N. Age-related changes in lipid profile and blood pressure in men, residents of the Arctic. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2023; 68 (9): 510-517 (in Russ.)
DOI: https://doi.org/10.51620/0869-2084-2023-68-9-510-517

For correspondence: Kim Lena Borisovna, Dr. Sci. Med., chief researcher, head of the Connective tissue biochemistry group FRC FTM; e-mail: lbkim@frcftm.ru

Information about authors:

Kim L.B., <https://orcid.org/0000-0002-4051-8854>;

Putyatina A.N., <https://orcid.org/0000-0001-9599-3049>.

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

Funding. The study was carried out with the partial support of the Presidium of the Russian Academy of Sciences under the basic research Program «Exploratory fundamental scientific research in the interests of the development of the Arctic zone of the Russian Federation».

Acknowledgments. We used the equipment of Core Facility «Modern Optical Systems» FRC FTM.

Received 01.06.2023

Accepted 21.06.2023

Published 08.09.2023

Введение. Частота сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) увеличивается с возрастом. В арктических регионах ССЗ регистрируются в более раннем возрасте и встречаются чаще [1]. Частота субклинического атеросклероза сонных артерий у пациентов с артериальной гипертензией (АГ) выявляется в 2,5 раза чаще, чем у жителей средней полосы [2]. В условиях арктической вахты определяется дислипидемия с накоплением в крови холестерина липопротеинов низкой плотности (ХС-ЛПНП) [3].

В тоже время есть данные, что за последние два десятилетия среди жителей Норвегии в возрасте 18–49 лет наблюдали улучшение липидного профиля [4]. При обследовании более одного миллиона норвежцев обнаружены существенные изменения по содержанию общего холестерина (ХС) и холестерина, не связанного с липопротеинами высокой плотности (ХС-нЛПВП).

Значительное снижение уровня ХС и ХС-ЛПНП с 2001 по 2018 год отмечено также у жителей Дании, особенно у лиц пожилого возраста [5]. Такие данные получены при обследовании лиц, не получавших статины. При обследовании мужчин в возрасте 20–54 лет, жителей Тромсо (Норвегия), продемонстрировано наличие биологических взаимосвязей между артериальным давлением (АД) и липидами крови [6]. Содержание ХС, ХС-ЛПВП и триглицеридов (ТГ) увеличивалось с повышением АД. При этом общеизвестно, что сочетание дислипидемии и АГ представляет больший риск развития ССЗ, чем каждый фактор по отдельности.

Показатели смертности от ССЗ в России (по данным городов Архангельска и Новосибирска) у лиц в возрасте 35–69 лет в 8 раз выше, чем в соседней Нор-

вегии [7]. Показано, что в Архангельске смертность от ССЗ не связана с классическими факторами риска [8]. Одной из причин такого явления могут быть одновременно протекающие процессы, связанные, во-первых, с адаптацией организма северян к действию специфических климато-географических факторов Арктики; во-вторых, с естественным процессом, связанным с особенностями старения организма в этом регионе. На Европейском Севере России отмечены признаки преждевременного старения организма [9]. В изменении скорости старения важными оказались особенности ремоделирования внеклеточного матрикса соединительной ткани с развитием интерстициального фиброза [10].

Имеются единичные данные о влиянии липидного обмена на темп старения пациентов с АГ, живущих в средней полосе страны [11]. Биологический возраст в этой группе пациентов был выше на 6,7 лет по сравнению с календарным возрастом. Нельзя исключить, что возрастные изменения липидного профиля северян сопряжены со скоростью старения и формированием кардиоваскулярного риска (КВР). Верификации данной гипотезы посвящено настоящее исследование, поскольку раннее выявление нарушений липидного обмена имеет большое значение для своевременно начатой профилактики сердечно-сосудистой патологии.

Цель исследования заключалась в изучении возрастных особенностей липидного профиля и артериального давления у мужчин, жителей Арктической зоны РФ.

Материал и методы. Исследование проводили в Ловозерском районе Мурманской области (67°с. ш.

и 34° в. д.) в период становления полярной ночи (ноябрь–декабрь). На основании письменного информированного согласия в исследование были включены практически здоровые мужчины, рабочие горнорудного предприятия (бурильщики, взрывники, горнорабочие очистительного забоя, горные инженеры, дробильщики, крепильщики и др.). Обследовали мужчин в возрасте 19–69 лет ($n = 91$ человек). Средний календарный возраст мужчин составил $44,3 \pm 1,35$ года, средняя продолжительность жизни в арктических условиях (полярный стаж) – $20,4 \pm 1,35$ года. В зависимости от календарного возраста мужчин были выделены 5 возрастных групп: 1-я группа до 29 лет ($n = 13$), 2-я группа – 30–39 лет ($n = 24$), 3-я группа – 40–49 лет ($n = 20$), 4-я группа – 50–59 лет ($n = 19$) и 5-я группа – 60–69 лет ($n = 15$).

При выполнении исследования соблюдались «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» (Хельсинская декларация Всемирной медицинской ассоциации 1964 г. с изменениями и дополнениями 2013 г.) и Правила клинической практики в Российской Федерации (Приказ Минздрава РФ от 19.06.2003 г. № 266). Протокол исследования одобрен Биоэтическим комитетом ФИЦ ФТМ.

Кровь забирали из локтевой вены в утренние часы, центрифугировали, полученную плазму замораживали при температуре -70 °С для последующего выполнения анализов. Определяли содержание ХС, ХС-ЛПНП, ХС-ЛПВП, ТГ. Содержание ХС и ТГ определяли с помощью наборов фирмы Thermo Fisher Scientific (США), ХС-ЛПВП и ХС-ЛПНП – наборов фирмы DiaSys (Германия). Измерения оптической плотности анализов проводили на автоматическом биохимическом анализаторе AU 480 Beckman Coulter (США).

Учитывая последние тенденции об альтернативных предикторах кардиометаболического риска [12, 13], был рассмотрен ряд липидных индексов. Рассчитывали коэффициент атерогенности (КА), $\text{ХС-неЛПВП} = \text{ХС} - \text{ХС-ЛПВП}$ [14], индекс накопления липидов (lipid accumulation product, LAP) = (окружность талии – 65) × ТГ [15], отношение ТГ/ХС-ЛПВП [16].

Прямое определение ХС-ЛПНП сделало возможным рассчитать содержание ремнантного ХС по формуле: $\text{ХС} - \text{ХС-ЛПВП} - \text{ХС-ЛПНП}$. Данный показатель рекомендован для включения в стандартный липидный профиль, включающего ХС, ТГ, ХС-ЛПВП, ХС-ЛПНП, ХС-неЛПВП, используемого для прогнозирования сердечно-сосудистого риска [17].

Измеряли артериальное давление на плечевой артерии: систолическое (САД) и диастолическое (ДАД). Проводили измерение роста (м) и массы тела (кг), окружности талии (ОТ, см) и бедер (ОБ, см) общепринятыми способами, рассчитывали индекс массы тела (ИМТ).

Статистическую обработку проводили с использованием пакета прикладных программ Statistica-10 (Stat Soft Inc., США). Поскольку в большинстве случаев распределение признаков в выборках не подчинялось закону нормального распределения (критерий Колмогорова–Смирнова), статистическую обработку

проводили непараметрическими методами, учитывали медиану (Me), нижний и верхний квартили (Q_{25} ; Q_{75}). Для проверки статистической гипотезы разности значений использовали U-критерий Манна–Уитни для двух независимых групп, нескольких групп – H-критерий Краскела–Уоллиса. Категориальные данные приводили с указанием абсолютных значений и процентных долей. Анализ сопряженности проявления признаков (сравнение частот) осуществляли при помощи критерия χ^2 Пирсона. Корреляционный анализ параметров проводили с учетом ранговой корреляции по Спирмену (r ; p). За критический уровень статистической значимости принимали $p < 0,05$.

Результаты. В таблице приведены результаты измерения периферического давления, антропометрических показателей и липидного профиля. В группах 3, 4 и 5 САД было выше, чем в 1-й и 2-й группах. ДАД имело тенденцию к росту в 3-й и 4-й группах. В 4-й группе величина ДАД составила 90 мм рт. ст. Величина САД и ДАД у мужчин 3–5-й групп свидетельствует о наличии высокого нормального артериального давления, которое является показанием для изменения образа жизни [18].

Величина ИМТ находилась в диапазоне избыточной массы тела (предожирения) и колебалась от 25,29 до 28,40 кг/м². В 1, 3 и 5-й группах меньше чем у половины северян был нормальный ИМТ (42%, 45% и 40%, соответственно), во 2-й и 4-й группах – он выявлялся реже (25% и 21%). Предожирение чаще регистрировалось в 1, 2 и 4-й группах (50%, 58%, 53%), чем в 3 и 5 группах (30 и 33%). С увеличением возраста мужчин чаще диагностировали ожирение 1-й степени (от 8% в 1 группе до 26% в 4 группе). Ожирение 2 степени отмечено у мужчин 3-й группы (5%) и 5-й группы (7%).

С возрастом увеличивалась окружность талии (85,0 см в 1-й группе до 100 см в 5-й группе), Окружность бедер колебалась незначительно, в результате отношение ОТ/ОБ возрастало. Так, в 3-й и 5-й группах оно составило 0,95 и увеличилось до 0,98 в 4-й группе, что свидетельствует о наличии абдоминальной формы предожирения у мужчин. Учитывая, что риск сердечно-сосудистых заболеваний и метаболических нарушений у мужчин повышен, если ОТ превышает 94 см [19, 20], можно ожидать формирование кардиоваскулярного риска у мужчин уже во 2-й группе.

По статусу курения значимых различий в группах не обнаружено. В 4-й группе алкоголь употребляли чаще, чем во 2-й группе.

Полученные данные согласуются с результатами обследования военнослужащих (30–55 лет) в Арктике [21]. Основными факторами риска развития ССЗ у них оказались абдоминальное ожирение, АГ и курение на фоне повышенного содержания ЛПНП, КА и ранней постпрандиальной гипергликемии.

Содержание ХС оказалось минимальным в 1-й группе, с возрастом оно увеличивалось: в 5-й группе превысило 5 мм/л (см. таблицу). В 4-й группе оно превысило данные 1, 2 и 3-й групп, в 5-й группе – данные 1-й группы. Минимальное содержание ТГ также отмечено в 1-й группе (см. таблицу). С возрастом содержание ТГ повышалось, в группах 3 и 5 ока-

Возрастные особенности показателей липидного профиля и артериального давления у мужчин на Европейском Севере России (Me, (Q₂₅; Q₇₅))

Показатель	1 группа (до 29 лет)	2 группа (30-39 лет)	3 группа (40-49 лет)	4 группа (50-59 лет)	5 группа (60-69 лет)	p
	n = 13	n = 24	n = 20	n = 19	n = 15	
Возраст, годы	27,00 (23,50; 28,00)	34,50 (32,25; 36,75)	43,00 (41,00; 46,75)	56,00 (53,00; 58,00)	62,00 (60,00; 64,00)	1-2, p = 0,0005 1-3, p = 0,0005 1-4, p = 0,0005 1-5, p = 0,0005 2-3, p = 0,0005 2-4, p = 0,0005 2-5, p = 0,0005 3-4, p = 0,0005 3-5, p = 0,0005 4-5, p = 0,0005
Табаккурение	7 (54%)	18 (75%)	13 (65%)	13 (68%)	9 (60%)	-
Употребление алкогольных напитков	9 (69%)	17 (71%)	18 (90%)	18 (95%)	11 (73%)	2-4, p = 0,046
САД, мм рт. ст.	120,00 (120,00; 120,00)	120,00 (120,00; 130,00)	130,00 (120,00; 140,00)	130,00 (120,00; 150,00)	130,00 (120,00; 147,00)	1-3, p = 0,016 1-4, p = 0,012 1-5, p = 0,021 2-3, p = 0,030 2-4, p = 0,004 2-5, p = 0,016
ДАД, мм рт. ст.	80,00 (70,00; 80,00)	80,00 (74,00; 81,00)	84,00 (70,00; 90,00)	90,00 (70,00; 90,00)	80,00 (70,00; 90,00)	-
ИМТ, кг/м ²	25,29 (23,55; 26,68)	27,41 (24,18; 28,76)	27,76 (24,30; 30,00)	27,73 (25,06; 30,86)	28,40 (23,67; 31,38)	-
18,5-24,9	5 (42%)	6 (25%)	9 (45%)	4 (21%)	6 (40%)	
25-29,9	6 (50%)	14 (58%)	6 (30%)	10 (53%)	5 (33%)	
30-34,9	1 (8%)	4 (17%)	4 (20%)	5 (26%)	3 (20%)	
35-39,9	-	-	1 (5%)	-	1 (7%)	
ОТ, см	85,00 (82,00; 90,00)	94,50 (84,00; 105,00)	99,50 (88,50; 105,00)	98,50 (94,00; 105,25)	100,00 (87,00; 105,00)	1-2, p = 0,048 1-3, p = 0,003 1-4, p = 0,001 1-5, p = 0,015
ОБ, см	101,00 (97,00; 103,00)	102,00 (95,75; 112,00)	103,50 (99,25; 108,75)	103,00 (97,00; 107,00)	102,00 (95,00; 107,50)	-
Индекс ОТ/ОБ	0,84 (0,83; 0,85)	0,92 (0,89; 0,95)	0,95 (0,89; 0,98)	0,98 (0,91; 0,99)	0,95 (0,89; 1,01)	1-2, p = 0,0002 1-3, p = 0,0005 1-4, p = 0,0005 1-5, p = 0,0002 2-4, p = 0,003 2-5, p = 0,035
ТГ, мм/л	0,87 (0,71; 1,40)	1,17 (0,81; 1,73)	1,97 (0,80; 3,12)	1,16 (0,80; 1,71)	1,63 (0,89; 2,23)	1-3, p = 0,009 1-5, p = 0,026 3-4, p = 0,023
ХС, мм/л	3,91 (3,64; 4,73)	4,56 (3,87; 5,23)	4,69 (4,34; 4,96)	5,46 (5,17; 6,20)	4,85 (4,20; 5,94)	1-4, p = 0,0004 1-5, p = 0,011 2-4, p = 0,001 3-4, p = 0,001
ХС-ЛПВП, мм/л	0,98 (0,75; 1,28)	0,96 (0,77; 1,11)	1,08 (0,66; 1,52)	1,28 (0,95; 1,87)	1,19 (0,98; 1,46)	2-4, p = 0,003 2-5, p = 0,014
ХС-ЛПНП, мм/л	2,09 (1,81; 2,68)	2,52 (1,98; 2,91)	2,50 (2,16; 2,68)	3,04 (2,66; 3,36)	2,72 (2,16; 3,36)	1-4, p = 0,001 1-5, p = 0,028 2-4, p = 0,003 3-4, p = 0,003
КА	3,30 (2,60; 4,00)	3,70 (2,38; 4,83)	4,55 (2,15; 6,18)	3,30 (1,70; 5,00)	3,35 (2,65; 3,90)	1-3, p = 0,050
ХС-нелПВП	3,11 (2,55; 3,76)	3,62 (2,85; 4,36)	3,75 (3,09; 4,41)	4,10 (3,39; 4,98)	4,15 (3,31; 4,82)	1-4, p = 0,020
Ремнантный ХС	0,93 (0,72; 1,10)	1,11 (0,75; 1,41)	1,33 (0,86; 1,91)	1,03 (0,77; 1,75)	1,29 (0,88; 1,46)	1-3, p = 0,020 1-5, p = 0,023
ТГ/ХС-ЛПВП	0,87 (0,64; 1,32)	1,16 (0,68; 1,55)	2,38 (0,68; 4,11)	0,91 (0,50; 1,68)	1,38 (0,69; 1,70)	1-3, p = 0,010 2-3, p = 0,020 3-4, p = 0,018
LAP	18,33 (13,80; 37,97)	28,10 (13,37; 51,11)	63,50 (18,13; 117,24)	42,92 (24,78; 60,32)	57,05 (21,00; 93,99)	1-3, p = 0,011 2-3, p = 0,050

Примечание. Результаты исследования представлены в виде Me (Q₂₅; Q₇₅) и % – процент от общего числа.

залось статистически значимо высоким относительно данных 1-й группы. Содержание ХС-ЛПВП ниже 1,0 мМ/л было в 1 и 2-й группах, причем во 2-й группе оно было значимо ниже, чем в 4-й и 5-й группах. Максимальное содержание ХС-ЛПВП было в 4 группе. Оно оказалось повышенным относительно 1, 2 и 3-й групп (см. таблицу).

Показатель ХС-неЛПВП, отражающий все атерогенные липопротеины (Апо В-содержащие липопротеины), увеличивался с возрастом. В группах 4 и 5 он оказался выше верхней границы допустимых значений, если ориентироваться на верхнюю границу нормы ХС-неЛПВП 4,0 мМ/л [14]. По мнению сибирских исследователей значения ХС-неЛПВП $\geq 3,4$ мМ/л следует рассматривать как гиперХС-неЛПВП [22]. Показатель ремнантный ХС, представляющий ХС липопротеинов очень низкой плотности и ХС липопротеинов промежуточной плотности [17], был повышен в 3 и 5-й группах относительно данных 1-й группы (см. таблицу).

Показатель коэффициент атерогенности был выше 3,0 во всех группах. Индекс LAR выше 21 и индекс ТГ/ХС-ЛПВП выше 0,9 зарегистрированы во всех группах, кроме 1-й группы. При этом максимальные значения этих индексов отмечены у мужчин 3-й группы.

Корреляционный анализ выявил положительные связи возраста с такими показателями, как САД ($r=0,371$, $p=0,001$), ДАД ($r=0,211$, $p=0,049$), ОТ ($r=0,312$, $p=0,003$), отношение ОТ/ОБ ($r=0,519$, $p=0,0001$), ХС ($r=0,422$, $p=0,0001$), ХС-ЛПВП ($r=0,260$, $p=0,019$), ХС-ЛПНП ($r=0,355$, $p=0,001$), КА ($r=0,421$, $p=0,0001$), ХС-неЛПВП ($r=0,307$, $p=0,005$), LAR ($r=0,296$, $p=0,008$), подтверждающие возрастную динамику липидного профиля и АД у северян.

Обсуждение. Результаты исследования показали, что повышенное содержание ХС наблюдалось у мужчин в возрасте 50–59 лет, ТГ – в группе 40–49 лет. В группе мужчин до 29 лет показатели липидного профиля, АД и антропометрические измерения соответствовали референсным значениям. В группе мужчин 30–39 лет отмечена тенденция к снижению ХС-ЛПВП, увеличению ОТ, ИМТ и ряда липидных индексов (КА, ТГ/ХС-ЛПВП, LAR, ремнантный ХС), являются значимыми предпосылками для формирования кардиоваскулярного риска. Начиная с 40-летнего возраста, признаки КВР становятся более отчетливыми. В частности, наблюдалось дальнейшее увеличение ОТ, отношения ОТ/ОБ, содержания ТГ, ИМТ при нормально высоком САД и максимально высоких липидных индексах (КА, ТГ/ХС-ЛПВП, LAR). У мужчин группы 50–59 лет сохранялись нормально высокое давление САД, ОТ, отношения ОТ/ОБ, ИМТ наряду с увеличением содержания ХС и ХС-ЛПНП, индекса ХС-неЛПВП выше допустимых значений, но наметилась тенденция к снижению других индексов: КА, ТГ/ХС-ЛПВП, LAR. У мужчин группы 60–69 лет имелись признаки абдоминальной формы предожирения, нормально высокое САД, повышенные липидные индексы (КА, ТГ/ХС-ЛПВП, ХС-неЛПВП, ремнантный ХС и LAR).

Можно ожидать, что рекомендации коррекции мас-

сы тела будут полезными и эффективными для мужчин всех возрастных групп. Тем более, что имеются положительные результаты использования индивидуализированных образовательных технологий немедицинской коррекции массы тела даже у пациентов с высоким КВР (метаболический синдром) [23].

Таким образом, возрастные изменения липидного профиля и индексов, величины САД, наличие избыточной массы тела и абдоминальной формы предожирения составляют основу формирования КВР. Действительно, ранее было показано, что КВР у северян с возрастом не только возрастал, но расширялся также диапазон риска – от низкого уровня до очень высокого [24]. Если в группе 40–49 лет низкий уровень риска имелся у 26%, у остальных 74% в этой группе определялся умеренный риск. В группах 50–59 и 60–69 лет оказались лица трех степеней риска – от умеренного, повышенного до очень высокого уровня.

Об изменении состояния здоровья с возрастом подтверждают данные оценки биологического возраста, самооценки здоровья и патологического индекса у обследованных мужчин [25], которые позволили говорить о преждевременном старении организма, приводящим к раннему развитию возрастсвязанных заболеваний. Отмечалось, что этому способствует также возрастное снижение половых гормонов [24]. У мужчин до 29 лет было максимальное содержание общего тестостерона, дегидроэпиандростерон сульфата [24] и свободного тестостерона [26], с возрастом их содержание постепенно снижалось. В возрастной группе 60–69 лет содержание общего тестостерона составило 65%, дегидроэпиандростерон сульфата – 33%, свободного тестостерона – 50% от их содержания в возрасте до 29 лет [24, 26].

Более того, снижение содержания с возрастом половых гормонов, мелатонина, эндогенного антиоксиданта, сопровождалось увеличением содержания конечных продуктов перекисного окисления липидов и ослаблением системы антиоксидантной защиты за счет сульфгидрильных групп [26] на фоне увеличения, независимо от возраста, содержания васкулоэндотелиального фактора роста [27]. Обнаруженная прямая корреляция содержания васкулоэндотелиального фактора роста с проатерогенными (ТГ, ХС, ХС-ЛПНП, Апо В и КА) и профибротическими факторами (гиалуронан, пептидно-связанный гидроксипролин, сульфатированные гликозаминогликаны) отражает влияние северной тканевой гипоксии, сочетающей в себе признаки классических форм гипоксий [28] на модуляцию процесса старения человека в Арктике.

Было показано, что отношение ТГ/ХС-ЛПВП у 1000 практически здоровых корейских мужчин среднего и пожилого возраста отрицательно коррелировало с уровнями тестостерона и глобулина, связывающего половые гормоны [29]. Можно ожидать наличие отрицательной связи общего и свободного тестостерона, дегидроэпиандростерон сульфата с другими индексами (КА, ХС-неЛПВП, LAR) у северян.

Возрастные изменения липидного спектра мужчин, городских жителей Европейской части России, отличались от данных северян. В группе мужчин

43–62 лет было максимальное содержание ХС (5,23 мМ/л), ХС-ЛПВП (1,20 мМ/л), ТГ (1,48 мМ/л), в группе 63–73 лет наметилась тенденция к снижению содержания ХС до 4,85 мМ/л, ХС-ЛПВП – до 1,13 мМ/л [30]. Содержание ХС-ЛПВП в группе 22–42 года составило 3,59 мМ/л, в группе 43–62 года – 3,26 мМ/л, в группе 63–73 года – уже 2,87 мМ/л. По-видимому, эти различия можно связать с большим (20-летним) возрастным периодом, тогда как в настоящем исследовании анализировали 10-летние периоды.

При обследовании юношей, живущих в Магадане ($n = 32$, календарный возраст – 20–21 год, ИМТ – 23,1 кг/м²), показатели липидного профиля соответствовали референсным значениям (ХС – 3,84±0,07 мМ/л, ТГ – 0,87±0,04 мМ/л, ХС-ЛПВП – 1,28±0,03 мМ/л, ХС-ЛПНП – 2,03±0,08 мМ/л, КА – 2,40±0,14 усл. ед.) [31]. Тем не менее, у 4% юношей было повышено содержание ХС (более 5,18 мМ/л) и ТГ (более 1,7 мМ/л), у 12% – ХС-ЛПНП (более 3,0 мМ/л), и у 10% было снижено содержание ХС-ЛПВП (менее 0,9 мМ/л). Из данных таблицы следует, что в группе мужчин до 29 лет такие показатели как ХС, ХС-ЛПНП не выходят за рамки референсных значений, однако они оказались выше, чем у юношей Магадана, что связано с присутствием в группе лиц старше 21 года.

Есть данные, что у практически здоровых мужчин, жителей г. Архангельска в возрасте от 20–29 лет LAR составил 10,2, в группе 30–39 лет – 19,1, 40–49 лет – 21,2 и в 50–59 лет – 22,8 [15]. Более низкие значения индекса LAR у архангелогородцев можно объяснить меньшими антропометрическими показателями: ОТ (75–87 см), ИМТ (22,1–26,3 кг/м²), ТГ (0,85–1,58 мМ/л). По этой же причине у японских мужчин LAR не превысил 21,2, индекс ТГ/ХС-ЛПВП – 0,9, у которых ОТ составила 81,8 см, а ИМТ не превысил 23 кг/м² [32].

У практически здоровых мужчин-архангелогородцев, обследованных во время профосмотра, в возрастной группе 25–35 лет содержание ХС составило 4,81 мМ/л, ХС-ЛПНП – 3,76 мМ/л, КА – 3,0 усл. ед. В группе старше 36–55 лет – показатели были незначительно повышены, 5,03 мМ/л, 4,61 мМ/л и 3,52 усл. ед. соответственно [33]. При этом в обеих группах содержание ТГ было ниже 1,7 мМ/л. Отсутствие значимых различий можно связать с формированием возрастных групп с 20-летним диапазоном.

Увеличение отношения ТГ/ХС-ЛПВП с возрастом северян предполагает снижение эластичности артерий. Предположение основано на результатах обследования 926 практически здоровых мужчин, жителей Китая из провинции Гуандун [16]. Авторы отметили положительную взаимосвязь между отношением ТГ/ХС-ЛПВП и ИМТ, САД, ДАД, ХС, ХС-ЛПНП, ТГ и высокой плече-лодыжечной скоростью распространения пульсовой волны (baPWV).

Кроме того, недавние наши исследования показали, что у практически здоровых мужчин, жителей Европейского Севера России ($n = 31$, возраст 42,68±2,44 года, северный стаж – 19,7±2,4 года) такие липидные индексы, как КА, LAR и ТГ/ХС-ЛПВП были повышенными и они коррелировали с уровнем АД [34].

В частности, выявлена положительная связь КА с периферическим САД и ДАД, аортальным систолическим, диастолическим и пульсовым давлением; индекса ХС-нелПВП с аортальным систолическим и диастолическим давлением, но отрицательная корреляция LAR с периферическим пульсовым давлением. Важно отметить, что традиционные липидные показатели у северян соответствовали референсным значениям при наличии нормального высокого АД и абдоминальной формы предожирения.

Заключение. Результаты настоящего исследования демонстрируют необходимость разработки целевых программ профилактики ССЗ в Арктике для мужчин с учетом их возраста. Целесообразно с 30-летнего возраста выполнять рекомендации, направленные на профилактику абдоминального предожирения, отказа от вредных привычек. Для мужчин в возрасте 40–49 лет актуальны мероприятия, направленные не только на снижение ИМТ, но и содержания ТГ, контроль уровня АД, выявленные максимальные значения липидных индексов у представителей этой группы свидетельствуют о большей их уязвимости по риску ССЗ; для возрастной группы 50–59 лет – снижение массы тела, включение гипотензивной и гиполипидемической терапии; 60–69 лет – гипотензивная и гиполипидемическая терапия, контроль уровня АД, оптимизация образа жизни (поддержание уровня физической активности, соблюдение диеты, контроль уровня ХС и ТГ). Независимо от возраста мужчин отказ от вредных привычек (курение сигарет и их заменителей, прием алкоголя) будет полезным для нормализации дислипидемий.

Таким образом, для мужчин работоспособного возраста в Арктике ключевым остается изменение образа жизни через мероприятия, направленные на нормализацию массы тела и характера питания, режима двигательной активности с учетом фотопериодики и погодных условий, отказ от вредных привычек. Эти мероприятия, отраженные в Клинических рекомендациях «Нарушения липидного обмена» [35] обеспечат снижение риска развития ССЗ и их осложнений.

ЛИТЕРАТУРА (п.п. 4–8, 10, 12, 13, 16, 18, 24–27, 29, 32, 34 см. REFERENCES)

1. Панин Л.Е. Фундаментальные проблемы приполярной и арктической медицины. *Бюллетень СО РАМН*. 2013; 33(6): 5–10.
2. Ветошкин А.С., Шуркевич Н.П., Гапон Л.И., Губин Д.Г., Пошинов Ф.А., Велижанин С.Н. Повышенное артериальное давление и атеросклероз в условиях северной вахты. *Артериальная гипертензия*. 2018; 5: 548–55. DOI: 10.18705/1607-419X-2018-24-5-548-555.
3. Шуркевич Н.П., Ветошкин А.С., Гапон Л.И., Симонян А.А. Субклинический каротидный атеросклероз в условиях арктической вахты. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2019; 18(4): 86–91. DOI: 10.15829/1728-8800-2019-4-86-91.
9. Ким Л.Б., Кожин П.М., Путьгина А.Н. Исследование молекулярного маркера старения у мужчин Европейского Севера России. *Журн. мед.-биол. исследований*. 2017; 5(3): 70–8. DOI: 10.17238/issn2542-1298.2017.5.3.70.
11. Булгакова С.В., Гусякова О.А., Тренева Е.В., Захарова Н.О., Николаева А.В. Влияние липидного обмена на темп старения пациентов с артериальной гипертензией. *Клиническая лабораторная*

- диагностика. 2018; 63(8): 495–99. DOI: 10.18821/0869-2084-2018-63-8-495-499.
14. Канева А.М., Бойко Е.Р. Индексы липидного обмена: информативность и клиническое значение при оценке атерогенности липидного профиля крови. *Медицинский академический журнал*. 2017; 17 (1): 41–50.
 15. Канева А.М., Потолицына Н.Н., Бойко Е.Р. Диапазон варьирования значений индекса накопления липидов (lipid accumulation product, LAP) у здоровых жителей европейского Севера России. *Ожирение и метаболизм*. 2020; 17(2): 179–86. DOI: 10.14341/omet11278.
 17. Ланглюа М.Р., Нордестгаард Б.Г., Лангстед Э., Чепмен Дж., Акре К.М., Баум Х. и др. Количественное измерение атерогенных липопротеинов в стратегии снижения содержания липидов: согласованные рекомендации экспертов Европейского общества атеросклероза (EAS) и Европейской федерации клинической химии и лабораторной медицины (EFLM). *Лабораторная служба*. 2021; 10(1): 45–67. DOI: 10.17116/labs20211001145.
 19. Бойцов С.А., Драпкина О.М., Калинина А.М., Ипатов П.В., Вергазова Э.К., Гамбарян М.Г. и др. Организация проведения диспансеризации определенных групп взрослого населения. Методические рекомендации по практической реализации приказа Минздрава России от 26.10.2017, № 869н. М.; 2017. DOI: 10.17116/profmed2017medrek01v4.
 20. Драпкина О.М., Дроздова Л.Ю. Организация проведения профилактического медицинского осмотра и диспансеризации определенных групп взрослого населения. Методические рекомендации по практической реализации приказа Минздрава России от 13.03.2019, №124н. М.; 2019.
 21. Фисун А.Я., Гордиенко А.В., Сердюков Д.Ю., Кабисова В.И., Грашин Р.А., Григорьев С.Г. Влияние арктического фактора на развитие артериальной гипертензии и атеросклероза в воинских коллективах. *Военно-медицинский журнал*. 2018; 339(7): 4–9. DOI: 10.17816/RMMJ72976.
 22. Симонова Г.И., Мустафина С.В., Рымар О.Д., Малютина С.К., Щербачева Л.В., Каширина А.П. и др. Ассоциации холестерина липопротеинов невысокой плотности с метаболическим синдромом, диабетом и артериальной гипертензией в популяции 45–69 лет. *Артериальная гипертензия*. 2022; 28(5): 501–17. DOI: 10.18705/1607-419X-2022-28-5-501-517.
 23. Петров И.М., Шоломов И.Ф., Петрова Ю.А., Дороднева Е.Ф., Медведева И.В. Персонифицированная стратегия коррекции факторов кардиометаболического риска у пришлого населения Арктики. *Клиническая медицина*. 2016; 94(7): 518–26. DOI: 10.18821/0023-2149-2016-94-7-518-526.
 28. Ким Л.Б. Транспорт кислорода при адаптации человека к условиям Арктики и кардиореспираторной патологии. Новосибирск: Наука; 2015.
 30. Уразгильдеева С.А., Нижегородцев М.Ю., Садовников П.С., Ольховик А.Ю., Нохрин Д.Ю., Музалевская М.В. и др. Возрастные и гендерные особенности липидного спектра крови городских жителей (по результатам кросс-секционного исследования). *Рациональная фармакотерапия в кардиологии*. 2017; 13(5): 637–44. DOI: 10.20996/1819-6446-2017-13-5-637-644.
 31. Аверьянова И.В. Сезонная динамика основных показателей липидного и углеводного обмена у студентов аборигенов и европеоидов Северо-Востока России. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2018; 63(3): 159–63. DOI: 10.18821/0869-2084-2018-63-3-159-163.
 33. Соловьева В.А., Бичкаева Ф.А., Соловьева Н.В., Удовенкова Л.П. Возрастные особенности нарушений липидного обмена у лиц с хронической алкогольной интоксикацией. *Вятский медицинский вестник*. 2017; (4): 33–6. Клинические рекомендации «Нарушения липидного обмена» 2023-2024-2025 (15.02.2023). 2023.
 2. Vetoshkin A.S., Shurkevich N.P., Gapon L.I., Gubin D.G., Poshinov F.A., Velizhanin S.N. Atherosclerosis and high blood pressure in the northern watch. *Arterial'naya Gipertenziya*. 2018; 24(5): 548–55. (in Russian)
 3. Shurkevich N.P., Vetoshkin A.S., Gapon L.I., Simonyan A.A. Risk factors and subclinical carotid atherosclerosis in rotating scheme conditions in the Arctic. *Kardiovaskulyarnaya terapiya i profilaktika*. 2019; 18(4): 86–91. (in Russian)
 4. Arnesen E.K., Retterstøl K. Secular trends in serum lipid profiles in young adults in Norway, 2001–19. *Atheroscler. Plus*. 2022; 48: 60–7. DOI: 10.1016/j.athplu.2022.03.006.
 5. Engell A.E., Jørgensen H.L., Lind B.S., Pottegård A., Andersen C.L., Andersen J.S. et al. Decreased plasma lipid levels in a statin-free Danish primary health care cohort between 2001 and 2018. *Lipids Health Dis*. 2021; 20(1): 147. DOI: 10.1186/s12944-021-01579-6.
 6. Børsum K.H., Thelle D.S. Association between blood pressure and serum lipids in a population. The Tromsø Study. *Circulation*. 1991; 83(4): 1305–14. DOI: 10.1161/01.cir.83.4.1305.
 7. Lakunchykova O., Averina M., Wilsgaard T., Watkins H., Malyutina S., Ragino Y. et al. Why does Russia have such high cardiovascular mortality rates? Comparisons of blood-based biomarkers with Norway implicate non-ischaeamic cardiac damage. *J. Epidemiol. Community Health*. 2020; 74(9): 698–704. DOI: 10.1136/jech-2020-213885.
 8. Averina M., Nilssen O., Brenn T., Brox J., Kalinin A.G., Arkhipovsky V.L. High cardiovascular mortality in Russia cannot be explained by the classical risk factors. The Arkhangelsk Study 2000. *Eur. J. Epidemiol*. 2003; 18(9): 871–8. DOI: 10.1023/a:1025626202235.
 9. Kim L.B., Kozhin P.M., Putyatina A.N. Study of molecular marker of ageing in male residents of the European North of Russia. *Zhurnal mediko-biologicheskikh issledovaniy*. 2017; 5(3): 70–8. (in Russian)
 10. Kim L.B., Belisheva N.K., Putyatina A.N., Russkih G.S., Kozhin P.M., Tsyppysheva O.B. Age-related dynamics of the main extracellular matrix components in residents of the Russian Arctic. *Adv. Gerontol*. 2017; 30(3): 332–40. DOI: 10.1134/S2079057017040075.
 11. Bulgakova S.V., Gussyakova O.A., Treneva E.V., Zakharova N.O., Nikolaeva A.V. The impact of lipid metabolism on the rate of aging of patients with arterial hypertension. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2018; 63(8): 495–99. (in Russian)
 12. Çelik E., Çora A.R., Karadem K.B. The effect of untraditional lipid parameters in the development of coronary artery disease: atherogenic index of plasma, atherogenic coefficient and lipoprotein combined index. *J. Saudi Heart Assoc*. 2021; 33(3): 244–50. DOI: 10.37616/2212-5043.1266.
 13. Gaggini M., Gorini F., Vassalle C. Lipids in atherosclerosis: pathophysiology and the role of calculated lipid indices in assessing cardiovascular risk in patients with hyperlipidemia. *Int. J. Mol. Sci*. 2022; 24(1): 75. DOI: 10.3390/ijms24010075.
 14. Kaneva A.M., Boiko E.R. Lipid metabolism index: information capacity and clinical significance in the course of valuation of atherogenicity of lipid profile. *Meditinskiy akademicheskij zhurnal*. 2017; 17(1): 41–50. (in Russian)
 15. Kaneva A.M., Potolitsyna N.N., Bojko E.R. Range of values for lipid accumulation product (LAP) in healthy residents of the European North of Russia. *Ozhirenie i metabolizm*. 2020; 17(2): 179–86. (in Russian)
 16. Wen J.H., Zhong Y.Y., Wen Z.G., Kuang C.Q., Liao J.R., Chen L.H. et al. Triglyceride to HDL-C ratio and increased arterial stiffness in apparently healthy individuals. *Int. J. Clin. Exp. Med*. 2015; 8(3): 4342–8.
 17. Langlois M.R., Nordestgaard B.G., Langsted A., Chapman M., Aakre K.M., Baum H. et al. Quantifying atherogenic lipoproteins for lipid-lowering strategies: consensus-based recommendations from EAS and EFLM. *Laboratornaya sluzhba*. 2021; 10(1): 45–67. (in Russian)
 18. Visseren F.L.J., Mach F., Smulders Y.M., Carballo D., Koskinas K.C., Böck M. et al. ESC National Cardiac Societies; ESC Scientific Document Group. 2021 ESC Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice. *Eur. Heart J*. 2021; 42(34):

REFERENCES

1. Panin L.E. Fundamental problems of the circumpolar and arctic medicine. *Byulleten' SO RAMN*. 2013; 33(6): 5–10. (in Russian)

- 3227–37. DOI: 10.1093/eurheartj/ehab484.
19. Bojcov S.A., Drapkina O.M., Kalinina A.M., Ipatov P.V., Vergazova E.K., Gambaryan M.G. et al. Organization of medical examination of certain groups of the adult population. Methodological recommendations on practical implementation of the order of the Ministry of Health of the Russian Federation from 26.10.2017, № 869n. Moscow; 2017. (in Russian)
 20. Drapkina O.M., Drozdova L.Yu. Organization of preventive medical examination and medical examination of certain groups of the adult population. Methodological recommendations for the practical implementation of the order of the Ministry of Health of the Russian Federation from 13.03.2019, № 124n. Moscow; 2019. (in Russian)
 21. Fisun A.Y., Gordienko A.V., Serdyukov D.Y., Kabisova V.I., Grashin R.A., Grigorev S.G. Influence of the Arctic factor on arterial hypertension and atherosclerosis in military troops. *Voenno-meditsinskiy zhurnal*. 2018; 339(7): 4–9. (in Russian)
 22. Simonova G.I., Mustafina S.V., Rymar O.D., Malyutina S.K., Shcherbakova L.V., Kashirina A.P. et al. Association of non-high-density lipoprotein hypercholesterol with metabolic syndrome, diabetes and arterial hypertension in the population of 45–69 years adults. *Arterial'naya Gipertenziya*. 2022; 28(5): 501–17. (in Russian)
 23. Petrov I.M., Sholomov I.F., Petrova Yu.A., Dorodneva E.F., Medvedeva I.V. Personified strategy for the correction of cardiometabolic risk factors in the alien population of the Arctic. *Klinicheskaya meditsina*. 2016; 94(7): 518–26. (in Russian)
 24. Kim L.B., Russkikh G.S., Gevorgian M.M., Putyatina A.N., Voronina N.P., Kozhin P.M. et al. Sex hormones and cardiovascular risk in male mining workers living in the European North. *Human Physiology*. 2016; 42(2): 195–202. DOI: 10.1134/S0362119716020080.
 25. Kim L.B., Belisheva N.K., Putyatina A.N., Russkikh G.S., Kozhin P.M., Tsypysheva O.B. Quality of life for men of different ages in the European Russian North and its relationship with self-rated health and hormonal status. *Adv. Gerontol.* 2016; 6(4): 343–51. DOI: 10.1134/S207905701604007X.
 26. Kim L.B., Putyatina A.N., Russkikh G.S., Tsypysheva O.B. Melatonin and the aging process in men in the European part of the Arctic zone of Russia. *Adv. Gerontol.* 2019; 9(1): 67–74. DOI: 10.1134/S2079057019010090.
 27. Kim L.B., Russkikh G.S., Putyatina A.N., Tsypysheva O.B. Age-related features of the relationship between the content of vascular endothelial growth factor and the parameters of the lipid metabolism and extracellular matrix metabolism in men of the European part of the Russian Arctic. *Adv. Gerontol.* 2021; 11(1): 93–100. DOI: 10.1134/S2079057021010392.
 28. Kim L.B. Transport kisloroda pri adaptatsii cheloveka k usloviyam Arktiki i kardiorespiratornoi patologii [*Oxygen transport in human adaptation to Arctic conditions and cardiorespiratory pathology*]. Novosibirsk: Nauka; 2015. (in Russian)
 29. Chung T.H., Kwon Y.J., Lee Y.J. High triglyceride to HDL cholesterol ratio is associated with low testosterone and sex hormone-binding globulin levels in middle-aged and elderly men. *Aging Male*. 2020; 23(2): 93–7. DOI: 10.1080/13685538.2018.1501015.
 30. Urazgildeeva S.A., Nizhegorodcev M.Y., Sadovnikov P.S., Olkhovik A.Y., Nokhrin D.Y., Muzalevskaya M.V. et al. Age and gender peculiarities of blood lipids in urban residents (cross-sectional study results). *Ratsional'naya farmakoterapiya v kardiologii*. 2017; 13(5): 637–44. (in Russian)
 31. Averianova I.V. The age dynamics of characteristics of metabolism of lipids and carbohydrates in male youths of the North-East of Russia. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2018; 63(3): 159–63. (in Russian)
 32. Nakagomi A., Imazeki F., Nishimura M., Sawabe Y., Matsushita K., Murata A. et al. Central blood pressure and pulse wave velocity in young and middle-aged Japanese adults with isolated systolic hypertension. *Hypertens Res*. 2020; 43(3): 207–12. DOI: 10.1038/s41440-019-0364-x.
 33. Soloveva V.A., Bichkayeva F.A., Soloveva N.V., Udovenkova L.P. Age peculiarities of lipid exchange disorders in persons with chronic alcohol intoxication. *Vyatskiy meditsinskiy vestnik*. 2017; (4): 33–6. (in Russian)
 34. Kim L.B., Putyatina A.N. The relationship of lipid profile and blood pressure in men in the European North of Russia. *Yakut medical journal*. 2023; 1: 90–3. DOI: 10.25789/YMJ.2023.81.24.
 35. Clinical recommendations of «Lipid metabolism disorders» 2023–2024–2025 (15.02.2023). 2023. (in Russian)

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2023

Базарный В.В., Копенкин М.А., Полушина Л.Г., Семенцова Е.А., Мандра Ю.В.

ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ОПРЕДЕЛЕНИЯ НЕКОТОРЫХ БЕЛКОВ МИТОХОНДРИАЛЬНОГО ПУТИ АПОПТОЗА В РОТОВОЙ ЖИДКОСТИ ПРИ ВОЗРАСТ-АССОЦИИРОВАННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ПОЛОСТИ РТА

ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, 620028, г. Екатеринбург, Россия

Различные механизмы клеточной гибели играют определённую роль в патогенезе заболеваний полости рта, ассоциированных со старением, такими как хронический генерализованный пародонтит (ХГП) и красный плоский лишай (КПЛ). Маркёры апоптоза, определяемые в ротовой жидкости (РЖ), могут быть ценным инструментом в диагностике этих заболеваний, представляют интерес в качестве биомаркёров старения. Цель - оценить взаимосвязь механизмов апоптоза с возраст-ассоциированными стоматологическими заболеваниями - ХГП и КПЛ. Обследованы 78 человек. Контрольная группа представлена здоровыми добровольцами молодого возраста (n=22), группа сравнения - относительно здоровыми лицами пожилого возраста (n=10). Выделена группа пациентов пожилого возраста с ХГП средней степени тяжести (n=10) и группу пожилого возраста с КПЛ (n=10). Пациенты зрелого возраста сформировали группу с ХГП лёгкой (n=16) и с ХГП средней степени тяжести (n=10). В РЖ определяли белок bcl-2, цитохром c (cyt-c), фермент глициральдегид-3-фосфатдегидрогеназу (GAPDH) методом мультипараметрического флуорисцентного анализа с магнитными микросферами (xMAP, Luminex 200, USA), тест-система ProcartaPlex Human Apoptosis Panel 6-Plex (Invitrogen, USA). Установлено, что пациенты пожилого возраста с КПЛ отличались наиболее высоким содержанием cyt-c в РЖ. Пациенты пожилого возраста с ХГП имели концентрацию cyt-c выше, чем группы пациентов зрелого возраста с ХГП лёгкой и средней степени тяжести. Пациенты зрелого возраста с ХГП отличались от контрольной группы более низким уровнем cyt-c и GAPDH в РЖ. Уровень слюварного cyt-c представляет интерес в выявлении пациентов зрелого возраста с ХГП. Предполагаем, что cyt-c может являться биомаркёром ускоренного патологического старения тканей полости рта.

Ключевые слова: ротовая жидкость; bcl-2; цитохром c; глициральдегид-3-фосфатдегидрогеназа; апоптоз; старение; биомаркеры.

Для цитирования: Базарный В.В., Копенкин М.А., Полушина Л.Г., Семенцова Е.А., Мандра Ю.В. Диагностическая эффективность определения некоторых белков митохондриального пути апоптоза в ротовой жидкости при возраст-ассоциированных заболеваниях полости рта. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2023; 68 (9):518-526

DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2023-68-9-518-526>

Для корреспонденции: Копенкин Максим Александрович, аспирант; e-mail: maximkopenkin@yandex.ru

Финансирование. Работа выполнена за счёт средств государственного задания на научно-исследовательскую работу «Предикторы старения в полости рта и возможность их использования для персонализации стоматологического лечения». Регистрационный номер 121032300110-4.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 09.06.2023
Принята к печати 05.07.2023
Опубликовано 08.09.2023

Bazarnyi V.V., Kopenkin M.A., Polushina L.G., Sementsova E.A., Mandra Yu.V.

THE DIAGNOSTIC EFFICACY OF DETERMINATION SOME PROTEINS OF APOPTOSIS MITOCHONDRIAL PATHWAY IN SALIVA AT AGE-RELATED ORAL DISEASES

Ural State Medical University, 620109, Yekaterinburg, Russia

Cell death plays a significant role in the pathogenesis of oral age-related disease, such as chronic periodontitis (CP) and oral lichen planus (OLP). Apoptosis biomarkers in saliva can be a useful method of these diseases diagnostic, and are also interesting as biomarkers of aging. The aim of the study was to evaluate the relationship of apoptosis mechanisms with oral age-related diseases - CP and OLP. The study included 78 people. The control group included 22 healthy young volunteers. The comparison group included 10 healthy elderly people. A group of elderly patients with moderate CP (n=10) and an elderly patients group with OLP (n=10) were formed. Mature patients formed a group with mild CP (n=16) and moderate CP (n=10). Bcl-2 protein, cytochrome c (cyt-c) and glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) were determined in saliva samples by multiparametric fluorescence analysis with magnetic microspheres (xMAP, Luminex 200, USA), the ProcartaPlex Human Apoptosis Panel 6-Plex (Invitrogen, USA) test system. It was found that salivary cyt-c content was highest in OLP elderly patients. Salivary concentration of cyt-c in elderly patients with CP was higher than in the mature patients with mild and moderate CP. Salivary levels of cyt-c and GAPDH in mature patients with CP were lower than in the control group. Thus, the concentration of salivary cyt-c is interesting in OLP diagnostic of elderly patients. Salivary cyt-c and GAPDH may be useful in mature patients with CP identifying. We believe that cyt-c in saliva may be a potential biomarker of accelerated pathological aging of oral tissues.

Key words: saliva; bcl-2; cytochrome c; glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase; apoptosis; aging; biomarkers.

For citation: Bazarnyi V.V., Kopenkin M.A., Polushina L.G., Sementsova E.A., Mandra Yu.V. The diagnostic efficacy of determination some proteins of apoptosis mitochondrial pathway in saliva at age-related oral diseases. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2023; 68 (9): (in Russ.). DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2023-68-9-518-526>

org/10.51620/0869-2084-2023-68-9-518-526

For correspondence: *Kopenkin M.A.*, postgraduate student; e-mail: maximkopenkin@yandex.ru

Information about authors:

Bazarnyi V.V., <https://orcid.org/0000-0003-0966-9571>;

Kopenkin M.A., <https://orcid.org/0000-0002-6092-3734>;

Polushina L.G., <https://orcid.org/0000-0002-4921-7222>;

Sementsova E.A., <https://orcid.org/0000-0002-0296-8723>;

Mandra Yu.V., <https://orcid.org/0000-0002-8439-3272>.

Acknowledgment. *The work were carries out at the expense of the state task for the research work «Predictors of aging in the oral cavity and the possibility of their use for personification of dental treatment». Registration number 121032300110-4 dated 03/23/2021.*

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

Received 09.06.2023

Accepted 05.07.2023

Published 08.09.2023

Введение. Старение населения, увеличение числа лиц пожилого и старческого возраста, остаётся актуальной проблемой здравоохранения. В результате увеличивается встречаемость заболеваний, ассоциированных со старением, в том числе заболеваний полости рта [1]. К ним относится и хронический генерализованный пародонтит (ХГП) – распространённое заболевание полости рта, заключающееся в хроническом воспалении тканей пародонта. Развитию данной патологии способствует возрастная дисфункция иммунной системы. Срыв иммунного ответа на воздействие микробиома полости рта способствует поражению тканей пародонта и ведёт к ХГП [2]. Другим заболеванием, оказывающим влияние на качество жизни пациентов пожилого возраста, является красный плоский лишай полости рта (КПЛ), поражающий преимущественно слизистую оболочку полости рта (СОПР). Хотя этиология и патогенез данного заболевания остаются не до конца расшифрованными, существуют различные гипотезы. Общим является то, что КПЛ - хроническое воспалительное заболевание, при котором различные иммунные или аутоиммунные механизмы индуцируют апоптоз базальных кератиноцитов [3]. Считают, что ХГП и КПЛ, возникая как самостоятельные заболевания, могут протекать одновременно, усугубляя своё течение и тяжесть [4].

Связанное со старением организма в целом, так называемое клеточное старение (cellular senescence) - реакция клеток на повреждение ДНК в виде угнетения/блокады клеточного цикла. Однако клетка остается метаболически активной и претерпевает фенотипические изменения, приобретая ассоциированный со старением секреторный фенотип (senescence-associated secretory phenotype - SASP), включающий в себя выработку сложного набора провоспалительных цитокинов (хемокинов/ интерлейкинов), факторов роста и протеиназ (матриксные металлопротеиназы). Другой особенностью этого процесса является устойчивость данных клеток к апоптозу. SASP клетки могут накапливаться в тканях по мере старения, играя значимую роль в развитии возраст-ассоциированных заболеваний. В патогенезе ХГП у пациентов пожилого возраста определённое значение могут иметь SASP клетки, невосприимчивые к апоптозу [5].

Изучение механизмов клеточной гибели при воспалительных заболеваниях полости рта представляет определённый интерес. Ряд авторов рассматривают апоптоз и клеточное старение как антагонистические процессы [6]. Мы рассматриваем показатели, являющиеся полифункциональными, но их вклад в апоптоз значителен, по мнению Т.Н. Ward и соавт. [7]. В частности, особую роль играет белок регулятор апоптоза bcl-2 (bcl-2), участвующий в BCL2-регулируемом, или митохондриальном пути апоптоза. Данный механизм клеточной гибели обусловлен нарушением баланса белков семейства BCL2, взаимодействие которых протекает на поверхности митохондриальной мембраны. Смещение баланса в сторону апоптоза происходит путём инактивации противоапоптотических белков, в частности bcl-2, подгруппами проапоптотических белков семейства, которые вызывают пермеабиллизацию внешней мембраны митохондрий. В результате повышения её проницаемости происходит высвобождение цитохрома c (cyt-c) в цитоплазму клетки, что обуславливает дальнейшие апоптотические превращения [8]. Невосприимчивость «стареющих» клеток к апоптозу связывают с устойчивостью bcl-2 к проапоптотическим сигналам [9]. Поэтому уровень экспрессии bcl-2 при клеточном «старении» или клеточной гибели может существенно отличаться [10].

В реализации внутреннего пути апоптоза важнейшее место отводится cyt-c. Это белок межмембранного пространства митохондрий, который, кроме участия в апоптозе, выполняет множество функций и является важным компонентом цепи переноса электронов. Изменения митохондриальной мембраны, описанные выше, ведут к переходу cyt-c в цитоплазму клетки, где он образует апоптосому, которая, связываясь с иницирующим белком, запускает цепь превращений протеолитических ферментов - каспаз, расщепляющих клеточные пептиды. Это закономерно ведёт к гибели клетки [11]. Однако высвобождение cyt-c из межмембранного пространства митохондрий частично регулируется морфологическими преобразованиями митохондриальной мембраны. Выживанию клетки может способствовать активация метаболических путей с усиленной продукцией АТФ.

Поддержание высокого уровня метаболической

активности может быть одним из механизмов выживания клетки. Ингибирование каспаз или действие сублетальных апоптотических стрессов ведёт к тому, что вместе с пермеабиллизированными митохондриями сохраняется часть интактных митохондрий, которые, имея высокий уровень гликолитической активности, поддерживают синтез АТФ, что способствует устойчивости клеточного гомеостаза [12]. Важным ферментом гликолиза является глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа (GAPDH). Это фермент, катализирующий превращение глицеральдегид-3-фосфата в 1,3-бифосфоглицерат в присутствии NAD^+ и неорганического фосфата. GAPDH участвует в аутофагии пермеабиллизированных митохондрий. Наличие интактных митохондрий одновременно с достаточным содержанием компонентов гликолитического пути образования АТФ, в том числе GAPDH, способствует восстановлению митохондриальной сети и выживанию клетки. Уникальность GAPDH заключается в многообразии выполняемых им функций, таких как репарация ДНК, регулирование проницаемости мембран, поддержание цитоскелета и др. [13]. GAPDH, находясь в ядре клетки, может поддерживать проапоптотические стимулы [14]. Активно применяется этот фермент в протеомном анализе для стандартизации исследований [15].

Возможное синергическое действие ХГП и КПЛ в особенности возрастных метаморфоз у пациентов пожилого возраста формирует интерес к изучению механизмов клеточной гибели. Вероятная устойчивость к апоптозу при ХГП, обусловленная SASP, и, напротив, преимущественно апоптотическая гибель базальных кератиноцитов при КПЛ позволяет использовать маркёры апоптоза в диагностике этих заболеваний. Возможное накопление SASP клеток в тканях пациентов пожилого возраста даёт возможность использования маркёров апоптоза в качестве биомаркёров старения - параметров, по которым в отсутствие болезни можно предсказать функциональное состояние организма лучше, чем по хронологическому возрасту, и спрогнозировать развитие заболеваний. Ценным источником информации в изучении данных проблем является ротовая жидкость (РЖ), представляющая смесь секретов слюнных желез, продуктов СОПР, десневой жидкости, фильтрата плазмы крови, иногда с примесью назального и бронхиального секретов, и являющаяся органоспецифическим компонентом полости рта. Вышесказанное обуславливает цель данного исследования - оценить взаимосвязь механизмов апоптоза с возраст-ассоциированными стоматологическими заболеваниями, а именно с ХГП и КПЛ.

Материал и методы. Проведено одноцентровое нерандомизированное одномоментное исследование, в котором приняло участие 78 человек. В контрольную группу вошли 22 здоровых добровольца молодого возраста (от 18 до 44 лет). Группу сравнения сформировали относительно здоровые лица пожилого возраста (от 60 до 74 лет) с благополучным стоматологическим статусом ($n=10$). Выделена группа пациентов пожилого возраста с ХГП средней степени тяжести ($n=10$). Следующая группа представлена пациентами пожилого

возраста с КПЛ ($n=10$). Пациенты зрелого возраста (от 45 до 59 лет) составили группу с ХГП лёгкой степени тяжести ($n=16$). Выделена группа пациентов зрелого возраста с ХГП средней степени тяжести ($n=10$).

Все испытуемые прошли обследование в стоматологической клинике Уральского государственного медицинского университета. Проведено стоматологическое обследование по протоколу, принятому в клинике. Для верификации диагноза использовано рентгенологическое (2D- и 3D-) исследование. В процессе обследования определены следующие индексы: индексы интенсивности кариеса зубов (индекс КПУ), папиллярно-маргинально-альвеолярный индекс (РМА) для оценки состояния тканей пародонта. Для лиц пожилого возраста характерна полиморбидность - сочетание 2-3-х соматических заболеваний. Критерии включения пациентов: согласие пациента на участие в исследовании, соответствие возрастной периодизации, клиническое подтверждение диагноза. Критерии исключения пациентов: отказ от участия в исследовании, несоответствие возрастной периодизации - возраст менее 18 лет/более 74 лет, наличие острых травм лицевого скелета, сахарный диабет 1, 2-го типа в стадии суб- и декомпенсации, наличие тяжёлой соматической патологии в стадии суб- и декомпенсации. Исследование проведено в соответствии с принципами Хельсинской Декларации Всемирной Медицинской Ассоциации (Helsinki, 2000). От всех пациентов получено информированное согласие на участие в исследовании. Дизайн исследования, его новизна, допустимость и приемлемость одобрены на заседании локального этического комитета ФГБУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» МЗ РФ (протокол № 8 от 21.10.2022).

В качестве материала для исследования использована нестимулированная РЖ, сбор которой проведён методом пассивного слюноистечения в пробирку типа «эппендорф». Получена РЖ не ранее чем через 2 часа после приёма пищи или чистки зубов и после ополаскивания полости рта кипячёной водой. Материал замораживался и хранился при температуре ниже $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ до выполнения исследования. В РЖ определяли bcl-2, cyt-c, GAPDH методом мультипараметрического флуоресцентного анализа с магнитными микросферами (технология xMAP, Luminex 200, США) [16]. Использована тест-система ProcartaPlex Human Apoptosis Panel 6-Plex (Invitrogen, США) согласно протоколу производителя.

Статистическая обработка результатов основана на принципах вариационной статистики. Критический уровень значимости установлен на уровне 0,05 ($p=0,05$). Оценена близость полученных данных к нормальному закону распределения с помощью одновыборочного двустороннего теста Колмогорова-Смирнова. Данные распределены по закону, отличному от нормального, поэтому использованы непараметрические статистические критерии. Результаты представлены как медиана, 25-й; 75-й квартиль - Ме (Q_1-Q_3). Для сравнения групп независимых выборок использован критерий Краскела-Уоллиса (непараметрическая альтернатива ANOVA). Для оценки нали-

чия различий между отдельными группами использован тест Данна с поправкой Холма-Бонферрони. Качество бинарной классификации оценено с помощью ROC-анализа. Для оценки диагностической эффективности теста определена площадь под ROC-кривой (AUC), диагностическая чувствительность (ДЧ), диагностическая специфичность (ДС). Статистический анализ проведён с использованием языка программирования Python (версия 3.9.12), открытых библиотек SciPy (версия 1.7.3), scikit-posthocs (версия 0.7.0), Scikitlearn (версия 1.0.2).

Результаты. В исследовании приняли участие испытуемые трёх возрастных групп: молодого, зрелого и пожилого возраста. Характеристика стоматологического статуса основана на определении индексов, отражающих состояние тканей полости рта: КПУ - твёрдых тканей зубов, РМА - состояние пародонта.

Клинико-демографическая характеристика пациентов представлена в табл. 1. Данные свидетельствуют о корректном формировании групп по клиническим признакам и возрасту.

Оценили уровень bcl-2, cyt-c, GAPDH в РЖ у пациентов пожилого возраста с возраст-ассоциированными стоматологическими заболеваниями (табл. 2) с последующими множественными сравнениями отдельных групп (табл. 3). Установлено, что пациенты с КПЛ отличались от группы сравнения и контрольной группы по концентрации cyt-c. Различия в содержании bcl-2 между группами отсутствуют, хотя наименьшее медианное значение наблюдалось у пациентов группы сравнения. Уровни GAPDH изменялись в широких пределах между группами, хотя отличия не были значимыми.

Высокая распространённость ХГП в популяции

Таблица 1

Стоматологическая характеристика пациентов

Показатели	Группа сравнения (n=10)	Пациенты пожилого возраста с ХГП (n=10)	Пациенты с КПЛ (n=10)	Пациенты зрелого возраста с ХГП (n=26)	Контрольная группа (n=22)	p
Возраст, годы	65,0 (61,0-66,0)	67,0 (61,0-71,0)	67,0 (65,0-68,0)	48,0 (45,0-53,0)	28,0 (25,0-31,0)	<0,001
КПУ	10,0 (9,0-14,0)	20,0 (19,0-24,0)	21,0 (21,5-23,5)	16,0 (15,0-20,0)	11,5 (10,0-15,0)	<0,001
РМА	27,0 (23,5-31,0)	83,0 (72,0-86,0)	57,0 (51,7-67,5)	32,0 (28,0-37,0)	15,0 (12,2-19,7)	<0,001

Таблица 2

Содержание bcl-2, cyt-c, GAPDH в РЖ у пациентов пожилого возраста

Показатели	Группа сравнения (n=10)	Пациенты пожилого возраста с ХГП (n=10)	Пациенты пожилого возраста с КПЛ (n=10)	Контрольная группа (n=22)	p
bcl-2, пг/мл	35,60 (35,60-147,10)	207,44 (180,72-380,57)	204,67 (35,60-373,75)	167,42 (35,60-537,41)	0,293
cyt-c, пг/мл	953,45 (712,30-2944,17)	2557,80 (2016,60-4728,64)	7550,95 (5436,89-9665,01)	1530,52 (511,24-3460,54)	<0,001
GAPDH, пг/мл	2900,14 (2221,40-3602,29)	5922,45 (2882,90-37362,88)	11657,12 (852,73-22461,51)	3243,72 (2114,34-7364,18)	0,698

Таблица 3

Множественные сравнения групп пациентов пожилого возраста по содержанию cyt-c в РЖ

Пациенты	Группа сравнения (n=10)	Пациенты пожилого возраста с ХГП (n=10)	Пациенты пожилого возраста с КПЛ (n=10)	Контрольная группа (n=22)
Группа сравнения	-	0,267	0,004	0,743
Пациенты пожилого возраста с ХГП	0,267	-	0,119	0,267
Пациенты пожилого возраста с КПЛ	0,004	0,119	-	<0,001
Контрольная группа	0,743	0,267	<0,001	-

формирует особый интерес к изучению данного заболевания [17]. Проанализирован уровень bcl-2, cyt-c, GAPDH у пациентов пожилого возраста с ХГП в сравнении с пациентами зрелого возраста с ХГП лёгкой и средней степени тяжести (табл. 4) с последующими сравнениями отдельных групп по отличающимся параметрам (табл. 5 и 6). Уровень bcl-2 не отличался в указанных группах. Содержание cyt-c у пациентов пожилого возраста выше, чем у пациентов зрелого возраста с ХГП лёгкой и средней степени. Концентрация GAPDH варьировала в широком диапазоне в обследованных группах. По данному показателю значимо отличались пациенты с ХГП лёгкой степени тяжести и контрольная группа.

Чтобы оценить диагностические характеристики исследованных биомаркёров, проведён ROC-анализ,

закрывающийся в построении ROC-кривой и определении площади под ней - AUC, отражающей точность диагностического теста, с определением ДЧ и ДС. Для выбора оптимальной точки cut-off применён индекс Юдена (J). Тест на определение cyt-c позволил с высокой точностью выявлять пациентов с КПЛ по сравнению с группой сравнения и контролем. Высокой точностью характеризовался тест на cyt-c при выявлении группы с ХГП пожилого возраста по сравнению с группой зрелого возраста с ХГП средней и лёгкой степени тяжести. Умеренной точностью отличался тест на GAPDH, определение которого позволило выявлять пациентов с ХГП средней и лёгкой степени при сравнении со здоровыми людьми. Указанные группы можно различать по уровню cyt-c с несколько меньшей точностью (табл. 7).

Таблица 4

Содержание bcl-2, cyt-c, GAPDH в РЖ у пациентов с ХГП лёгкой и средней степени тяжести

Показатели	Пациенты пожилого возраста с ХГП (n=10)	Пациенты зрелого возраста с ХГП средней степени (n=10)	Пациенты зрелого возраста с ХГП лёгкой степени (n=16)	Контрольная группа (n=22)	p
bcl-2, пг/мл	207,44 (180,72-380,57)	211,92 (160,66-227,52)	218,08 (164,73-289,07)	167,42 (35,60-537,41)	0,905
cyt-c, пг/мл	2557,80 (2016,60-4728,64)	395,53 (355,26-439,19)	476,52 (274,49-805,32)	1530,52 (511,24-3460,54)	<0,001
GAPDH, пг/мл	5922,45 (2882,90-37362,88)	11998,05 (10310,24-15211,91)	14540,67 (11431,81-18689,46)	3243,72 (2114,34-7364,18)	0,011

Таблица 5

Множественные сравнения групп пациентов с ХГП по содержанию cyt-c в РЖ

Пациенты	Пациенты пожилого возраста с ХГП (n=10)	Пациенты зрелого возраста с ХГП средней степени (n=10)	Пациенты зрелого возраста с ХГП лёгкой степени (n=16)	Контрольная группа (n=22)
Пациенты пожилого возраста с ХГП	-	<0,001	<0,001	0,097
Пациенты зрелого возраста с ХГП средней степени	<0,001	-	0,636	0,042
Пациенты зрелого возраста с ХГП лёгкой степени	<0,001	0,636	-	0,051
Контрольная группа	0,097	0,042	0,051	-

Таблица 6

Множественные сравнения групп пациентов с ХГП по содержанию GAPDH в РЖ

Пациенты	Пациенты пожилого возраста с ХГП (n=10)	Пациенты зрелого возраста с ХГП средней степени (n=10)	Пациенты зрелого возраста с ХГП лёгкой степени (n=16)	Контрольная группа (n=22)
Пациенты пожилого возраста с ХГП	-	0,854	0,739	0,739
Пациенты зрелого возраста с ХГП средней степени	0,854	-	0,854	0,135
Пациенты зрелого возраста с ХГП легкой степени	0,739	0,854	-	0,011
Контрольная группа	0,739	0,135	0,011	-

Чтобы оценить диагностические характеристики исследованных биомаркёров, проведён ROC-анализ, заключающийся в построении ROC-кривой и определении площади под ней - AUC, отражающей точность диагностического теста, с определением ДЧ и ДС. Для выбора оптимальной точки cut-off применён индекс Юдена (J). Тест на определение cut-c позволил с высокой точностью выявлять пациентов с КПЛ по сравнению с группой сравнения и контролем.

Высокой точностью характеризовался тест на cut-c при выявлении группы с ХГП пожилого возраста по сравнению с группой зрелого возраста с ХГП средней и лёгкой степени тяжести. Умеренной точностью отличался тест на GAPDH, определение которого позволило выявлять пациентов с ХГП средней и лёгкой степени при сравнении со здоровыми людьми. Указанные группы можно различать по уровню cut-c с несколько меньшей точностью (табл. 7).

Таблица 7

Клиническая ценность определения cut-c и GAPDH в РЖ у пациентов с возраст-ассоциированными заболеваниями тканей полости рта

Показатели	cut-off, пг/мл	AUC	ДЧ, %	ДС, %	J
Группа сравнения и пациенты с КПЛ					
cut-c	≥5436,89	1,00	100,00	100,00	1,00
Контрольная группа и пациенты с КПЛ					
cut-c	≥5436,89	1,00	100,00	100,00	1,00
Пациенты пожилого возраста с ХГП и зрелого возраста с ХГП средней степени					
cut-c	≥1126,51	1,00	100,00	100,00	1,00
Пациенты пожилого возраста с ХГП и зрелого возраста с ХГП лёгкой степени					
cut-c	>1032,49	0,96	100,00	89,10	0,89
Контрольная группа и пациенты зрелого возраста с ХГП лёгкой степени					
cut-c	≤974,24	0,74	60,00	90,91	0,51
GAPDH	>7477,09	0,83	100,00	80,60	0,80
Контрольная группа и пациенты зрелого возраста с ХГП средней степени					
cut-c	≤562,61	0,76	91,66	68,43	0,60
GAPDH	≥9369,26	0,79	85,71	78,95	0,65

Обсуждение. Описанные выше особенности патогенеза ХГП и КПЛ у пациентов пожилого возраста обуславливают особый интерес к изучению маркёров апоптоза в РЖ в качестве инструментов ранней неинвазивной диагностики, способа оценки течения заболевания и ответа на терапию. Ряд авторов рассматривают данные параметры как потенциальные биомаркёры старения. В последние годы сформировались определённые представления о маркёрах апоптоза, к которым традиционно относят Fas лиганд (CD₉₅), разрушаемый каспазой цитокератин 18 и каспазы [18]. Данные маркёры ранее изучались при возраст-ассоциированной патологии [19, 20]. Их изучение в стоматологии продолжается в целях разработки персонализированных подходов к лечению [21]. Ранее нами проведено исследование по оценке диагностической значимости поли-АДФ-рибоза полимеразы и каспазы-3 в РЖ, в котором установлено, что пациенты с воспалительными заболеваниями СОПР отличались наиболее высокой активностью апоптоза. Напротив, условно здоровые люди того же возрастного периода отличались наименьшим уровнем маркёров апоптоза [22].

В этом исследовании нам не удалось выявить различий в содержании противапоптотического пептида bcl-2 между исследованными группами. Среди лиц пожилого возраста наименьший уровень bcl-2 отмечен у пациентов группы сравнения, в то время как группы с ХГП, КПЛ и контрольная группа прак-

тически не отличались. В группах пациентов зрелого возраста с ХГП разница в содержании bcl-2 отсутствовала. Считают, что bcl-2 имеет значение в поддержании баланса между апоптозом и клеточным старением. Сверхэкспрессия данного пептида может наблюдаться в стареющих клетках, отличающихся блокадой клеточного цикла, и препятствовать апоптозу [23]. В литературе описано, что экспрессия bcl-2 в тканях пародонта у пациентов с ХГП не отличается от контрольной группы, однако пациенты с более лёгкой патологией, а именно с гингивитом, характеризуются несколько более высокой экспрессией данного пептида [24]. При КПЛ экспрессия bcl-2 в тканях СОПР не обнаружена, либо ниже, чем у здоровых людей при иммуногистохимическом исследовании, что указывает на преобладание проапоптотических сигналов с инактивацией bcl-2 при КПЛ [25, 26]. Следует отметить, что в проведённом исследовании у многих испытуемых концентрация bcl-2 в РЖ близка к нижнему пределу чувствительности метода. Чаще такой результат встречался у относительно здоровых пациентов пожилого возраста. В нашем исследовании определение bcl-2 в РЖ у пациентов с ХГП и КПЛ не имеет диагностической значимости.

Известно значение cut c, белка межмембранного пространства митохондрий, в индукции апоптоза через активацию внутриклеточных протеаз (каспаз), вызывающих деградацию клеточных компонентов. Разрушение клеток может вести к высвобождению

сут-с из цитоплазмы клетки. Поэтому количественное определение сут-с в РЖ, органоспецифическом субстрате при заболеваниях полости рта, может иметь ценность в диагностике ХГП и КПЛ [27]. В нашем исследовании установлено, что наибольший уровень сут-с в РЖ наблюдался у пациентов пожилого возраста с КПЛ. В развитии КПЛ важное значение имеет апоптоз базальных кератиноцитов [28]. Поэтому увеличение сут-с в РЖ у пациентов пожилого возраста с КПЛ подтверждает принятые представления о патогенезе данного заболевания. Уровень сут-с у пациентов пожилого возраста с ХГП характеризовался промежуточными значениями по сравнению с пациентами с КПЛ и группой сравнения, хотя отличия не были статистически значимыми. Можно предположить, что активность апоптоза при ХГП ниже, чем при КПЛ, что может быть связано с остановкой клеточного цикла при клеточном старении [29]. Установлено, что пациенты пожилого возраста с ХГП отличались от пациентов зрелого возраста с ХГП лёгкой и средней степени тяжести более высокими уровнями сут-с. Сложные механизмы иммунного ответа при ХГП в пожилом возрасте могут способствовать более агрессивному течению заболевания [30]. В патогенезе ХГП признают всё большее значение такой формы клеточной гибели как пироптоз, который, кроме индукции провоспалительных цитокинов, может способствовать запуску апоптоза через высвобождение сут-с [31].

Множество внутриклеточных обменных процессов сопряжено с использованием фермента GARDH. Он содержится в цитоплазме, митохондриях, ядре и участвует в сложном механизме поддержания клеточного и тканевого гомеостаза [32]. В нашем исследовании не выявлено различий в содержании GARDH в РЖ у пациентов пожилого возраста с ХГП и КПЛ. Только группа пациентов зрелого возраста с ХГП значимо отличалась от здоровых молодых людей по данному параметру. Уровень GARDH отличался высокой вариабельностью при сравнении обследованных групп. Этот белок является структурным компонентом клетки и секретируется во всех тканях организма, в связи с чем активно применяется в протеомных исследованиях [33]. Распространённостью GARDH в тканях и особенностями образования РЖ можно объяснить большую изменчивость данного показателя в нашей работе.

Вышеизложенное обуславливает интерес к использованию сут-с и GARDH в качестве диагностических маркёров РЖ. Высокую точность показало использование белка сут-с в выявлении пациентов пожилого возраста с КПЛ. Использование теста на уровень слюварного сут-с позволило эффективно выявлять пациентов пожилого возраста с ХГП при сравнении с пациентами зрелого возраста с ХГП лёгкой и средней степени тяжести. Поэтому сут-с может являться с одной стороны маркёром КПЛ у пожилых пациентов, с другой стороны маркёром ускоренного патологического старения. С помощью оценки содержания слюварного GARDH и сут-с можно различать пациентов зрелого возраста с ХГП лёгкой и средней

степени и здоровых молодых людей с умеренной точностью. Можно рассматривать GARDH и сут-с в качестве потенциальных маркёров ХГП.

Заключение. Актуальность проблемы старения вместе с распространённостью ХГП и КПЛ, оказывающих влияние на здоровье человека в широких пределах, сформировало интерес к изучению данных проблем. Ценным инструментом в этом может стать исследование РЖ - информативного биоматериала, органоспецифического для возраст-ассоциированных заболеваний полости рта. В данном исследовании оценено содержание маркёров апоптоза в РЖ у пациентов с ХГП и КПЛ. Установлено, что оценка содержания bcl-2 в РЖ не имеет диагностической значимости. Определение уровня слюварного сут-с отличается высокой диагностической эффективностью при выявлении пациентов пожилого возраста с КПЛ. Испытуемые с ХГП пожилого возраста характеризуются более высоким содержанием сут-с в РЖ по сравнению с пациентами зрелого возраста, тест отличается высокой диагностической эффективностью. Считаем, что измерение концентрации сут-с в РЖ может представлять интерес в лабораторном мониторинге КПЛ и ХГП у пожилых людей. Предполагаем, что слюварный сут-с может являться потенциальным биомаркёром ускоренного патологического старения тканей полости рта. Использование сут-с и GARDH РЖ для выявления пациентов с ХГП зрелого возраста отличается несколько худшими диагностическими характеристиками, тесты отличаются умеренной диагностической эффективностью. Можно рассматривать данные показатели в качестве инструмента неинвазивной диагностики возраст-ассоциированных заболеваний полости рта.

ЛИТЕРАТУРА

1. Raphael C. Oral Health and Aging. *Am. J. Public Health.* 2017; 107(S1): S44-S45.
2. Ebersole J.L., Dawson D.A. 3rd, Emecen Huja P., Pandravadra S., Basu A., Nguyen L. et al. Age and Periodontal Health - Immunological View. *Curr. Oral. Health Rep.* 2018; 5(4): 229-41.
3. Mutafchieva M.Z., Draganova-Filipova M.N., Zagorchev P.I., Tomov G.T. Oral Lichen Planus - Known and Unknown: a Review. *Folia Med. (Plovdiv).* 2018; 60(4): 528-35.
4. Ide M., Karimova M., Setterfield J. Oral Health, Antimicrobials and Care for Patients With Chronic Oral Diseases - A Review of Knowledge and Treatment Strategies. *Front. Oral Health.* 2022; 3: 866695.
5. Chen S., Zhou D., Liu O., Chen H., Wang Y., Zhou Y. Cellular Senescence and Periodontitis: Mechanisms and Therapeutics. *Biology (Basel).* 2022; 11(10): 1419.
6. Childs B.G., Baker D.J., Kirkland J.L., Campisi J., van Deursen J.M. Senescence and apoptosis: dueling or complementary cell fates? *EMBO Rep.* 2014; 15(11): 1139-53.
7. Ward T.H., Cummings J., Dean E., Greystoke A., Hou J.M., Backen A. et al. Biomarkers of apoptosis. *Br. J. Cancer.* 2008. 99(6): 841-6.
8. Czabotar P.E., Lessene G., Strasser A., Adams J.M. Control of apoptosis by the BCL-2 protein family: implications for physiology and therapy. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2014; 15(1): 49-63.
9. Ryu S.J., Oh Y.S., Park S.C. Failure of stress-induced downregulation of Bcl-2 contributes to apoptosis resistance in senescent human diploid fibroblasts. *Cell Death. Differ.* 2007; 14(5): 1020-8.
10. Childs B.G., Durik M., Baker D.J., van Deursen J.M. Cellular se-

- nescence in aging and age-related disease: from mechanisms to therapy. *Nat. Med.* 2015; 21(12): 1424-35.
11. Santucci R., Sinibaldi F., Cozza P., Polticelli F., Fiorucci L. Cytochrome c: An extreme multifunctional protein with a key role in cell fate. *International journal of biological macromolecules.* 2019; 136: 1237-46.
 12. Bock F.J., Tait S.W.G. Mitochondria as multifaceted regulators of cell death. *Nature reviews. Molecular cell biology.* 2020; 21(2): 85-100.
 13. Tristan C., Shahani N., Sedlak T.W., Sawa A. The diverse functions of GAPDH: views from different subcellular compartments. *Cell Signal.* 2011; 23(2): 317-23.
 14. Nicholls C., Li H., Liu J.-P. GAPDH: A common enzyme with uncommon functions. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology.* 2012; 39(8): 674-9.
 15. Moritz C.P. Tubulin or Not Tubulin: Heading Toward Total Protein Staining as Loading Control in Western Blots. *Proteomics.* 2017; 17(20): 1600189.
 16. Базарный В.В., Мандра Ю.В., Копенкин М.А., Абдулкеримов Т.Х., Максимова А.Ю., Полушина Л.Г. Нарушение баланса ангиогенных и нейрогенных полипептидов ротовой жидкости при переломах верхней челюсти. *Уральский медицинский журнал.* 2023; 22(1): 57-62.
 17. Eke P.I., Dye B.A., Wei L., Thornton-Evans G.O., Genco R.J. et al. Prevalence of periodontitis in adults in the United States: 2009 and 2010. *J. Dent. Res.* 2012; 91(10): 914-20.
 18. Greystoke A., Hughes A., Ranson M., Dive C., Cummings J., Ward T. Serum biomarkers of apoptosis. *European Journal of Cancer Supplements.* 2007; 5(5): 115-27.
 19. Jiang S., Moriarty-Craige S.E., Li C., Lynn M.J., Cai J., Jones D.P. et al. Associations of plasma-soluble fas ligand with aging and age-related macular degeneration. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2008; 49(4): 1345-9.
 20. Li J., Verhaar A.P., Pan Q., de Knecht R.J., Peppelenbosch M.P. Serum levels of caspase-cleaved cytokeratin 18 (CK18-Asp396) predict severity of liver disease in chronic hepatitis B. *Clin. Exp. Gastroenterol.* 2017; 10: 203-9.
 21. Pradeep A.R., Suke D.K., Prasad M.V., Singh S.P., Martande S.S., Nagpal K. et al. Expression of key executioner of apoptosis caspase-3 in periodontal health and disease. *J. Investig. Clin. Dent.* 2016; 7(2): 174-9.
 22. Базарный, В. В., Копенкин, М. А., Полушина, Л. Г., Максимова, А. Ю., Семенцова, Е. А., Мандра, Ю. В. Значение саливарной поли (ADP-рибоза)-полимеразы в оценке возрастзависимых патологических процессов в полости рта. *Биомедицинская химия.* 2023; 69(2): 125-32.
 23. Basu A. The interplay between apoptosis and cellular senescence: Bcl-2 family proteins as targets for cancer therapy. *Pharmacol. Ther.* 2022; 230: 107943.
 24. Figueredo C.M., Alves J.C., de Souza Breves Beiler T.F.C., Fischer R.G. Anti-apoptotic traits in gingival tissue from patients with severe generalized chronic periodontitis. *J. Investig. Clin. Dent.* 2019; 10(3): e12422.
 25. Leyva-Huerta E.R., Ledesma-Montes C., Rojo-Botello R.E., Vega-Memije E. P53 and bcl-2 immunoprotein expression in patients with oral lichen planus and oral squamous cell carcinoma. *Med. Oral Patol. Oral Cir. Bucal.* 2012; 17(5): e745-50.
 26. Pigatti F.M., Taveira L.A., Soares C.T. Immunohistochemical expression of Bcl-2 and Ki-67 in oral lichen planus and leukoplakia with different degrees of dysplasia. *Int. J. Dermatol.* 2015; 54(2): 150-5.
 27. Pessoa J. Cytochrome c in cancer therapy and prognosis. *Biosci. Rep.* 2022; 42(12): BSR20222171.
 28. Roopashree M.R., Gondhalekar R.V., Shashikanth M.C., George J., Thippeswamy S.H., Shukla A. Pathogenesis of oral lichen planus—a review. *J. Oral Pathol. Med.* 2010; 39(10): 729-34.
 29. Ikegami K., Yamashita M., Suzuki M., Nakamura T., Hashimoto K., Kitagaki J. et al. Cellular senescence with SASP in periodontal ligament cells triggers inflammation in aging periodontal tissue. *Aging (Albany NY).* 2023; 15(5): 1279-1305.
 30. Kebschull M., Guarnieri P., Demmer R.T., Boulesteix A.L., Pavlidis P., Papapanou P. N. Molecular differences between chronic and aggressive periodontitis. *Journal of dental research.* 2013; 92(12): 1081-8.
 31. Xu X., Zhang T., Xia X., Yin Y., Yang S., Ai D. et al. Pyroptosis in periodontitis: From the intricate interaction with apoptosis, NETosis, and necroptosis to the therapeutic prospects. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2022; 12: 953277.
 32. Tristan C., Shahani N., Sedlak T.W., Sawa A. The diverse functions of GAPDH: views from different subcellular compartments. *Cell Signal.* 2011; 23(2): 317-23.
 33. Fortes M.A.S., Marzuca-Nassar G.N., Vitzel K.F., da Justa Pinheiro C.H., Newsholme P., Curi R. Housekeeping proteins: How useful are they in skeletal muscle diabetes studies and muscle hypertrophy models? *Analytical Biochemistry.* 2016; 504: 38-40.

REFERENCES

1. Raphael C. Oral Health and Aging. *Am. J. Public Health.* 2017; 107(S1): S44-S45.
2. Ebersole J.L., Dawson D.A. 3rd, Emecen Huja P., Pandravad S., Basu A., Nguyen L. et al. Age and Periodontal Health - Immunological View. *Curr. Oral. Health Rep.* 2018; 5(4): 229-41.
3. Mutafchieva M.Z., Draganova-Filipova M.N., Zagorchev P.I., Tomov G.T. Oral Lichen Planus - Known and Unknown: a Review. *Folia Med. (Plovdiv).* 2018; 60(4): 528-35.
4. Ide M., Karimova M., Setterfield J. Oral Health, Antimicrobials and Care for Patients With Chronic Oral Diseases - A Review of Knowledge and Treatment Strategies. *Front. Oral Health.* 2022; 3: 866695.
5. Chen S., Zhou D., Liu O., Chen H., Wang Y., Zhou Y. Cellular Senescence and Periodontitis: Mechanisms and Therapeutics. *Biology (Basel).* 2022; 11(10): 1419.
6. Childs B.G., Baker D.J., Kirkland J.L., Campisi J., van Deursen J.M. Senescence and apoptosis: dueling or complementary cell fates? *EMBO Rep.* 2014; 15(11): 1139-53.
7. Ward T.H., Cummings J., Dean E., Greystoke A., Hou J.M., Backen A. et al. Biomarkers of apoptosis. *Br. J. Cancer.* 2008. 99(6): 841-6.
8. Czabotar P.E., Lessene G., Strasser A., Adams J.M. Control of apoptosis by the BCL-2 protein family: implications for physiology and therapy. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2014; 15(1): 49-63.
9. Ryu S.J., Oh Y.S., Park S.C. Failure of stress-induced downregulation of Bcl-2 contributes to apoptosis resistance in senescent human diploid fibroblasts. *Cell Death. Differ.* 2007; 14(5): 1020-8.
10. Childs B.G., Durik M., Baker D.J., van Deursen J.M. Cellular senescence in aging and age-related disease: from mechanisms to therapy. *Nat. Med.* 2015; 21(12): 1424-35.
11. Santucci R., Sinibaldi F., Cozza P., Polticelli F., Fiorucci L. Cytochrome c: An extreme multifunctional protein with a key role in cell fate. *International journal of biological macromolecules.* 2019; 136: 1237-46.
12. Bock F.J., Tait S.W.G. Mitochondria as multifaceted regulators of cell death. *Nature reviews. Molecular cell biology.* 2020; 21(2): 85-100.
13. Tristan C., Shahani N., Sedlak T.W., Sawa A. The diverse functions of GAPDH: views from different subcellular compartments. *Cell Signal.* 2011; 23(2): 317-23.
14. Nicholls C., Li H., Liu J.-P. GAPDH: A common enzyme with uncommon functions. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology.* 2012; 39(8): 674-9.
15. Moritz C.P. Tubulin or Not Tubulin: Heading Toward Total Protein Staining as Loading Control in Western Blots. *Proteomics.* 2017; 17(20): 1600189.
16. Bazarnyi V.V., Mandra Yu.V., Kopenkin M.A., Abdulkirimov T.K., Maximova A.Yu., Polushina L.G. Impairment of the balance of angiogenic and neurogenic polypeptides of the oral fluid in fractures of the maxilla. *Ural'skiy meditsinskiy zhurnal.* 2023; 22(1):57-62. (in Russian)
17. Eke P.I., Dye B.A., Wei L., Thornton-Evans G.O., Genco R.J. et al. Prevalence of periodontitis in adults in the United States: 2009 and 2010. *J. Dent. Res.* 2012; 91(10): 914-20.
18. Greystoke A., Hughes A., Ranson M., Dive C., Cummings J., Ward

- T. Serum biomarkers of apoptosis. *European Journal of Cancer Supplements*. 2007; 5(5): 115-27.
19. Jiang S., Moriarty-Craige S.E., Li C., Lynn M.J., Cai J., Jones DP et al. Associations of plasma-soluble fas ligand with aging and age-related macular degeneration. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2008; 49(4): 1345-9.
 20. Li J., Verhaar A.P., Pan Q., de Knecht R.J., Peppelenbosch M.P. Serum levels of caspase-cleaved cytokeratin 18 (CK18-Asp396) predict severity of liver disease in chronic hepatitis B. *Clin. Exp. Gastroenterol.* 2017; 10: 203-9.
 21. Pradeep A.R., Suke D.K., Prasad M.V., Singh S.P., Martande S.S., Nagpal K. et al. Expression of key executioner of apoptosis caspase-3 in periodontal health and disease. *J. Investig. Clin. Dent.* 2016; 7(2): 174-9.
 22. Bazamyi V.V., Kopenkin M.A., Polushina L.G., Maximova A.Yu., Sementsova E.A., Mandra Yu.V. Significance of salivary poly (ADP-ribose)-polymerase in the assessment of age-dependent pathological processes in the oral cavity. *Biomeditsinskaya khimiya*. 2023; 69(2): 125-32.
 23. Basu A. The interplay between apoptosis and cellular senescence: Bcl-2 family proteins as targets for cancer therapy. *Pharmacol. Ther.* 2022, 230: 107943.
 24. Figueredo C.M., Alves J.C., de Souza Breves Beiler T.F.C., Fischer R.G. Anti-apoptotic traits in gingival tissue from patients with severe generalized chronic periodontitis. *J. Investig. Clin. Dent.* 2019, 10(3): e12422.
 25. Leyva-Huerta E.R., Ledesma-Montes C., Rojo-Botello R.E., Vega-Memije E. P53 and bcl-2 immunoexpression in patients with oral lichen planus and oral squamous cell carcinoma. *Med. Oral Patol. Oral Cir. Bucal.* 2012; 17(5): e745-50.
 26. Pigatti F.M., Taveira L.A., Soares C.T. Immunohistochemical expression of Bcl-2 and Ki-67 in oral lichen planus and leukoplakia with different degrees of dysplasia. *Int. J. Dermatol.* 2015; 54(2): 150-5.
 27. Pessoa J. Cytochrome c in cancer therapy and prognosis. *Biosci. Rep.* 2022; 42(12): BSR20222171.
 28. Roopashree M.R., Gondhalekar R.V., Shashikanth M.C., George J., Thippeswamy S.H., Shukla A. Pathogenesis of oral lichen planus--a review. *J. Oral Pathol. Med.* 2010; 39(10): 729-34.
 29. Ikegami K., Yamashita M., Suzuki M., Nakamura T., Hashimoto K., Kitagaki J. et al. Cellular senescence with SASP in periodontal ligament cells triggers inflammation in aging periodontal tissue. *Aging (Albany NY)*. 2023; 15(5): 1279-305.
 30. Keschull M., Guarnieri P., Demmer R.T., Boulesteix A.L., Pavlidis P., Papanou P. N. Molecular differences between chronic and aggressive periodontitis. *Journal of dental research*. 2013; 92(12): 1081-8.
 31. Xu X., Zhang T., Xia X., Yin Y., Yang S., Ai D. et al. Pyroptosis in periodontitis: From the intricate interaction with apoptosis, NETosis, and necroptosis to the therapeutic prospects. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2022; 12: 953277.
 32. Tristan C., Shahani N., Sedlak T.W., Sawa A. The diverse functions of GAPDH: views from different subcellular compartments. *Cell. Signal.* 2011; 23(2): 317-23.
 33. Fortes M.A.S., Marzuca-Nassr G.N., Vitzel K.F., da Justa Pinheiro C.H., Newsholme P., Curi R. Housekeeping proteins: How useful are they in skeletal muscle diabetes studies and muscle hypertrophy models? *Analytical Biochemistry*. 2016; 504: 38-40.

ИММУНОЛОГИЯ

© АВДЕЕВА А.С., 2023

Авдеева А.С.

ИНТЕРФЕРОНОПАТИИ ТИПА I КАК ОДИН ИЗ МЕХАНИЗМОВ РАЗВИТИЯ ИММУНОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ РЕВМАТИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

ФГБНУ Научно-исследовательский институт ревматологии им В.А. Насоновой, 115522, Москва, Россия

Иммуновоспалительные ревматические заболевания (ИВРЗ) - это широкая группа патологических состояний, в основе которых лежит нарушение иммунологической толерантности к собственным тканям, ведущее к воспалению и необратимым органным повреждениям. В последние годы в патогенезе ИВРЗ большое внимание уделяется так называемым «интерферопатиям», т.е. нарушениям регуляции продукции интерферонов (ИФН) I типа. ИФН представляют собой группу молекул, обладающих плейотропным действием на иммунную систему и осуществляющими связь между врожденными и адаптивными иммунными реакциями. Важная роль гиперпродукции ИФН типа I в патогенезе ИВРЗ подтверждается как на моделях ревматических заболеваний у лабораторных животных, так и у пациентов с наследственными моногенными заболеваниями со специфическим воспалительным фенотипом, которые в 2011 году было предложено объединить в группу врожденных интерферопатий I типа. Взаимосвязь гиперпродукции ИФН-типа I с развитием аутоиммунной патологии также подтверждается фактом развития симптомов аутоиммунного заболевания у пациентов, получающих терапию ИФН I типа по поводу вирусной инфекции или злокачественных новообразований. Повышенная экспрессия ИФН стимулированных генов была названа ИФН «автографом». Оценка нарушений в регуляции продукции ИФН I типа может позволить выделить клинические фенотипы заболеваний, характеризующиеся гиперпродукцией ИФН I типа, а также разработать персонализированные подходы к терапии. Следует отметить, что схожие нарушения наблюдаются при обширном круге ИВРЗ, что создает предпосылки для широкого использования препаратов, блокирующих эффекты ИФН I типа. Целью публикации является обобщение и анализ наиболее важных исследований, касающихся роли ИФН типа I в патогенезе ИВРЗ, а также обсуждение методов оценки ИФН «автографа».

Ключевые слова: иммуновоспалительные ревматические заболевания; системная красная волчанка, ревматоидный артрит, интерфероны типа I; интерфероновый «автограф»; предикторы эффективности терапии; обзор литературы.

Для цитирования: Авдеева А.С. Интерферопатии типа I как один из механизмов развития иммуновоспалительных ревматических заболеваний (обзор литературы). *Клиническая лабораторная диагностика*. 2023; 68 (9): 527-534
DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2023-68-9-527-534>

Для корреспонденции: Авдеева Анастасия Сергеевна, д-р мед. наук, зав. лаб. иммунологии и молекулярной биологии ревматических заболеваний; e-mail: 9056249400@mail.ru

Конфликт интересов. Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Настоящее исследование выполнено в рамках фундаментальной темы № 1021051402790-6 «Изучение иммунопатологии, диагностики и терапии на ранних стадиях системных ревматических заболеваний».

Поступила 29.05.2023

Принята к печати 20.06.2023

Опубликовано 08.09.2023

Avdeeva A.S.

TYPE I INTERFERONOPATHY AS ONE OF THE MECHANISMS OF THE DEVELOPMENT SYSTEMIC AUTOIMMUNE RHEUMATIC DISEASES (REVIEW OF LITERATURE)

V.A. Nasonova Research Institute of Rheumatology, Moscow, Russia

Systemic autoimmune rheumatic diseases (SARDs) are a broad group of pathological conditions based on impaired immunological tolerance to one's own tissues leading to inflammation and irreversible organ damage. In recent years, much attention has been paid to the so-called "interferonopathies" in the pathogenesis of SARDs, i.e. dysregulation of the production of interferons (IFN) type I. Evaluation of these disorders can make it possible to identify the clinical phenotypes of diseases, as well as to predict the results of therapy. Similar disorders are observed in a wide range of pathological conditions, which creates the prerequisites for the widespread use of drugs that block the effects of type I IFN. The purpose of the publication is to summarize and analyze the most important studies on the role of type I IFN in the pathogenesis of SARDs.

Key words: systemic autoimmune rheumatic diseases; type I interferons; interferon "signature"; predictors of therapy efficacy; review.

For citation: Avdeeva A.S. Type I interferonopathy as one of the mechanisms of the development systemic autoimmune rheumatic diseases (review of literature). *Klinicheskaya. Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2023; 68 (9): 527-534 (in Russ.). DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2023-68-9-527-534>

For correspondence: Avdeeva Anastasia Sergeevna, Doctor of Medical Sciences, Head of the Laboratory of Immunology and Molecular Biology of Rheumatic Diseases; e-mail: 9056249400@mail.ru

Information about author:

Avdeeva A.S., <https://orcid.org/0000-0003-3057-9175>.

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

Acknowledgment. This study was carried out within the framework of the fundamental topic No. 1021051402790-6 "Study of immunopathology, diagnosis and therapy in the early stages of systemic rheumatic diseases."

Received 29.05.2023

Accepted 20.06.2023

Published 08.09.2023

Иммуновоспалительные ревматические заболевания (ИВРЗ) - это широкая группа патологических состояний в основе которых лежит нарушение иммунологической толерантности к собственным тканям ведущее к воспалению и необратимым органным повреждениям [1]. В последнее время в патогенезе ИВРЗ большое внимание уделяется так называемым «интерферонопатиям», т.е. нарушениям регуляции продукции интерферонов (ИФН) I типа. Интерфероны представляют собой группу молекул, обладающих плеiotропным действием на иммунную систему и осуществляющими связь между врожденными и адаптивными иммунными реакциями [2]. ИФН подразделяются на три семейства: ИФН I, II и III типа, отличающиеся по своим свойствам, структурным особенностям, а также клеткам, их продуцирующим [2]. ИФН I типа представляют самую многочисленную группу и включают ИФН α -, β -, ω -, ϵ -, κ -, наиболее изученными из которых являются ИФН- α и β . К ИФН II типа относят ИФН- γ , а к III типу – ИФН- $\lambda 1$ -, $\lambda 2$ -, $\lambda 3$ -, $\lambda 4$. ИФН I и III типа активируют внутриклеточные сигнальные пути, опосредующие иммунные ответы против вирусов и опухолей [2]. Основными продуцентами ИФН I типа являются плазматоцитидные дендритные клетки (пДК) [2]. пДК продуцируют ИФН I типа после взаимодействия вирусных антигенов или эндогенных нуклеиновых кислот с паттерн-распознающими рецепторами (PRR) или толл-подобными рецепторами, преимущественно 7 или 9 типа (TLR 7, TLR 9) [3]. ИФН I типа действуют на все ядродержащие клетки для подавления репликации вирусов, а также имеют ряд иммуностимулирующих свойств, в том числе индуцируют созревание и активацию миелоидных ДК, поляризуют иммунный ответ по Th1 типу, способствуют активации В лимфоцитов, продукции антител и переключению класса иммуноглобулинов [4,5]. ИФН II типа, в отличие от ИФН I типа вызывают экспрессию иных генов, продуцируют их главным образом НК клетки и определенные субпопуляции Т лимфоцитов, основная роль ИФН II типа заключается в регулировании некоторых аспектов иммунной реакции – фагоцитоз и презентация антигенов [6]. Активность ИФН I типа обычно измеряется на основании экспрессии ИФН-стимулированных генов (ИСГ), которую называют «интерфероновый автограф» [4,5,7].

Внутриклеточная сигнализация происходит по средствам связывания ИФН с рецептором ИФН I типа

(ИФНР). ИФН- α и ИФН- β связываясь с одним и тем же рецептором вызывают разные конформационные изменения в цитозольной части рецептора, что обеспечивает дифференциальную передачу сигнала [8]. Цепи цитокиновых рецепторов типа I и II не обладают собственной ферментной активностью, но тесно связаны с внутриклеточными молекулами сигнального пути JAK-STAT (signal transducer and activator of transcription), который регулирует активность более 50 цитокинов, интерферонов (ИФН), факторов роста, являющихся важнейшими «регуляторами» иммунитета и гемопоэза [8]. Основными компонентами этого пути (наряду с внутриклеточными доменами рецепторов типа I и II) являются 4 JAK (Janus) киназы: JAK1, JAK2, JAK3 и TYK (tyrosine kinase) 2, 7 молекул ДНК-связывающих белков STAT (STAT1, STAT2, STAT3, STAT4, STAT5, STAT5A, STAT6), регулирующих транскрипцию генов, 3 молекулы PTP (protein tyrosine phosphatase), 4 молекул PIAS (protein inhibitors of activated STATs) и 8 молекул SOCS (suppressors of cytokine signaling) [9-11]. После взаимодействия ИФН I типа с ИФНР происходит активация киназ (JAK 1 и TYK 2), что приводит к фосфорилированию, димеризации и транслокации в ядро STAT белков. Полученные STAT комплексы запускают различные программы экспрессии генов. Например, стимулированный ИФН комплекс генов фактора 3 (ISGF3), который состоит из STAT 1, STAT 2 и IRF (interferon regulatory factor) 9) активирует гены, отвечающие за противовирусный ответ, гомодимеры STAT 1, индуцируют экспрессию провоспалительных генов, а гомодимеры STAT 3 подавляют экспрессию провоспалительных генов [12-14]. ИФН- β также обладает противовоспалительными и антипролиферативными свойствами и может передавать сигнал в синергии с фактором некроза опухоли α (ФНО). Их совместное действие индуцирует замедленный противовирусный иммунный ответ, через до сих пор не охарактеризованный путь, который зависит от TYK 2, STAT2 и IRG9, но не зависит от STAT 1. Таким образом в настоящий момент выделяют STAT1 зависимый и STAT1 не зависимый путь сигнализации ИФН [8,15].

Важная роль гиперпродукции ИФН типа I в патогенезе ИВРЗ подтверждается как на моделях ревматических заболеваний у лабораторных животных, так и у пациентов с наследственными моногенными заболеваниями со специфическим воспалительным фенотипом, которые в 2011 году было предложено объеди-

нить в группу врожденных интерферопатий I типа [16]. Доказательством общности патогенетических механизмов в этом широком спектре патологических состояний является частичное совпадение клинических проявлений, таких как поражение центральной нервной системы (ЦНС), кожи по типу васкулита или волчаночноподобных изменений, несмотря на широкий спектр мутаций в генах ИФН типа I. Поражения ЦНС как правило включает в себя лейкоэнцефалопатию с кальцификацией базальных ганглиев, аномалиями развития белого вещества, атрофией коры головного мозга, лимфоцитозом в ликворе. Эти изменения могут сочетаться с тромбоцитопенией, гепатомегалией, поражением кожи и развитием глаукомы [17]. В настоящее время описаны моногенные формы кожной волчанки, рассматриваемые как интерферопатии типа I. Заболевание ассоциируется с мутацией в генах нуклеаз TREX1 и SAMHD1, что сопровождается потерей их функций [18] и гиперпродукции ИФН типа I. У больных возможно развитие не эрозивного артрита, однако, такие жизнеугрожающие проявления как волчаночный нефрит обычно не регистрируются. Аналогичные изменения наблюдаются при некоторых формах STING-ассоциированной васкулопатии с началом в раннем возрасте (SAVI синдром). Кожные проявления обычно представлены телеангиоэктазиями, диффузным пустулезом, которые могут сочетаться с неврологическими проявлениями [19,20]. Еще одной общей чертой интерферопатий типа I является развитие аутоиммунных нарушений, выявление широкого спектра аутоантител, особенно при мутациях в генах TREX1, SAMHD1, ACP5 и RNASEH2 с формированием фенотипа системной красной волчанки (СКВ) [21-23]. Вовлечение легких является отличительной чертой STING-ассоциированной васкулопатии, связанной с мутацией TMEM173 [24,25]. Это аутовоспалительное заболевание наследуется по аутосомно-доминантному типу и ассоциируется с язвенными поражениями кожи, легочным фиброзом и воспалительными изменениями [26,27].

Взаимосвязь гиперпродукции ИФН типа I с развитием аутоиммунной патологии также подтверждается фактом развития симптомов аутоиммунного заболевания у пациентов, получающих терапию ИФН I типа по поводу вирусной инфекции или злокачественных новообразований [28]. Интерес вызывает факт, что присутствие специфических антител до начала терапии ИФН ассоциируется с повышенным риском развития аутоиммунной патологии, что свидетельствует о способности ИФН типа I стимулировать развитие заболевания, находящегося в доклинической стадии. После прекращения терапии ИФН I типа симптомы заболевания могут полностью исчезнуть, что говорит о сложности регуляторных механизмов, контролируемых развитием аутоиммунной патологии [29]. Целью публикации является обобщение и анализ наиболее важных исследований, касающихся роли ИФН типа I в патогенезе ИВРЗ. Был проведен исчерпывающий поиск в базах данных MEDLINE (через PubMed), с использованием MESH (medical subjects headings) терминологии и ключевых слов, включая ревмато-

идный артрит, системную красную волчанку, интерфероновый «автограф», патогенез заболевания, ИФН стимулированные гены.

Интерферопатии типа I в развитии системной красной волчанки и ревматоидного артрита. Высокая активность ИФН типа I может наблюдаться у пациентов до постановки диагноза аутоиммунного заболевания, так, при анализе сывороток пациентов, собранных до постановки диагноза СКВ, было выявлено повышение уровней ИФН I типа за год до дебюта болезни [30]. Высокий уровень ИФН также может наблюдаться у бессимптомных родственников пациентов с СКВ, что говорит о семейных корреляциях в активности ИФН [31]. В генетических исследованиях «случай-контроль» идентифицировано большое количество генов, участвующих в передаче сигналов ИФН типа I и ассоциированных с риском развития СКВ [32]. Интерферон-регулирующие факторы (ИРФ) координируют продукцию ИФН I типа и экспрессию интерферон-стимулированных генов. Среди ИРФ важное место занимает ИРФ 5, принимающий участие в продукции провоспалительных цитокинов, ИФН, клеток врожденного иммунного ответа и В клеточных реакций [33]. Снижение активности ИРФ 5 ассоциируется с высоким уровнем циркулирующего ИФН I типа и повышенным риском развития СКВ, ревматоидного артрита (РА), болезни Шегрена, ювенильного артрита [34-36] у пациентов с бессимптомным повышением уровня аутоантител [37]. У лиц с бессимптомным повышением уровня аутоантител происходит постоянная эндогенная стимуляция TLR, что вместе с гиперреактивностью самой системы TLR и нарушениями в работе ИРФ приводит к хронической гиперпродукции ИФН типа I и высокому риску развития ИВРЗ [38,39]. Помимо семьи ИРФ, с риском развития СКВ связан ряд других генов (STAT4, MAVS, IFIH1, RTPN22) [40,41]. Некоторые из этих генов также могут ассоциироваться и с другими ревматическими заболеваниями: STAT4 - с синдромом Шегрена [42], системной склеродермией [43], РА [44], псориазом [45] и, возможно, ювенильным хроническим артритом (ЮХА) [46]; IFIH1 - с поздним псориазом [47]; RTPN22 - с РА и ЮХА [48]. В целом, активность системы ИФН типа I четко контролируется генетическими факторами и является полигенной чертой многих ИВРЗ.

ИФН-α является преобладающим циркулирующим ИФН типа I в периферическом кровотоке пациентов с СКВ [31]. Сывороточная активность ИФН-α широко варьирует у разных пациентов и у 40-50% больных не отличается от нормальных значений [31]. Таким образом, ИФН типа I не является важным патогенетическим фактором для всех больных СКВ, а различия в его уровнях говорят о существенной неоднородности данного заболевания. Высокий уровень циркулирующего ИФН типа I значимо коррелирует с наличием определенных типов аутоантител, в первую очередь, anti-Ro-SSA и anti-RNP [49]. Уровни данных аутоантител, как правило, существенно не меняются на протяжении заболевания, что может свидетельствовать о стабильном уровне ИФН типа I у данного

подмножества пациентов, зависящим от генетических факторов.

Наличие ИФН «автографа» положительно коррелирует с тяжестью СКВ [50]. Так, пациенты с повышенным уровнем ИФН типа I имели больше диагностических критериев заболевания, у них чаще развивалось поражение ЦНС, почек и выраженные гематологические нарушения [50]. ИФН «автограф» является относительно стабильной характеристикой и не может быть использован для прогнозирования обострений заболевания [51]. Однако уровень хемокинов (СХС-хемокиновый лиганд 10 (CXCL10), СС-хемокин 2 (CCL2) и ССL-хемокин лиганд 19 (CCL19), продукция которых зависит от ИФН и ряда других цитокинов, также коррелирует с активностью заболевания и может быть использована для прогнозирования обострения болезни [52]. Таким образом, анализ ИФН «автографа» может быть более важным в начале заболевания и на ранних этапах развития болезни.

В последнее время усиливается интерес к роли нейтрофилов в развитии аутоиммунных заболеваний. Большие скопления нейтрофилов обнаружены в ткани почки как у пациентов с аутоиммунными заболеваниями, так и на моделях аутоиммунной патологии у лабораторных животных [53,54]. Нейтрофилы могут подвергаться особому типу клеточной смерти – нетозу (NETosis), с формированием внеклеточных ловушек, состоящих из хроматина и гранул, способных связывать и уничтожать микроорганизмы [53]. Многие цитокины, в том числе и ИФН- α , могут воздействовать на зрелые нейтрофилы и стимулировать данный процесс [54].

ИФН «автограф» обнаруживается в периферической крови пациентов с РА и может присутствовать на доклинической стадии заболевания [55]. Относительный уровень экспрессии ИСГ у пациентов с РА ниже, чем при СКВ или других ревматических заболеваниях [56]. Однако ряд генов, связанных с повышенной активацией системы ИФН типа I при СКВ, ассоциируются также с риском развития РА - IRF5 (REF. 58), IRAK1 (REF. 125), STAT4 (REF. 72) и RTPN22 (REF. 77) [56]. Обнаружение конкретного полиморфизма связано с риском развития ряда ревматических заболеваний, что может свидетельствовать об общих механизмах развития широкой группы патологических состояний [57]. В синовиальной оболочке пациентов с РА были обнаружены пДК, ИФН- α и ИФН- β , а также повышенная экспрессия ИСГ [58]. ИФН- α увеличивает экспрессию TLR 3 и TLR 7 в синовиальной ткани с последующим синтезом интерлейкина (ИЛ)-6 и ФНО α , а также потенцирует опосредованную TLR 4 продукцию ИЛ-1 β и ИЛ-18 [58]. ИФН- β напротив может оказывать дозозависимое противовоспалительное действие, связанное с ингибированием синтеза ИЛ-1 β и ФНО α , а также повышенной выработкой антагониста рецепторов ИЛ-1 (ИЛ-1Ра) синовиальными фибробластами и хондроцитами [59]. Применение ИФН- β оказалось эффективным в лечении коллаген-индуцированного артрита лабораторных животных [60]. Однако в многоцентровом, рандомизированном, двойном слепом, плацебо-контролируемом исследовании II фазы, лече-

ние подкожным рекомбинантным ИФН- β не привело к клиническому улучшению у пациентов с активным РА [61].

При РА тип I интерферона потенциально является прогностическим биомаркером ответа на биологическую терапию. ИФН «автограф» обнаруживается у более, чем 50% пациентов с РА [62]. В ряде работ было продемонстрировано, что низкая экспрессия системы ИФН 1 типа до начала применения ритуксимаба (РТМ) ассоциируется с хорошей эффективностью терапии примерно с 87% вероятностью [63,64]. R.M. Thurlings и соавт. [63] проанализировали экспрессию ИФН 1 типа в двух когортах пациентов с РА, получавших терапию РТМ ($n=20$, $n=31$ соответственно). В зависимости от уровня экспрессии ИФН 1 типа в мононуклеарных клетках пациентов все больные были разделены на две группы: с высоким и низким уровнем ИФН. В группе больных с низким уровнем ИФН регистрировалось более выраженное снижение активности заболевания по DAS 28, также пациенты из этой группы чаще отвечали на терапию РТМ по критериям EULAR. Таким образом, авторы сделали вывод об обратной взаимосвязи между эффективностью терапии РТМ и уровнем экспрессии ИФН 1 типа. Сходные данные были получены H. G Raterman и соавт. [64], проанализировавшими экспрессию ряда генов (GAPDH и LY6E, HERC5, IFI44L, ISG15, MxA, MxB, EPSTI1 и RSAD2) в периферическом кровотоке методом ПЦР в реальном времени. При проведении ROC анализа было установлено, что с учетом исходной экспрессии ряда генов, ассоциированных с системой ИФН 1 типа (авторами было предложено несколько комбинаций: EPSTI1, RSAD 2, MxA; или HERC 5, RSAD 2, MxA, LY6E; или HERC 5, IFI44L, EPSTI1, RSAD 2, MxA, LY6E) можно прогнозировать эффективность терапии РТМ с 87% вероятностью. Нами были получены сходные данные об обратной корреляции ИФН «автографа» с эффективностью терапии РТМ. В исследование были включены 20 больных с РА, получавших 2 инфузии РТМ в суммарной дозе 1200 мг. Для оценки «интерферонового автографа» были отобраны 5 генов (IFI44L, MX1, IFIT 1, RSAD2, EPSTI1). Среди пациентов с отсутствием ИФН «автографа» отмечалось более выраженное снижение активности заболевания к 24-й неделе терапии, по сравнению с группой больных, у которых он был обнаружен (Δ DAS 28 3,45 (2,94-3,69) и 1,02 (0,5-2,02) соответственно ($p<0,05$)). В группе больных с удовлетворительным/отсутствием эффекта терапии РТМ к 24-й неделе терапии отмечалось повышение экспрессии ИФН-стимулированных генов, среди больных, хорошо ответивших на терапию, изменения были статистически не достоверны. [65].

Оценка соотношения ИФН- α к ИФН- β может быть полезна для прогнозирования эффективности терапии ингибиторами ФНО α [66]. Wampler Muskardin T. и соавт. [66] при анализе уровня ИФН- α и ИФН- β в сыворотках 124 пациентов с РА продемонстрировали отсутствие ответа на терапию при исходно более высоком уровне ИФН- β ($p=0,013$). По данным ROC-анализа было продемонстрировано, что соотношение

ИФН-β/ИФН-α, равное более 1,3 с чувствительностью 77% и специфичностью 45%, позволяло предсказать отсутствие ответа на терапию (ОШ 6,67, $p=0,018$).

Причины различий в относительных пропорциях ИФН-α /ИФН-β в кровотоке неизвестны, ИФН-α преобладает в циркуляции при СКВ, а ИФН-β больше напротив при РА [66]. Этот факт остается не до конца понятным, особенно учитывая ряд противовоспалительных эффектов ИФН-β, отсутствие улучшения от применения рекомбинантных ИФН-β в терапии РА, а также худший ответ на ингибиторы ФНОα в группе пациентов с более высоким уровнем ИФН-β. Учитывая сложности в регуляции сигнализации ИФН типа I, эффекты ИФН-β, вероятно, зависят от количества, продолжительности, места воздействия (периферический кровоток или ткани) экспрессии генов ИФН-β и, возможно, ряда других причин.

Оценка «интерферонового автографа». Несмотря на важное значение интерферопатий в патогенезе ИВРЗ оценка уровня ИФН типа I не входит в общепринятое клиническое обследование больных. Измерение уровня ИФН-α методом иммуоферментного анализа (ИФА) используется для мониторинга активности заболевания и прогнозирования результатов терапии ингибиторами ИФН типа I [67]. В более ранних работах было выявлено повышение уровня ИФН-α в сыворотках пациентов с СКВ, однако, в более поздних исследованиях продемонстрирована низкая информативность анализа уровня ИФН-α методом ИФА [68]. В настоящее время более перспективным представляется изучение активности ИСГ. В когортных исследованиях было установлено, что повышенная экспрессия ИСГ в мононуклеарах периферической крови отмечается у 60-80% пациентов с СКВ. Обычно этот параметр определяют методом ПЦР. Важное значение имеет также выбор конкретных ИСГ для анализа [69]. В ряде работ было высказано предположение, что конкретные ИСГ ассоциируются с определенными органными повреждениями при СКВ. Например, пять ИФН I стимулированных генов (LY6E, OAS1, OASL, MX1, ISG15) в большей степени были связаны с развитием нефрита или поражения ЦНС, чем с патологией других органов [70], однако эти данные трудно интерпретировать, учитывая плеотропное действие ИФН. А. Векер и соавт. [71] изучали экспрессию ИСГ в разных типах клеток (моноцитах, ДК, НК клетках, Т и В лимфоцитах) и продемонстрировали, что она отличается. Анализ эпигенетических изменений, в первую очередь, метилирования ДНК CD4+ Т лимфоцитов пациентов с СКВ, выявил стойкое гипометилирование ряда ИСГ (IFIT1, IFIT3, MX1, STAT1, IFI44L, USP18, TRIM22, BST2), что может приводить к повышенной реактивности CD4+ лимфоцитов [69].

Оценка активности ИСГ является надежным, но достаточно сложным и трудоемким методом для клинической практики, более перспективным является выявление сывороточных биомаркеров, тесно ассоциирующихся с экспрессией ИСГ. Определение сывороточных биомаркеров менее трудоемко, а также легче поддается стандартизации. L. van den Hoogen и соавт.

[72] изучили экспрессию ИСГ, а также проанализировали широкий спектр сывороточных биомаркеров в группе из 43 пациентов с СКВ и/или антифосфолипидным синдромом (АФС). ИСГ изучались в культуре моноцитов методом ПЦР, авторами были выбраны пять основных генов - Ly6E, IFITM1, Serping1, IFI44L и F3 (TF), по сумме которых рассчитывался суммарный ИФН индекс. Максимальная взаимосвязь ИФН индекса отмечалась с уровнем галектина -9 ($r=0,8$), CXCL-10 ($r=0,72$) и рецептора - 2 ФНО (ФНО-RII) ($r=0,42$). При проведении ROC- анализа галектин-9 продемонстрировал наилучшие характеристики чувствительности и специфичности для выявления ИФН «автографа» у пациентов с СКВ (AUC 0,86). Таким образом, в данной работе была продемонстрирована реальная возможность оценки ИФН «автографа» по уровню сывороточных биомаркеров, что представляется крайне интересным для дальнейших исследований.

Таким образом, нарушение в системе ИФН типа I играет важную роль в патогенезе ИВРЗ. Различиями в уровнях ИФН может объяснить неоднородность в клинических фенотипах и ответах на проводимую терапию среди пациентов с ИВРЗ. Исходя из этого представляется разумным деление пациентов с ревматическими заболеваниями на подтипы в зависимости от наличия ИФН «автографа». Оценка ИФН «автографа» может быть важна также для прогнозирования результатов терапии РТМ и ингибиторами ФНОα. Деление пациентов на подгруппы, в зависимости от уровня ИФН типа I может позволить выявить важные особенности отдельных подгрупп пациентов, а также разработать персонализированный подход к терапии.

Учитывая, что нарушения в продукции ИФН типа I наблюдаются при широком спектре ревматических заболеваний, терапевтические подходы по блокированию эффектов ИФН типа I могут оказаться эффективными при широком спектре патологических состояний. Таким образом, изучение особенностей системы ИФН типа I может быть перспективным направлением как для выявления отдельных клинических фенотипов заболевания, так и для разработки новых подходов к лечению широкой группы ИВРЗ.

ЛИТЕРАТУРА (п.п. 2 - 64, 66 - 72 см. REFERENCES)

1. Насонов Е.Л., Каратеев Д.Е., Балабанова Р.М. Ревматоидный артрит. В кн.: Ревматология. Национальное руководство. Насонов Е.Л., Насонова В.А., ред. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2008: 290-331.
65. Авдеева А.С., Четина Е.В., Маркова Г.А., Насонов Е.Л. Экспрессия интерферон- стимулированных генов у пациентов с ревматоидным артритом на фоне анти-В-клеточной терапии (предварительные результаты). *Современная ревматология*. 2021; 15(5):12-7. DOI: 10.14412/1996-7012-2021-5-12-17.

REFERENCES

1. Nasonov E.L., Karateev D.E., Balabanova R.M. Rheumatoid arthritis. In: Nasonov E.L., Nasonova V.A., eds. Rheumatology. National guidance [Rheumatologiya. Natsional'noe rukovodstvo]. Moscow: GEOTAR-Media; 2008: 290-331. (in Russian)

2. Hall J.C., Rosen A. Type I interferons: crucial participants in disease amplification in autoimmunity. *Nat. Rev. Rheumatol.* 2010; 6:40-9. DOI: 10.1038/nrrheum.2009.237.
3. Honda K., Takaoka A., Taniguchi T. Type I interferon gene induction by the interferon regulatory factor family of transcription factors. *Immunity.* 2006; 25:349-60. DOI: 10.1016/j.immuni.2006.08.009.
4. Longhi M.P., Trumpfheller C., Idoyaga J., Caskey M., Matos I., Kluger C. et al. Dendritic cells require a systemic type I interferon response to mature and induce CD4⁺ Th1 immunity with poly IC as adjuvant. *J. Exp. Med.* 2009; 206:1589-602. DOI: 10.1084/jem.20090247.
5. Le Bon A., Thompson C., Kamphuis E., Durand V., Rossmann C., Kalinkeet U. et al. Cutting edge: enhancement of antibody responses through direct stimulation of B and T cells by type I IFN. *J. Immunol.* 2006; 176:2074-8. DOI: 10.4049/jimmunol.176.4.2074.
6. Green D.S., Young H.A., Valencia J.C. Current prospects of type II interferon γ signaling and autoimmunity. *J. Biol. Chem.* 2017; 292(34):13925-33. DOI: 10.1074/jbc.R116.774745.
7. Psarras A., Emery P., Vital E.M. Type I interferon-mediated autoimmune diseases: pathogenesis, diagnosis and targeted therapy. *Rheumatology (Oxford).* 2017; 56(10):1662-75. DOI: 10.1093/rheumatology/kew431.
8. Nan Y., Wu C., Zhang Y.J. Interplay between Janus Kinase/Signal Transducer and Activator of Transcription Signaling Activated by Type I Interferons and Viral Antagonism. *Front. Immunol.* 2017; 8:1758. DOI: 10.3389/fimu.2017.01758.
9. Schwartz D.M., Kanno Y., Villarino A., Ward M., Gadina M., O'Shea J. JAK inhibition as a therapeutic strategy for immune and inflammatory diseases. *Nat. Rev. Drug Discov.* 2017; 16(12):843-62. DOI: 10.1038/nrd.2017.201.
10. Hammarén H.M., Virtanen A.T., Raivola J., Silvennoinen O. The regulation of JAKs in cytokine signaling and its breakdown in disease. *Cytokine.* 2018; 20. pii: S1043-4666(18)30127-3. DOI: 10.1016/j.cyto.2018.03.041.
11. Gadina M., Johnson C., Schwartz D., Bonelli M., Hasni S., Kanno Y. Translational and clinical advances in JAK-STAT biology: The present and future of jakinibs. *J. Leukoc. Biol.* 2018; 104(3):499-514. DOI: 10.1002/JLB.5R10218-084R.
12. de Weerd, N.A., Vivian J.P., Nguyen T.K., Mangan N.E., Gould J.A., Braniff S.J. Structural basis of a unique interferon-beta signaling axis mediated via the receptor IFNAR1. *Nat. Immunol.* 2013; 14:901-7. DOI: 10.1038/ni.2667.
13. Ivashkiv L.B., Donlin L.T. Regulation of type I interferon responses. *Nat. Rev. Immunol.* 2014; 14:36-49. DOI: 10.1038/nri3581.
14. Muskardin T.L., Niewold T.B. Type I interferon in rheumatic diseases. *Nat. Rev. Rheumatol.* 2018; 14(4):214-28. DOI: 10.1038/nrrheum.2018.31.
15. Fink K., Martin L., Mukawera E., Chartier S., De Deken X., Brochiero E., et al. IFN β /TNF α synergism induces a noncanonical STAT2/IRF9-dependent pathway triggering a novel DUOX2 NADPH oxidase-mediated airway antiviral response. *Cell Res.* 2013; 23:673-90. DOI: 10.1038/cr.2013.47.
16. Crow Y.J. Type I interferonopathies: a novel set of inborn errors of immunity: type I interferonopathies. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2011; 1238:91-8. DOI: 10.1111/j.1749-6632.2011.06220.x.
17. Fazzi E., Cattalini M., Orcesi S., Tincani A., Andreoli L., Balottin U. et al. Aicardi-Goutieres syndrome, a rare neurological disease in children: a new autoimmune disorder? *Autoimmun. Rev.* 2013; 12:506-9. DOI: 10.1016/j.autrev.2012.08.012.
18. König N., Fiehn C., Wolf C., Schuster M., Cura Costa E., Tüngler V. et al. Familial chilblain lupus due to a gain-of-function mutation in STING. *Ann. Rheum. Dis.* 2016; 76:468-72. DOI: 10.1136/annrheumdis-2016-209841.
19. Munoz J., Marque M., Dandurand M., Meunier L., Crow Y.J., Bessis D. Type I interferonopathies. *Ann. Dermatol. Venereol.* 2015; 142:653-63. DOI: 10.1016/j.annder.2015.06.018.
20. Munoz J., Rodière M., Jeremiah N., Rieux-Laucat F., Ojageer A., Rice G.I. et al. Stimulator of interferon genes-associated vasculopathy with onset in infancy: a mimic of childhood granulomatosis with polyangiitis. *JAMA Dermatol.* 2015; 151:872-7. DOI: 10.1001/jamadermatol.2015.0251.
21. Günther C., Kind B., Reijns M.A. Berndt N., Martinez-Bueno M., Wolf C. et al. Defective removal of ribonucleotides from DNA promotes systemic autoimmunity. *J. Clin. Invest.* 2015; 125:413-24. DOI: 10.1172/JCI78001.
22. Lee-Kirsch M.A., Gong M., Chowdhury D., Senenko L., Engel K., Lee Y.A. et al. Mutations in the gene encoding the 3'-5' DNA exonuclease TREX1 are associated with systemic lupus erythematosus. *Nat. Genet.* 2007; 39:1065-7. DOI: 10.1038/ng2091.
23. An J., Briggs T.A., Dumax-Vorzet A., Alarcón-Riquelme M., Belot A., Beresford M. et al. Tartrate-resistant acid phosphatase deficiency in the predisposition to systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheumatol.* 2017; 69:131-42. DOI: 10.1002/art.39810.
24. Liu Y., Jesus A.A., Marrero B., Yang D., Ramsey S.E., Montealegre Sanchez G.A. et al. Activated STING in a vascular and pulmonary syndrome. *N. Engl. J. Med.* 2014; 371:507-18. DOI: 10.1056/NEJMoa1312625.
25. Crow Y.J., Casanova J.L. STING-associated vasculopathy with onset in infancy - a new interferonopathy. *N. Engl. J. Med.* 2014; 371:568-71. DOI: 10.1056/NEJMc1407246.
26. Picard C., Thouvenin G., Kannengiesser C., Dubus J., Jeremiah N., Rieux-Laucat F. et al. Severe pulmonary fibrosis as the first manifestation of interferonopathy (TMEM173 mutation). *Chest.* 2016; 150:e65-e71. DOI: 10.1016/j.chest.2016.02.682.
27. Clarke S.L., Pellowe E.J., de Jesus A.A., Goldbach-Mansky R., Hilliard T., Ramanan A.V. Interstitial lung disease caused by STING-associated vasculopathy with onset in infancy. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2016; 194:639-42. DOI: 10.1164/rccm.201510-2102LE.
28. Ioannou Y., Isenberg D.A. Current evidence for the induction of autoimmune rheumatic manifestations by cytokine therapy. *Arthritis Rheum.* 2000; 43:1431-42. DOI: 10.1002/1529-0131(200007)43:7<1431:AID-ANR3>3.0.CO;2-E.
29. Okanoue T., Sakamoto S., Itoh Y., Minami M., Yasui K., Sakamoto M. et al. Side effects of high dose interferon therapy for chronic hepatitis C. *J. Hepatol.* 1996; 25:283-91. DOI: 10.1016/s0168-8278(96)80113-9.
30. Munroe M.E., Lu R., Zhao Y.D., Fife D.A., Robertson J., Guthridge J.M. et al. Altered type II interferon precedes autoantibody accrual and elevated type I interferon activity prior to systemic lupus erythematosus classification. *Ann. Rheum. Dis.* 2016; 75:2014-2202. DOI: 10.1136/annrheumdis-2015-208140.
31. Kariuki S.N., Franek B.S., Kumar A.A., Arrington J., Mikolaitis R.A., Utset T.O. et al. Trait-stratified genome-wide association study identifies novel and diverse genetic associations with serologic and cytokine phenotypes in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Res. Ther.* 2010; 12:R15. DOI: 10.1186/ar3101.
32. Ghodke-Puranik Y., Niewold T.B. Genetics of the type I interferon pathway in systemic lupus erythematosus. *Int. J. Clin. Rheumatol.* 2013; 8(6):10.2217/ijr.13.58. DOI:10.2217/ijr.13.58.
33. Yasuda K., Watkins A.A., Kochar G.S., Wilson G.E., Laskow B., Richez C. et al. Interferon regulatory factor-5 deficiency ameliorates disease severity in the MRL/lpr mouse model of lupus in the absence of a mutation in DOCK2. *PLoS ONE.* 2014; 9: e103478. DOI: 10.1371/journal.pone.0103478.
34. Lessard C.J., Li H., Adrianto I., Ice J.A., Rasmussen A., Grundahl K.M. et al. Variants at multiple loci implicated in both innate and adaptive immune responses are associated with Sjögren's syndrome. *Nat. Genet.* 2013; 45: 1284-92. DOI: 10.1038/ng.2792.
35. Radstake T.R., Gorlova O., Rueda B., Martin J., Alizadeh B., Palomino-Morales R. et al. Genome-wide association study of systemic sclerosis identifies CD247 as a new susceptibility locus. *Nat. Genet.* 2010; 42: 426-9. DOI: 10.1038/ng.565.
36. Nordang G.B., Viken M.K., Amundsen S.S., Sanchez E.S., Flatø B., Førre O. et al. Interferon regulatory factor 5 gene polymorphism confers risk to several rheumatic diseases and correlates with expression of alternative thymic transcripts. *Rheumatology (Oxford).* 2012; 51:619-26. DOI:10.1093/rheumatology/ker364.
37. Niewold T.B., Kelly J.A., Kariuki S.N., Franek B.S., Kumar A.A., Kaufman K.M. et al. IRF5 haplotypes demonstrate diverse serological associations which predict serum interferon alpha activity and explain the majority of the genetic association with systemic lupus erythematosus. *Ann. Rheum. Dis.* 2012; 71:463-8. DOI: 10.1136/annrheumdis-2011-200463.

38. Salloum R., Franek B.S., Kariuki S.N., Rhee L., Mikolaitis R.A., Jolly M. et al. Genetic variation at the IRF7/PHRF1 locus is associated with autoantibody profile and serum interferon- α activity in lupus patients. *Arthritis Rheum.* 2010; 62: 553–61. DOI: 10.1002/art.27182.
39. Chrabot B.S. Kariuki S.N., Zervou M.I., Feng X., Arrington J., Jolly M. et al. Genetic variation near IRF8 is associated with serologic and cytokine profiles in systemic lupus erythematosus and multiple sclerosis. *Genes Immun.* 2013; 14: 471–8. DOI: 10.1038/gene.2013.42.
40. Pothlichet J. Niewold T.B., Vitour D., Solhonne B., Crow M.K., Si-Tahar M. et al. A loss-of-function variant of the antiviral molecule MAVS is associated with a subset of systemic lupus patients. *EMBO Mol. Med.* 2011; 3:142–52. DOI: 10.1002/emmm.201000120.
41. Wang Y. Shaked I., Stanford S., Zhou W., Curtsinger J., Mikulski Z. et al. The autoimmunity-associated gene PTPN22 potentiates toll-like receptor-driven, type I interferon-dependent immunity. *Immunity.* 2013; 39:111–22. DOI: 10.1016/j.immuni.2013.06.013.
42. Gestermann N., Mekinian A., Comets E., Loiseau P., Puechal X., Hachulla E. et al. STAT4 is a confirmed genetic risk factor for Sjögren's syndrome and could be involved in type I interferon pathway signaling. *Genes Immun.* 2010; 11:432–8. DOI: 10.1038/gene.2010.29.
43. Dieude P. Guedj M., Wipff J., Ruiz B., Hachulla E., Diot E. et al. STAT4 is a genetic risk factor for systemic sclerosis having additive effects with IRF5 on disease susceptibility and related pulmonary fibrosis. *Arthritis Rheum.* 2009; 60: 2472–9. DOI: 10.1002/art.24688.
44. Remmers E.F. Plenge R.M., Lee A.T., Graham R.R., Hom G., Behrens T.W. et al. STAT4 and the risk of rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus. *N. Engl. J. Med.* 2007; 357:977–86. DOI: 10.1056/NEJMoa073003.
45. Zervou M.I., Goulielmos G. N., Castro-Giner F. Tosca A.D., Krueger-Krasagakis S. et al. STAT4 gene polymorphism is associated with psoriasis in the genetically homogeneous population of Crete, Greece. *Hum. Immunol.* 2009; 70:738–41. DOI: 10.1016/j.humimm.2009.05.008.
46. Liang Y.L. Wu H., Shen X., Li P., Yang X., Liang L. et al. Association of STAT4 rs7574865 polymorphism with autoimmune diseases: a metaanalysis. *Mol. Biol. Rep.* 2012; 39:8873–82. DOI: 10.1007/s11033-012-1754-1.
47. Hebert H.L. Bowes J., Smith R.L., Flynn E., Parslew R., Alsharqi A. et al. Identification of loci associated with late-onset psoriasis using dense genotyping of immunorelated regions. *Br. J. Dermatol.* 2015; 172:933–9. DOI: 10.1111/bjd.13340.
48. Lee Y.H. Rho Y.H., Choi S.J., Ji J.D., Song G.G., Nath S.K. et al. The PTPN22 C1858T functional polymorphism and autoimmune diseases — a metaanalysis. *Rheumatology (Oxford)* 2007; 46:49–56. DOI: 10.1093/rheumatology/ke1170.
49. Weckerle C.E. Franek B.S., Kelly J.A., Kumabe M., Mikolaitis R.A., Green S.L. et al. Network analysis of associations between serum interferon- α activity, autoantibodies, and clinical features in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 2011; 63:1044–53. DOI: 10.1002/art.30187.
50. Baechler E.C. Batliwalla F.M., Karypis G., Gaffney P.M., Ortmann W.A., Espe K.J. et al. Interferon-inducible gene expression signature in peripheral blood cells of patients with severe lupus. *Proc. Natl Acad. Sci.* 2003; 100:2610–5. DOI: 10.1073/pnas.0337679100.
51. Landolt-Marticorena C. Bonventi G., Lubovich A., Ferguson C., Unnithan T., Su J. et al. Lack of association between the interferon- α signature and longitudinal changes in disease activity in systemic lupus erythematosus. *Ann. Rheum. Dis.* 2009; 68:1440–6. DOI: 10.1136/ard.2008.093146.
52. Bauer J.W., Petri M., Batliwalla F.M., Koeuth T., Wilson J., Slattery C. et al. Interferon-regulated chemokines as biomarkers of systemic lupus erythematosus disease activity: a validation study. *Arthritis Rheum.* 2009; 60: 3098–3107. DOI: 10.1002/art.24803
53. Fuchs T.A., Abed U., Goosmann C., Hurwitz R., Schulze I., Wahn V. et al. Novel cell death program leads to neutrophil extracellular traps. *J. Cell Biol.* 2007; 176:231–41. DOI: 10.1083/jcb.200606027.
54. Martinelli S., Urosevic M., Daryadel A., Oberholzer P., Baumann C., Fey M. et al. Induction of genes mediating interferon-dependent extracellular trap formation during neutrophil differentiation. *J. Biol. Chem.* 2004; 279:44123–32. DOI: 10.1074/jbc.M405883200.
55. Lubbers J. M. Brink, van de Stadt L., Vosslander S., Wesseling J.G., van Schaardenburg D. et al. The type I IFN signature as a biomarker of preclinical rheumatoid arthritis. *Ann. Rheum. Dis.* 2013; 72:776–80. DOI: 10.1136/annrheumdis-2012-02753.
56. Higgs B.W., Liu Z., White B., Zhu W., White W., Morehouse C. et al. Patients with systemic lupus erythematosus, myositis, rheumatoid arthritis and scleroderma share activation of a common type I interferon pathway. *Ann. Rheum. Dis.* 2011; 70:2029–36. DOI: 10.1136/ard.2011.150326.
57. Orozco G. Sánchez E., González-Gay M., López-Nevot M., Torres B., Cáliz R. et al. Association of a functional single nucleotide polymorphism of PTPN22, encoding lymphoid protein phosphatase, with rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 2005; 52:219–24. DOI: 10.1002/art.20771.
58. Roelofs M.F. Wenink M.H., Brentano F., Abdollahi-Roodsaz S., Oppers-Walgreen B., Barrera P. et al. Type I interferons might form the link between Toll-like receptor (TLR) 3/7 and TLR4-mediated synovial inflammation in rheumatoid arthritis (RA). *Ann. Rheum. Dis.* 2009; 68:1486–93. DOI: 10.1136/ard.2007.086421.
59. Palmer G. Mezin F., Juge-Aubry C.E., Plater-Zyberk C., Gabay C., Guerne P.A. Interferon β stimulates interleukin 1 receptor antagonist production in human articular chondrocytes and synovial fibroblasts. *Ann. Rheum. Dis.* 2004; 63:43–9. DOI: 10.1136/ard.2002.005546.
60. van Holten J. Reedquist K., Sattonet-Roche P., Smeets T., Plater-Zyberk C., Vervoordeldonk M. et al. Treatment with recombinant interferon- β reduces inflammation and slows cartilage destruction in the collagen-induced arthritis model of rheumatoid arthritis. *Arthritis Res. Ther.* 2004; 6:R239–R249. DOI: 10.1186/ar1165.
61. van Holten J. Pavelka K., Vencovsky J., Stahl H., Rozman B., Genovese M. et al. A multicentre, randomised, double blind, placebo controlled phase II study of subcutaneous interferon β -1a in the treatment of patients with active rheumatoid arthritis. *Ann. Rheum. Dis.* 2005; 64:64–9. DOI: 10.1136/ard.2003.020347.
62. van der Pouw Kraan T.C., Wijbrandts C.A., van Baarsen L.G., Voskuyl A.E., Rustenburg F., Baggen J.M. et al. Rheumatoid arthritis subtypes identified by genomic profiling of peripheral blood cells: assignment of a type I interferon signature in a subpopulation of patients. *Ann. Rheum. Dis.* 2007; 66:1008–14. DOI: 10.1136/ard.2006.063412.
63. Thurlings R.M., Boumans M., Tekstra J., van Roon J., Vos K., van Westing D. et al. Relationship between the type I interferon signature and the response to rituximab in rheumatoid arthritis patients. *Arthritis Rheum.* 2010; 62:3607–14. DOI: 10.1002/art.27702.
64. Raterman H.G., Vosslander S., De RS. Nurmohamed M.T., Lems W., Boers M., et al. The interferon type I signature towards prediction of non-response to rituximab in rheumatoid arthritis patients. *Arthritis Res. Ther.* 2012; 14:R95. DOI: 10.1186/ar3819.
65. Avdeeva A.S., Chetina E.V., Markova G.A., Nasonov E.L. Expression of interferon-stimulated genes in patients with rheumatoid arthritis on anti-B-cell therapy (preliminary results). *Sovremennaya Revmatologiya.* 2021; 15(5):12–7. DOI: 10.14412/1996-7012-2021-5-12-17. (in Russian)
66. Wampler Muskardin T. Vashisht P., Dorschner J.M., Jensen M.A., Chrabot B.S., Kern M. et al. Increased pretreatment serum IFN- β/α ratio predicts non-response to tumour necrosis factor α inhibition in rheumatoid arthritis. *Ann. Rheum. Dis.* 2016; 75:1757–62. DOI: 10.1136/annrheumdis-2015-208001.
67. Davison L.M., Jorgensen T.N. New Treatments for Systemic Lupus Erythematosus on the Horizon: Targeting Plasmacytoid Dendritic Cells to Inhibit Cytokine Production. *J. Clin. Cell Immunol.* 2017; 8(6). pii: 534. DOI: 10.4172/2155-9899.1000534.
68. Crow M.K. Type I interferon in the pathogenesis of lupus. *J. Immunol.* 2014; 192:5459–68. DOI: 10.4049/jimmunol.1002795.
69. Chiche L., Jourde-Chiche N., Whalen E., Presnell S., Gersuk V., Dang K. et al. Modular transcriptional repertoire analyses of adults with systemic lupus erythematosus reveal distinct type I and type II interferon signatures. *Arthritis Rheumatol.* 2014; 66:1583–95. DOI: 10.1002/art.38628.
70. Feng X., Wu H., Grossman J.M., Hanvivadhanakul P., FitzGerald

- J.D., Park G.S. et al. Association of increased interferon-inducible gene expression with disease activity and lupus nephritis in patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 2006; 54:2951-62. DOI: 10.1002/art.22044.
71. Becker A.M., Dao K.H., Han B.K., Kornu R., Lakhanpal S., Mobley A.B. et al. SLE peripheral blood B cell, T cell and myeloid cell transcriptomes display unique profiles and each subset contributes to the interferon signature. *PLoS One.* 2013; 8:e67003. DOI: 10.1371/journal.pone.0067003.
72. van den Hoogen L.L., van Roon J.A., Mertens J.S., Wienke J., Lopes A.P., de Jager W. et al. *Ann. Rheum. Dis.* 2018; 77:1810–4. DOI: 10.1136/annrheumdis-2018-213497.



«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



РЕКЛАМА

www.ekolab.ru



МОРСКОЙ КОЛЛАГЕН ДЛЯ ВАШЕЙ МОЛОДОСТИ

Красота и молодость в одном флаконе

- *Anti Age профилактика старения*
- *Улучшает эластичность кожи, прочность костей и волос*
- *Способствует укреплению костей и суставов*
- *Улучшает пищеварение, очищает от токсинов и канцерогенов*
- *Неденатурированный, нативный коллаген*



WILDBERRIES

OZON



Маркет **apteka.ru**

СБЕР
ЕАПТЕКА

БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНАЯ ДОБАВКА. НЕ ЯВЛЯЕТСЯ ЛЕКАРСТВЕННЫМ СРЕДСТВОМ.

Эпимед

ЭКОлаб

Средство для профилактики и лечения
гинекологических заболеваний
на основе активированной
глицирфизиновой кислоты

Оказывает следующие действия:



- Иммуностимулирующее
- Противовирусное
- Противовоспалительное
- Противозудное
- Регенерирующее

Спрей для наружного
и местного применения

WILDBERRIES

OZON



Маркет apteka.ru www.ekolab.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



ГЕМАТОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2023

Халиулин А.В., Калашникова А.Н., Габрильчак А.И., Гусякова О.А., Селезнева И.А.

ПАТОБИОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ СИСТЕМЫ КРОВЕТВОРЕНИЯ ПРИ МИЕЛОДИСПЛАСТИЧЕСКОМ СИНДРОМЕ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

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

Миелодиспластический синдром (МДС) включает в себя группу клональных гемопоэтических заболеваний, основными проявлениями которых являются цитопения в периферической крови и дисплазия в костном мозге. Характерной чертой МДС является повышенный риск трансформации в острый миелоидный лейкоз (ОМЛ). В настоящее время существуют определенные трудности в диагностике, лечении, а также в прогнозировании осложнений заболевания, что связано со сложными генетическими и эпигенетическими механизмами данной патологии, отсутствием стандартных методов диагностики и терапии, характерных патогномоничных клинических проявлений. С целью систематизации имеющейся информации о нарушениях, связанных с обменом веществ, в статье представлены обобщенные данные об изменениях в азотистом, углеводном обменах, обмене железа и гемоглобина, а также их влияние на микроокружение костного мозга, выживаемость в целом, и риск трансформации в ОМЛ. В статье отражены результаты классических работ по изучаемой проблеме и приведены результаты исследований в данной области за последнее десятилетие. Кроме того, в статье приведена обобщенная таблица, демонстрирующая характерные метаболические сдвиги при разнообразных формах миелодиспластического синдрома. Необходимо отметить, что исследования, включенные в обзор, имеют ряд ограничений, связанных с тем, что в большинстве случаев в качестве биоматериала использовалась периферическая кровь, что может только косвенно отражать патобиохимические изменения в костном мозге при МДС. В связи с этим, актуальным является поиск объектов исследования, напрямую связанных с оценкой биохимических процессов в гемопоэтических предшественниках центральных органов гемопоэза при развитии миелодисплазии.

Ключевые слова: миелодиспластический синдром; патобиохимия; обмен веществ; миелограмма; костный мозг; обзор.

Для цитирования: Халиулин А.В., Калашникова А.Н., Габрильчак А.И., Гусякова О.А., Селезнева И.А. Патобиохимические особенности системы кроветворения при миелодиспластическом синдроме (обзор литературы). *Клиническая лабораторная диагностика*. 2023; 68 (9):535-543 DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2023-68-9-535-543>

Для корреспонденции: Халиулин Алмаз Вадимович, ст. преподаватель каф. фундаментальной и клинической биохимии с лабораторной диагностикой; e-mail: a.v.haliulin@samsmu.ru

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Поступила 26.05.2023

Принята к печати 01.06.2023

Опубликовано 08.09.2023

Khaliulin A.V., Kalashnikova A.N., Gabrilchak A.I., Gusjakova O.A., Selezneva I.A.

PATHOBIOCHEMICAL FEATURES OF HEMOPOEIS IN MYELODYSPLASTIC SYNDROME (REVIEW OF LITERATURE)

Samara State Medical University, 443099, Samara, Russia

Myelodysplastic syndrome (MDS) includes a group of clonal hematopoietic tumors, the main manifestations of which are cytopenia in the peripheral blood and dysplasia in the bone marrow. A characteristic feature of MDS is an increased risk of transformation into acute myeloid leukemia (AML). Currently, there are certain difficulties in diagnosing, treating, and predicting the complications of the disease, which is associated with the complex genetic and epigenetic mechanisms of this pathology, the lack of standard methods of diagnosis and therapy, and characteristic pathognomonic clinical manifestations. In order to systematize the available information on metabolic disorders, the article presents generalized data on changes in nitrogen, carbohydrate, iron and hemoglobin metabolism, as well as their impact on the bone marrow microenvironment, overall survival and the risk of transformation into AML. The article reflects the results of classical works on the problem under study, as well as the results of research in this area over the past decade. In addition, the article provides a generalized table showing the characteristic metabolic changes in various forms of myelodysplastic syndrome. It should be noted that the studies included in the review have a number of limitations due to the fact that in most cases peripheral blood was used as a biomaterial, which can only indirectly reflect pathobiochemical changes in the bone marrow in MDS. In this regard, it is relevant to search for research objects directly related to the assessment of biochemical processes in the hematopoietic precursors of the central organs of hematopoiesis during the development of myelodysplasia.

Key words: myelodysplastic syndrome; pathobiochemistry; metabolism; myelogram; bone marrow; review of literature.

For citation: Khaliulin A.V., Kalashnikova A.N., Gabrilchak A.I., Gusjakova O.A., Selezneva I.A. Pathobiochemical features

of hemopoies in myelodysplastic syndrome (review of literature). *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2023; 68 (9): 535-543 (in Russ.) DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2023-68-9-535-543>

For correspondence: *Khaliulin A.V.*, Senior lecturer of the department of fundamental and clinical biochemistry with laboratory diagnostics; e-mail: a.v.haliulin@samsmu.ru

Information about authors:

Khaliulin A.V., <https://orcid.org/0000-0003-4689-8904>;
Kalashnikova A.N., <https://orcid.org/0009-0001-3506-8385>;
Gabrilchak A.I., <https://orcid.org/0000-0003-2474-3127>;
Gusjakova O.A., <https://orcid.org/0000-0002-5619-4583>;
Selezneva I.A., <https://orcid.org/0000-0001-6647-5330>.

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

Acknowledgment. *The study had no sponsor support.*

Received 26.05.2023

Accepted 01.06.2023

Published 08.09.2023

Введение. Миелодиспластический синдром (МДС) представляет собой гетерогенную группу клональных гемопоэтических заболеваний, основными проявлениями которых являются цитопения в периферической крови и дисплазия в костном мозге, а также повышенный риск трансформации в острый миелоидный лейкоз (ОМЛ) [1]. В основе этого заболевания лежит последовательное накопление соматических мутаций, затрагивающих как последовательность нуклеотидов в генах, так и эпигенетические механизмы регуляции.

Классификация МДС имеет несколько вариантов: FAB, WHO (ВОЗ), IPSS, IPSS-R, WPSS. Классификация ВОЗ является одной из самых распространенных и часто используемых. В 2017 году классификация была пересмотрена, в результате чего из названия форм МДС исключили термин «цитопения», то есть понятия «рефрактерная анемия» и «рефрактерная цитопения» больше не употреблялись. Согласно классификации 2017 года МДС подразделяется на целый ряд форм [2,3]. В 2022 году была сформулирована обновленная классификация МДС, в которой уточняется терминологический аппарат, предлагается новая группировка форм МДС, основанная на генетических особенностях клональных неоплазий [4].

На данный момент в России отсутствуют эпидемиологические данные по МДС [5]. Согласно данным Дюссельдорфского регистра, частота встречаемости МДС — 4 случая на 100 тыс. населения в год, а распространенность — 7 случаев на 100 тыс. населения в год, вместе с тем, заболеваемость резко возрастает в группе пациентов старше 80 лет (примерно 50 случаев на 100 тыс. населения в год). Средний возраст начала заболевания составляет 70 лет [6]. Чаще МДС диагностируется у мужчин, при этом средний возраст установления диагноза у женщин на 4 года выше. У пациентов мужского пола чаще возникают подтипы МДС более высокого риска (МДС с избытком бластов) [7]. Поскольку течение заболевания отличается в разных возрастных группах МДС, медиана выживаемости колеблется от нескольких месяцев до нескольких лет (в среднем от 0,8 года до 8,8 лет), чаще всего составляя 30 месяцев [6]. Миелодиспластиче-

ский синдром достаточно редко определяется среди пациентов младше 50 лет (около 10%). Такие пациенты обычно имеют более высокую выживаемость, разница медиан выживаемости между молодыми и пожилыми пациентами была значительной (176 и 25 месяцев соответственно), корреляции между возрастом и риском трансформации в ОМЛ не обнаружено. Заболеваемость среди женщин в молодой группе была выше, чем у мужчин [6,8].

Диагностика миелодиспластического синдрома достаточно сложна. Имеющиеся сегодня диагностические возможности характеризуются многогранностью и сложностью интерпретации, что обуславливает необходимость поиска новых клинико-лабораторных подходов для описываемой нозологии.

Кроме возможного потенциала в расширении диагностических возможностей миелодиспластического синдрома, актуальным, на наш взгляд, является поиск новых патогенетически обоснованных терапевтических подходов для данной группы неоплазий. В гематологии уже реализовались успешные попытки таргетной терапии ряда гемобластозов. Так, в программе полихимиотерапии острого лимфобластного лейкоза (ОЛЛ) используются препараты L-аспарагиназы, действие которых основано на разрушении аспарагина до аспарагиновой кислоты и аммиака. Так как лейкозные клетки, в отличие от нормы, не могут синтезировать аспарагин, разрушение этой аминокислоты приводит к их апоптозу вследствие торможения синтеза белка [9,10]. Благодаря этому выживаемость пациентов увеличилась с 40% (в 60-х годах XX века) до 90% в настоящее время [11].

Для лечения ХМЛ применяются ингибиторы тирозинкиназы, такие как иматиниб, дазатиниб и другие, которые связывают и инактивируют фермент тирозинкиназу, вследствие чего происходит подавление пролиферации миелоидных клеток и выброс цитокинов [12]. При достижении глубокого молекулярного ответа возможно снижение дозы, либо полная отмена этих препаратов без последующих рецидивов или для достижения длительной ремиссии [13].

Стандартом в лечении МДС и ОМЛ являются гипометилирующие агенты, например, азацитидин,

представляющий собой аналог нуклеозида цитидина, принцип действия которого основан на встраивании в нуклеиновые кислоты, взаимодействии с метилтрансферазами ДНК и образовании промежуточных продуктов, ингибирующих метилирование ДНК. Подобное гипометилирование участков ДНК способствует активации экспрессии генов-супрессоров и восстановлению дифференцировки клеток [14]. Такая терапия увеличивает общую выживаемость, а также уменьшает риск трансформации МДС в ОМЛ [15].

Таким образом, изучение метаболических особенностей системы кроветворения является основой поиска диагностических и прогностических предикторов, а также основой патогенетической терапии.

В связи с этим, целью исследования было обобщение данных о метаболических процессах при миелодиспластическом синдроме и систематизация имеющихся данных по патобиохимическим изменениям в клетках крови и органах кроветворения.

Диагностические подходы в настоящее время. На данный момент диагностика МДС характеризуется определенными сложностями, так как его достаточно сложно обнаружить обычными методами. Основу для диагностики составляют микроскопия костного мозга и периферической крови, проточная цитометрия, цитогенетические исследования, секвенирование, а также инновационные технологии в виде машинного обучения [16]. С помощью микроскопии проводят оценку количества бластов, как в периферической крови, так и в костном мозге, оценку цитологических и диспластических изменений, оценку клеточности и т.д. Однако диспластические изменения могут носить вторичный характер, поэтому для постановки диагноза МДС необходимо провести дополнительные исследования, включая цитогенетические и молекулярные. Проточная цитометрия также не может дать окончательно ответа о наличии или отсутствии МДС, так как не существует специфического маркера для дифференциальной диагностики данного заболевания, но обнаружение множественных аномалий экспрессии ряда антигенов может подтвердить диагноз. Для миелобластов патологическими маркерами являются CD45, CD34, CD117, HLA-DR и CD123, для предшественников В-лимфоцитов — CD34, CD19 и CD10, для нейтрофилов — CD33 со слабой экспрессией и уменьшение зернистости и т.д. Далее, эти изменения оценивают по шкале Агата для получения прогноза заболевания, где каждая аномалия несет определенное количество баллов [16,17]. Иммунофенотипическая характеристика важна в определении трансформации МДС в ОМЛ.

Особое значение в диагностике МДС имеет цитогенетическое исследование — определение цитогенетических аберраций. Этот метод достаточно сложный, так как, в отличие от острого миелобластного лейкоза или острого промиелоцитарного лейкоза, количество аномалий при МДС достаточно велико, что создает дополнительные трудности для их обнаружения. К возможным аномалиям могут относиться факторы сплайсинга РНК, эпигенетические регуляторы, компоненты когезина, факторы транскрипции, реакция на повреждение ДНК и передача сигнала молекулы.

К факторам сплайсинга относят изменения, происходящие в виде одиночных замен аминокислот (SF3B1, SRSF2, U2AF1 и ZRSR2). Эпигенетические регуляторы — это гены, отвечающие за метилирование ДНК и высвобождение гистонов (DNMT3a, TET2). Компоненты когезина могут подвергаться нонсенс потерям и мутациям сдвига рамки считывания (SMC1A, SMC3, RAD21, STAG1 и STAG2). Мутации, влияющие на факторы транскрипции (GATA2 и RUNX1), приводят к потере функций этих молекул [18,19].

В цитогенетике могут использоваться такие методы, как кариотипирование (G-бэндинг), анализ флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH), матрицы однонуклеотидного полиморфизма (SNP), но золотым стандартом является метафазная цитогенетика. Комбинация этих методов позволяет обнаружить большинство дефектов. В целом, для МДС наиболее часто характерны несбалансированные хромосомные аберрации в виде делеций, моносомий, трисомий, а также сбалансированные — в виде транслокаций и инверсий. Нужно учитывать, что комбинация мутаций, имеющих даже положительный прогноз с другими мутациями, значительно снижает выживаемость. Подобные дефекты называют сложными аномалиями, возникающими в результате воздействия на организм мутагенов, таких как антрациклины, ингибиторы топоизомеразы II, алкилирующие агенты и/или облучение [16,20]. Одним из современных методов в диагностике генетических нарушений является секвенирование, а именно NGS — секвенирование нового поколения. Несмотря на то, что для МДС нет специфической молекулярной сигнатуры, данный метод имеет прогностическую значимость. Например, обнаружение мутаций DNMT3A, ASXL1, IDH1 и IDH2 ассоциировано с худшей выживаемостью. Определение других молекулярных факторов, таких как факторы транскрипции, мутации сигнальных генов, механизмы репарации, а также соматических мутаций, может помочь как в прогнозировании, так и в лечении МДС. Течение заболевания закономерно ухудшается по мере увеличения числа приобретенных соматических мутаций, за исключением мутации SF3B1, при которой, напротив, наблюдался лучший прогноз. Также NGS позволяет дифференцировать ОМЛ и МДС с помощью обнаружения молекулярных компонентов, характерных для ОМЛ. Таким образом, секвенирование позволяет дать более точный ответ на наличие МДС в сравнении с цитогенетикой.

В наши дни активно развиваются технологии искусственного интеллекта, с помощью которого открываются новые возможности для постановки диагноза, прогнозирования и лечения многих заболеваний, МДС также не является исключением. С помощью автоматизированного анализа и машинного обучения становится возможным получить результаты работы высокоскоростной камеры в виде изображений клеток в режиме реального времени. Чтобы получить такие параметры, как площадь клетки, длину и высоту, соотношение сторон, деформацию, коэффициент инерции и пористость, также возможно обнаружение малозаметных ядерных аномалий. Последующий ав-

томатический анализ существенно облегчает диагностику гематологических заболеваний [16,21].

Что касается клинических проявлений, то МДС не имеет характерных патогномоничных признаков, что создает дополнительные сложности в диагностике [22-24].

Азотистый обмен. С точки зрения азотистого

обмена, известны изменения активности аденозиндезаминазы (АДА), аргиназы-1 (ARG-1), дезокситимидинкиназы. АДА — это фермент, который катализирует необратимое дезаминирование аденозина, что приводит к образованию инозина. Показано, что за время наблюдения средняя активность АДА увеличилась с 251 до 510 Ед/л (см. таблицу) [25].

Сводные данные о метаболических изменениях в системе кроветворения и крови при различных вариантах МДС

Метаболиты	МДС-ИБ							Биоматериал	Источники
	МДС-ОЛД	МДС-КС	МДС-МЛД	МДС-ИБ-1	МДС-ИБ-2	МДС-Н	МДС-5q		
Анаэробный гликолиз									
Гексокиназа	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	Эритроциты ПК	[47,49]
Фосфофруктокиназа	↑/≈N	↑	↑	↑	↑	↑	↑	Эритроциты ПК	[47,49]
Пируваткиназа	↑/↓	↑/↓	↑/↓	↑/↓	↑/↓	↑/↓	↑/↓	Эритроциты ПК	[47,48]
Енолаза	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	Эритроциты ПК	[47,49]
Триозофосфатизомеразы	↑/↓	↑/↓	↑/↓	↑/↓	↑/↓	↑/↓	↑/↓	Эритроциты ПК	[47]
Альдолаза	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	Эритроциты ПК	[47,49]
Фосфоглицеромутаза	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	Эритроциты ПК	[47,49]
Лактатдегидрогеназа	↑	↑	↑	↑↑↑	↑↑↑	↑	↑	Сыворотка крови	[50]
3-Гидроксibuтиратдегидрогеназа-2	↑	↑	↑	↑↑↑	↑↑↑	↑	↑	Клетки КМ	[45]
Антиоксидантные ферменты									
Глутатионпероксидаза	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	Эритроциты ПК	[47,49]
Глутатионредуктаза	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	Эритроциты ПК	[47,48]
Активные формы кислорода	+	+	+	+	+	+	+	Периферическая кровь	[36,37]
Пентозо-фосфатный путь									
Глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа	↑/↓	↑/↓	↑/↓	↑/↓	↑/↓	↑/↓	↑/↓	Эритроциты ПК	[49]
6-Фосфоглюконатдегидрогеназа	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	Эритроциты ПК	[47,49]
Глюкозофосфатизомеразы	-/≈N	-	-	-	-	-	-	Эритроциты ПК	[47,49]
Азотистый обмен									
Аденозиндезаминаза	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	Эритроциты ПК	[25]
Аргиназа-1	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	Мононуклеарные клетки КМ	[26]
Дезокситимидинкиназа	-	-	-	↑	↑	-	-	Сыворотка крови	[28]
Обмен железа и гемоглобина									
Гемоглобин F	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	Эритроциты ПК	[57]
Железо	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	Сыворотка крови	[31]
Лабильное плазменное железо	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	Плазма крови	[33]
Гепсидин	↓/↑	↓/↑	↓/↑	↓/↑	↓/↑	↓/↑	↓/↑	Сыворотка крови	[32]
Ферритин	↑	↑↑↑	↑	↑	↑	↑	↑	Сыворотка крови	[32,33]
Гепсидин/ферритин	↓	↓↓↓	↓	↓	↓	↓	↓	Сыворотка крови	[32]
Эритропоэтин	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	Сыворотка крови	[32]
Цитокины									
Фактор дифференцировки роста-15 (GDF-15)	↑↑	↑↑↑	↑	↑	↑	↑↑	↑↑	Сыворотка крови	[31-33]

Примечание. ПК – периферическая кровь, КМ – костный мозг, ↑ - активность/концентрация повышена незначительно, ↑↑ - активность/концентрация повышена умеренно, ↑↑↑ - активность/концентрация повышена значительно, ↓ - активность/концентрация понижена, ↓↓↓ - активность/концентрация понижена значительно, ↑/↓ - активность/концентрация изменены разнонаправленно в группах, + - присутствие вещества в образце, ≈N – значение приближено к норме.

МДС-ОЛД – миелодиспластический синдром с однолинейной дисплазией, МДС-КС - миелодиспластический синдром с кольцевыми сидеробластами, МДС-МЛД - миелодиспластический синдром с мультилинейной дисплазией, МДС-ИБ - миелодиспластический синдром с избытком бластов 1 и 2, МДС-Н - миелодиспластический синдром неклассифицированный, МДС-5q - миелодиспластический синдром с изолированной del(5q);

Вместе с этим, у пациентов с миелодиспластическим синдромом наблюдается гемолиз. При этом аномальный аутогемолиз корректировался (*in vitro*) глюкозой посредством увеличения выработки АТФ по гликолитическому пути, а также ингибированием АДА через фосфорилирование аденозина [25]. Аргиназа-1 является важным предиктором изменения микроокружения костного мозга. ARG-1, фермент, обеспечивающий гидролиз L-аргина до L-орнитина и мочевины, выделяется нейтрофилами, гранулоцитарными предшественниками и моноцитами/макрофагами и не выделяется мегакариоцитами, эритроцитами и лимфоцитами. Активность ARG-1 мононуклеарных клеток костного мозга была значительно увеличена (в 2,5 раза) при МДС низкой степени (то есть, исключая МДС-ИБ-1 и МДС-ИБ-2), в то время как при МДС высокой степени значительного увеличения не наблюдалось. Такое аномальное повышение аргиназы-1 связано с воспалительным процессом и является специфичным для МДС [26,27]. Отмечается ее роль в стимулировании опухолевого процесса посредством синтеза полиаминов и подавления опухолевой цитотоксичности, а также нарушения функции Т-лимфоцитов [27]. Дезокситимидинкиназа — фермент, играющий ключевую роль в синтезе пиримидиндезоксирибонуклеотидов. Больше повышение активности наблюдалось на поздних стадиях заболевания (МДС-ИБ) и превышало более чем в 150 раз норму, а также прогнозировало плохую выживаемость, но при этом не наблюдалось связи с риском трансформации в ОМЛ. В дополнение, повышенная активность дезокситимидинкиназы наблюдается при повышении активности опухолевых новообразований [28].

Обмен железа и гемоглобина. Особый интерес представляет обмен железа и гемоглобина (Hb), нарушения которого в свою очередь могут сказываться на прогрессировании многих заболеваний и влиять на выживаемость.

Повышение концентрации гемоглобина F (HbF) может свидетельствовать о серьезных гематологических нарушениях, в том числе и об МДС. Настоящие исследования показывают, что уровень HbF у пациентов с миелодиспластическим синдромом повышен примерно в 60% случаев (у 16 из 26 пациентов). Но при этом имеются данные, что повышение этого показателя может прогнозировать лучшую выживаемость [29]. Доказательством этого является то, что при повышенной концентрации HbF выживаемость составляла не менее 1 года, а также то, что у пациентов с МДС низкой степени концентрация HbF имела значение около 6,5%, а у пациентов с МДС высокой степени — 2,9%. Таким образом, относительно высокие показатели HbF прогнозируют меньшие риски и более благоприятные прогнозы МДС [29]. В клинической практике также встречается миелодиспластический синдром, ассоциированный с α -талассемией (ATMDS). Это заболевание сопровождается появлением в крови аномального HbH, но при этом пациент имеет отрицательный тест на α -талассемию. Возникновение так называемой приобретенной болезни HbH, главным образом, связано с соматической мутацией

ATRX, которая не играет ключевую роль в развитии МДС, но ассоциирована с более тяжелой степенью α -талассемии [22,30]. Приобретенная α -талассемия возникает из-за подавления синтеза α -глобина, но в этом лежат другие молекулярные основы в сравнении с наследственной талассемией. Также для этой формы МДС характерен соматический мозаицизм: в мазке периферической крови присутствуют в разном количестве как нормальные, так и аномальные (гипохромные, микроцитарные и анизопойкилоцитарные) эритроциты, из-за чего содержание HbH колеблется и может исчезать при непосредственной трансформации в острый лейкоз [30].

В свою очередь, важным аспектом в течение заболевания МДС является нарушение метаболизма железа. Из-за прогрессирующей эритроидной дисплазии у пациентов возникает потребность в трансфузионной терапии, что является одной из основных причин перегрузки железом [31]. Однако, у многих пациентов, страдающих МДС, перегрузка железом возникает еще до начала трансфузионной терапии. Это связано с тем, что молодые и созревающие эритрокариоциты синтезируют фактор роста дифференциации-15 (GDF-15), который связывается с ферропортином, вызывающим деградацию железа, что приводит к прекращению высвобождения его из клеток [31-33]. Избыток железа сопровождается усиленной выработкой гепсидина, поэтому в исследуемой группе уровень пептида был гораздо выше нормы, а соотношение гепсидин-ферритин было значительно снижено. Последнее наименее выражено у пациентов с МДС-ИБ и МДС-МЛД и наиболее выражено у пациентов, имеющих МДС-КС (включая МДС-КС-ОЛД и МДС-КС-МЛД), что прогнозирует глубокие нарушения метаболизма железа. Предполагают, что это связано с мутацией SF3B1, что также может объяснить повышенный уровень сыровоточного ферритина (SF), который повышается в ответ на воспаление, перегрузку железом, опухолевый процесс и переливание крови, и высокий коэффициент насыщения железом (ISAT) [32,34]. Уровни гепсидина в периферической крови и костном мозге имели схожие значения, из-за этого можно предположить, что гомеостаз железа одинаков в обеих средах [34]. Вследствие перегрузки железом, когда трансферрин насыщается на 80-85%, повышается уровень лабильного плазменного железа — компонента, выявляемого при патологических процессах, который входит в состав нетрансферринсвязанных форм железа и который обладает высокой окислительно-восстановительной способностью, что приводит к повышенному образованию активных форм кислорода (АФК). В то же время внутриклеточное железо — нормальный компонент клетки, но при его повышении происходит повреждение тканей и органов и окислительный стресс костного мозга [35]. Также отмечен повышенный уровень супероксида и пероксида водорода, что коррелирует со сниженной выживаемостью таких пациентов. При этом антиоксидантный ответ адаптирован, но недостаточно эффективен [36,37]. Внутриклеточное железо способствует окислительному стрессу, из-за чего повышается риск трансформации

в ОМЛ. Длительная перегрузка железом способствует его взаимодействию с митохондриальной ДНК, что приводит к повреждениям субъединиц дыхательной цепи и ее дисфункции. Гипоксия тканей способствует выработке эритропоэтина (ЕРО) через HIF-2, который увеличивает эритропоэз и повышает уровень GDF-15, но повышенное содержание сывороточного ЕРО не компенсирует нарушения эритропоэза, так как происходит апоптоз эритроидных клеток еще на ранних стадиях дифференцировки [32,38,39]. GDF-15 вырабатывается в ответ на гипоксию, воспаление и окислительный стресс и является негативным регулятором всасывания железа у пациентов с МДС, но предполагают, что GDF-15 может оказывать положительное влияние на течение МДС посредством лучшей сохранности эритропоэза, то есть он может оказывать как про-, так и противоопухолевые эффекты [33,40,41]. Другим регулятором выработки гепсидина является эритроферрон (ERFE) — гормон, вырабатываемый эритробластами и контролирующей содержание железа в организме. Эритроферрон также повышается под действием эритропоэтина в ответ на гипоксию и анемию, причем увеличивается как количество клеток, так и продукция самого гормона этими клетками [38]. Полагают, что это повышение (как компенсаторный механизм) коррелирует с лучшим прогнозом для пациента [42]. В результате происходит снижение уровня гепсидина, что приводит к увеличению абсорбции железа в 12-перстной кишке посредством ферропортина и мобилизации его из клеток для синтеза гемоглобина [38,39]. Высокие уровни свободного железа также приводят к образованию активных форм кислорода, в том числе и гидроксильного радикала. Последний образуется в реакции Фентона или Габера-Вайса при взаимодействии пероксида водорода и двухвалентного железа, и является основной причиной окислительного стресса, разрушая компоненты клеток, в том числе и ДНК [38,43]. Отмечается также, что GDF-15 и ERFE снижают выработку провоспалительных медиаторов, таких как ФНО α , NO и АФК, что является фактором защиты от апоптоза [33,42].

Кроме вовлечения в патогенез МДС окислительного стресса, было выявлено, что у некоторых пациентов был повышен процент гипохромных эритроцитов (%HRC). Это происходит из-за сниженного количества железа, которое включается в гем, что может говорить о том, что функциональный дефицит железа может приводить к неэффективному эритропоэзу. Высокий процент HRC коррелирует со значениями протопорфирина цинка (ZnPP), так как железо и цинк конкурируют за сайт связывания металла феррохелатазы, следовательно, дефицит железа приводит к повышенному накоплению ZnPP [44]. Также было выявлено, что у пациентов с МДС была повышена гидроксibuтиратдегидрогеназа 2 типа (BDH2), в особенности у пациентов с высоким риском (МДС-ИБ 1 и 2). BDH2 – фермент, ограничивающий «работу» человеческих сидерофоров, регуляторов гомеостаза клеточного железа, участвующих в его транспорте. Истощение сидерофоров млекопитающих приводит

к аномальному накоплению железа в цитоплазме и снижению его количества в митохондриях [45,46]. Известно, что BDH2 имеет антиапоптотическое действие, негативно влияет на клеточный цикл и дифференцировку злокачественных клеток, что может быть одним из факторов более позднего статуса заболевания. Высокие уровни BDH2 были взаимосвязаны с высокими уровнями ферритина, что в свою очередь говорит о перегрузке железом. Пациенты с повышенной активностью BDH2 имеют более плохой прогноз развития МДС и более высокий риск лейкозной трансформации [45].

Углеводный обмен. Нарушения углеводного обмена, в первую очередь, касаются эритроцитов, и влияют на продолжительность их жизни, способность к деформации и могут обуславливать гемолиз. В целом, исследования показывают, что эритроциты характеризуются повышенной деформируемостью при дефиците гликолитических ферментов, таких как пируваткиназа (PK), триозофосфатизомераза (ТPI). Однако изменение активности PK имеет противоречивые сведения: с одной стороны — активность была повышена, с другой — понижена, что связано с гетерогенным характером заболевания. В организме человека существует 4 подтипа фермента: L-, R-, M₁- и M₂-типы. В данном случае повышение активности пируваткиназы происходило в основном за счет M- и R-фракций [47,48]. Параллельно наблюдается повышение активности гексокиназы, альдолазы, енолазы, глюкофосфоизомеразы, фосфофруктокиназы [47,49]. При этом АТФазы, АСАТ, глутатионредуктаза были близки к норме [48].

Более распространенным прогностическим критерием является повышение активности лактатдегидрогеназы (ЛДГ), причем наибольшие изменения наблюдались у пациентов МДС с избытком blastov. Согласно исследованиям, при увеличении активности ЛДГ пациенты были более подвержены развитию заболевания и имели более короткую выживаемость. Несмотря на то, что точная биохимическая природа такого состояния неизвестна, есть предположения о его причинах: 1) повышенный оборот и деградация миелоидных клеток; 2) неэффективное кроветворение; 3) проникновение в печень и селезенку незрелых миелоидных клеток; 4) перегрузка железом [50].

Важным прогностическим фактором выживаемости является мутация изоцитратдегидрогеназы (IDH). Выяснено, что пациенты с IDH-1/2 имели более короткую выживаемость, чем пациенты с IDH дикого типа. Мутантный фермент приводит к конвертации α -кетоглутарата (α -KG) в 2-гидроксиглутарат (2-HG), который вероятно является онкогеном и связан с риском лейкозной трансформации за счет конкурентного ингибирования α -KG-зависимых ферментов, что может приводить к гиперметилированию ДНК и последующему его повреждению [51]. Синтез мутантного IDH-1 приводит к дефициту гема (из-за нарушения продукции сукцинил-КоА) и глобина гемоглобина в эритроцитах, что в дальнейшем приводит к анемии. Значительно снижается активность кетоглутаратдегидрогеназы (OGDH) из-за повышенной

продукции 2-HG, что и приводит к снижению уровня сукцинил-КоА [52]. Интересно, что в одном из исследований большее влияние на снижение выживаемости оказывала мутация именно IDH-1, так как авторы не обнаружили в исследуемой группе (227 пациентов) IDH-2 [53].

Также на деформируемость эритроцитов влияет глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа (Г-6-ФД), при этом отмечено повышение деформируемости. При дефиците Г-6-ФД эритроциты приобретают характеристики фетальных [49]. Кроме того, был выявлен новый вариант Г-6-ФД - Verona – у пациента с МДС. Интересно, что этот фермент был более термостабилен в присутствии НАДФ и менее устойчив к нагреванию в отсутствие кофермента [54].

При МДС у детей наблюдалось неоднозначное изменение активности малатдегидрогеназы (МДГ), а именно: в полиморфно-ядерных клетках митохондриальная МДГ (мМДГ) была низко активной, миелоидные клетки-предшественники имели повышенную активность мМДГ, а цитоплазматическая МДГ была в пределах нормы. Снижение активности мМДГ, скорее всего, не было связано с гематологическими нарушениями. Повышенный уровень мМДГ сопровождался увеличением продукции CO_2 из α -кетоглутарата, сукцината и малата, но не из ацетата. Таким образом, это состояние сопровождается частичным усилением окислительного фосфорилирования, что прогнозирует злокачественное преобразование [55].

Заключение. Таким образом, можно отметить, что нарушения обмена белков, углеводов, железа и гемоглобина патогенетически значимы для МДС и влияют как на выживаемость организма в целом, так и на риск трансформации в ОМЛ. Так или иначе, изменения касаются энергетического обмена. В целом, данные нарушения приводят к энергодефицитным состояниям. В азотистом обмене косвенно нарушается синтез АТФ за счет нарушения обмена аденозина (необратимое дезаминирование аденозина до инозина). В углеводном происходит усиление анаэробного гликолиза, что приводит к увеличенному потреблению глюкозы и образованию кислых продуктов, таких как лактат и пируват. Это приводит к снижению синтеза АТФ (по сравнению с ЦТК) и ацидозу в костном мозге. Нарушения в пентозофосфатном пути окисления глюкозы приводят к снижению количества образующихся восстановленных коферментов (НАДФН₂ и, косвенно, НАДН₂), из-за чего снижается активность ферментов дыхательной цепи, также нарушается синтез субстратов для ЦТК, что приводит к ингибированию синтеза макроэргических соединений в ходе окислительного фосфорилирования. Перегрузка железом ведет в выработке GDF-15, который является отрицательным регулятором гепсидина. Избыток железа в виде внутриклеточного пула приводит к деструкции дыхательной цепи митохондрий, что ведет к гипоксии, вносит свой вклад в формирование гипознергетических состояний и образованию АФК. Недостаток кислорода активирует выработку эритропоэтина, который повторно вызывает увеличение уровня GDF-15. АФК повреждают ферменты цепи переноса электронов митохон-

дрий, что усугубляет энергодефицит и гипоксию, воздействуют на ДНК, что может привести к мутациям, окислению нуклеотидов, увеличивают высвобождение железа и ингибируют ферменты, что приводит к еще большему образованию токсичных форм кислорода. Накопление кислых продуктов и АФК приводит к окислительному стрессу костного мозга, антиоксидантный ответ которого недостаточно эффективен, в результате чего нарушается микроокружение КМ и, в дальнейшем, нормальное кроветворение, что приводит к устойчивым гемоцитопениям [56].

Необходимо отметить, что полученные данные свидетельствуют о существенном ограничении в попытках описать метаболические нарушения при дисплазии кроветворения. Связаны эти ограничения с тем, что большинство имеющихся исследований проводились с использованием эритроцитов периферической крови (см. таблицу), что может только косвенно отражать изменения обменных процессов в костном мозге. В связи с этим, актуальным является поиск объектов исследования, напрямую связанных с оценкой биохимических процессов в гемопоэтических предшественниках центральных органов гемопоэза при развитии миелодисплазии. Уже имеются некоторые данные по оценке активности некоторых ферментов, метаболитов, гормонов, цитокинов в интерстициальной жидкости костного мозга при различных гематологических нозологиях [57-60]. Обращает на себя внимание, что данные по изменению метаболических процессов в липидном обмене при миелодисплазии ограничены, что требует проведения дальнейших исследований.

ЛИТЕРАТУРА (п.п. 2-4, 6-13, 15-56, 58-60 см. REFERENCES)

1. Луговская С.А., Почтарь М.Е. *Гематологический атлас*. М.-Тверь: Триада; 2016.
5. Липилкин П. В., Кулаева Е. Д., Зельцер А. Н., Морданов С. В., Шатохин Ю. В. Миелодиспластический синдром: эпидемиология и эпигенетические нарушения. *Медицинский вестник Юга России*. 2022; 13(2): 179-90. DOI: 10.21886/2219-8075-2022-13-2-179-190.
14. Ширин А.Д., Баранова О.Ю. Гипометилирующие препараты в онкогематологии. *Клиническая онкогематология*. 2016; 9(4): 369–82. DOI: 10.21320/2500-2139-2016-9-4-369-382.
57. Габрильчак А.И., Халиулин А.В., Селезнева И.А., Гусякова О.А., Радомская В.М., Васильева Т.В. Способ оценки метаболической активности мегакариоцитарного ростка костного мозга. Патент РФ № 2672471; 2018.

REFERENCES

1. Lugovskaya S.A., Pochtar` M.E. *Gematologicheskij atlas*. Moscow - Tver` : Triada; 2016. (in Russian)
2. Hasserjian R.P. Myelodysplastic Syndrome Updated. *Pathobiology*. 2019; 86(1): 7-13. DOI: 10.1159/000489702.
3. Hong M., He G.. The 2016 Revision to the World Health Organization Classification of Myelodysplastic Syndromes. *J. Transl. Int. Med*. 2017; 5(3):139-43. DOI: 10.1515/jtim-2017-0002.
4. Khoury J. D., Solary E., Ablu O., Akkari Y., Alaggio R., Apperley J. F. et al. The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Myeloid and Histiocytic/Dendritic

- Neoplasms. *Leukemia*. 2022; 36(7): 1703-19. DOI: 10.1038/s41375-022-01613-1.
5. Lepilkin P.V., Kulaeva E.D., Zeltser A.N., Mordanov S.V., Shatokhin Yu.V. Myelodysplastic syndrome: epidemiology and epigenetic disorders. *Meditsinskiy vestnik Yuga Rossii*. 2022; 13(2):179-90. DOI: 10.21886/2219-8075-2022-13-2-179-190. (in Russian)
 6. Germing U., Kobbe G., Haas R., Gattermann N. Myelodysplastic syndromes: diagnosis, prognosis, and treatment. *Dtsch. Arztebl. Int.* 2013; 110(46): 783-90. DOI: 10.3238/arztebl.2013.0783.
 7. Neukirchen J., Schoonen W. M., Strupp C., Gattermann N., Aul C., Haas R. et al. Incidence and prevalence of myelodysplastic syndromes: data from the Düsseldorf MDS-registry. *Leuk. Res.* 2011; 35(12): 1591-6. DOI: 10.1016/j.leukres.2011.06.001.
 8. Kuendgen A., Strupp C., Aivado M., Hildebrandt B., Haas R., Gattermann N. et al. Myelodysplastic syndromes in patients younger than age 50. *J. Clin. Oncol.* 2006; 24(34):5358-65. DOI: 10.1200/JCO.2006.07.5598.
 9. Juluri K.R., Siu C., Cassaday R.D. Asparaginase in the Treatment of Acute Lymphoblastic Leukemia in Adults: Current Evidence and Place in Therapy. *Blood Lymphat. Cancer*. 2022; 12:55-79. DOI: 10.2147/BLCTT.S342052.
 10. Pokrovskaya M.V., Pokrovsky V.S., Aleksandrova S.S., Sokolov N.N., Zhdanov D.D. Molecular Analysis of L-Asparaginases for Clarification of the Mechanism of Action and Optimization of Pharmacological Functions. *Pharmaceutics*. 2022; 14(3): 599. DOI: 10.3390/pharmaceutics14030599.
 11. Abaji R., Krajcinovic M. Pharmacogenetics of asparaginase in acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Drug Resist.* 2019; 2(2): 242-55. DOI: 10.20517/cdr.2018.24.
 12. Pettit K., Rezazadeh A., Atallah E.L., Radich J. Management of Myeloproliferative Neoplasms in the Molecular Era: From Research to Practice. *Am. Soc. Clin. Oncol. Educ. Book*. 2022; 42: 1-19. DOI: 10.1200/EDBK_349615.
 13. Inzoli E., Aroldi A., Piazza R., Gambacorti-Passerini C. Tyrosine kinase inhibitor discontinuation in chronic myeloid leukemia: eligibility criteria and predictors of success. *Am. J. Hematol.* 2022; 97(8): 1075-85. DOI: 10.1002/ajh.26556.
 14. Shirin A.D., Baranova O.Yu. Hypomethylating drugs in hematology. *Klinicheskaya onkologematologiya*. 2016; 9(4): 369-82. DOI: 10.21320/2500-2139-2016-9-4-369-382. (in Russian)
 15. Fenaux P., Mufti G.J., Hellstrom-Lindberg E., Santini V., Finelli C., Giagounidis A. et al. Efficacy of azacitidine compared with that of conventional care regimens in the treatment of higher-risk myelodysplastic syndromes: a randomised, open-label, phase III study. *Lancet Oncol.* 2009; 10(3): 223-32. DOI: 10.1016/S1470-2045(09)70003.
 16. Tria F.P. 4th, Ang D.C., Fan G. Myelodysplastic Syndrome: Diagnosis and Screening. *Diagnostics (Basel)*. 2022; 12(7): 1581. DOI: 10.3390/diagnostics12071581.
 17. Bento L.C., Correia R.P., Pitangueiras Manguieira C.L., De Souza Barroso R., Rocha F.A., Bacal N.S. et al. The Use of flow cytometry in myelodysplastic Syndromes: A Review. *Front Oncol.* 2017; 7: 270. DOI: 10.3389/fonc.2017.00270.
 18. Kennedy J.A., Ebert B.L. Clinical Implications of Genetic Mutations in Myelodysplastic Syndrome. *J. Clin. Oncol.* 2017; 35(9): 968-74. DOI: 10.1200/JCO.2016.71.0806.
 19. Kennedy A.L., Shimamura A. Genetic predisposition to MDS: clinical features and clonal evolution. *Blood*. 2019; 133(10): 1071-1085. DOI: 10.1182/blood-2018-10-844662.
 20. Navada S. C., Chatalbash A., Silverman L. R. Clinical significance of cytogenetic manifestations in myelodysplastic syndromes. *Laboratory Medicine*. 2013; 44(2): 103-7.
 21. Rosenberg C.A., Bill M., Rodrigues M.A., Hauerslev M., Kerndrup G.B., Hokland P. et al. Exploring dyserythropoiesis in patients with myelodysplastic syndrome by imaging flow cytometry and machine-learning assisted morphometrics. *Cytometry B Clin. Cytom.* 2021; 100(5): 554-67. DOI: 10.1002/cyto.b.21975.
 22. Liu C., Zou C., Zou S., Wang Q., Xiao D., Zhang L. Abnormal hemoglobin H band in myelodysplastic syndromes (MDS): A case report. *Transfus. Clin Biol.* 2021; 28(2): 206-10. DOI: 10.1016/j.tracbi.2020.10.009.
 23. Kipfer B., Daikeler T., Kuchen S., Hallal M., Andina N., Allam R. et al. Increased cardiovascular comorbidities in patients with myelodysplastic syndromes and chronic myelomonocytic leukemia presenting with systemic inflammatory and autoimmune manifestations. *Semin Hematol.* 2018; 55(4): 242-7. DOI: 10.1053/j.seminhematol.2018.05.002.
 24. Arinobu Y., Kashiwado Y., Miyawaki K., Ayano M., Kimoto Y., Mitoma H. et al. Autoimmune manifestations associated with myelodysplastic syndrome predict a poor prognosis. *Medicine (Baltimore)*. 2021; 100(13): e25406. DOI: 10.1097/MD.00000000000025406.
 25. Van der Weyden M.B., Harrison C., Hallam L., McVeigh D., Gan T.E., Taaffe L.M. Elevated red cell adenosine deaminase and haemolysis in a patient with a myelodysplastic syndrome. *Br. J. Haematol.* 1989; 73(1): 129-31. DOI: 10.1111/j.1365-2141.1989.tb00233.x.
 26. Cull A.H., Mahendru D., Snetsinger B., Good D., Tyrshkin K., Chesney A. et al. Overexpression of Arginase 1 is linked to DNMT3A and TET2 mutations in lower-grade myelodysplastic syndromes and chronic myelomonocytic leukemia. *Leuk. Res.* 2018; 65: 5-13. DOI: 10.1016/j.leukres.2017.12.003.
 27. Munder M. Arginase: an emerging key player in the mammalian immune system. *Br. J. Pharmacol.* 2009; 158(3): 638-51. DOI: 10.1111/j.1476-5381.2009.00291.x.
 28. Aul C., Gattermann N., Germing U., Winkelmann M., Heyll A., Runde V. et al. Serum deoxythymidine kinase in myelodysplastic syndromes. *Cancer*. 1994; 73(2): 322-7. DOI: 10.1002/1097-0142(19940115)73:2<322::aid-cncr2820730215>3.0.co;2-e.
 29. Reinhardt D., Haase D., Schoch C., Wollenweber S., Hinkelmann E., Heyden W. et al. Hemoglobin F in myelodysplastic syndrome. *Ann. Hematol.* 1998; 76(3-4): 135-8. DOI: 10.1007/s002770050377.
 30. Steensma D.P., Higgs D.R., Fisher C.A., Gibbons R.J. Acquired somatic ATRX mutations in myelodysplastic syndrome associated with alpha thalassemia (ATMDS) convey a more severe hematologic phenotype than germline ATRX mutations. *Blood*. 2004; 103(6): 2019-26. DOI: 10.1182/blood-2003-09-3360.
 31. Song L.L., Zheng Q.Q., Xiao C., Guo J., Wu D., Su J. Y. et al. *Zhonghua Xue Ye Xue Za Zhi*. 2016; 37(10): 903-7. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2016.10.018.
 32. Cui R., Gale R.P., Zhu G., Xu Z., Qin T., Zhang Y. et al. Serum iron metabolism and erythropoiesis in patients with myelodysplastic syndrome not receiving RBC transfusions. *Leuk. Res.* 2014; 38(5): 545-50. DOI: 10.1016/j.leukres.2014.01.016.
 33. Gattermann N., Rachmilewitz E.A. Iron overload in MDS-pathophysiology, diagnosis, and complications. *Ann. Hematol.* 2011; 90(1): 1-10. DOI: 10.1007/s00277-010-1091-1.
 34. Gu S., Song X., Zhao Y., Guo J., Fei C., Xu F. et al. The evaluation of iron overload through hepcidin level and its related factors in myelodysplastic syndromes. *Hematology*. 2013; 18(5): 286-94. DOI: 10.1179/1607845412Y.0000000064.
 35. Kim C.H., Leitch H.A. Iron overload-induced oxidative stress in myelodysplastic syndromes and its cellular sequelae. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* 2021; 163: 103367. DOI: 10.1016/j.critrevonc.2021.103367.
 36. Gonçalves A.C., Cortesão E., Oliveiros B., Alves V., Espadana A. I., Rito L. et al. Oxidative stress and mitochondrial dysfunction play a role in myelodysplastic syndrome development, diagnosis, and prognosis: A pilot study. *Free Radic Res.* 2015; 49(9): 1081-94. DOI: 10.3109/10715762.2015.1035268.
 37. Picou F., Vignon C., Debeissat C., Lachot S., Kosmider O., Gally N. et al. Bone marrow oxidative stress and specific antioxidant signatures in myelodysplastic syndromes. *Blood Adv.* 2019; 3(24): 4271-9. DOI: 10.1182/bloodadvances.2019000677.
 38. Srole D.N., Ganz T. Erythroferrone structure, function, and physiology: Iron homeostasis and beyond. *J Cell Physiol.* 2021; 236(7): 4888-4901. DOI:10.1002/jcp.30247.
 39. Bondu S., Alary A.S., Lefèvre C., Houy A., Jung G., Lefebvre T. et al. A variant erythroferrone disrupts iron homeostasis in *SF3B1*-mutated myelodysplastic syndrome. *Sci. Transl. Med.* 2019; 11(500): eaav5467. DOI: 10.1126/scitranslmed.aav5467.
 40. O'Toole D., Kennedy P., Quinn J., Murphy P.T. Is GDF15 beneficial to erythropoiesis in low grade myelodysplastic

- syndrome? *Leuk. Lymphoma*. 2015; 56(6): 1914-5. DOI: 10.3109/10428194.2014.977885.
41. Cui R., Gale R.P., Zhu G., Xu Z., Qin T., Zhang Y. et al. Serum iron metabolism and erythropoiesis in patients with myelodysplastic syndrome not receiving RBC transfusions. *Leuk. Res*. 2014; 38(5): 545-50. DOI: 10.1016/j.leukres.2014.01.016.
42. Riabov V., Mossner M., Stöhr A., Jann J. C., Streuer A., Schmitt N. et al. High erythroferrone expression in CD71+ erythroid progenitors predicts superior survival in myelodysplastic syndromes. *Br. J. Haematol*. 2021; 192(5): 879-91. DOI: 10.1111/bjh.17314.
43. Miura S., Kobune M., Horiguchi H., Kikuchi S., Iyama S., Murase K. et al. EPO-R+ myelodysplastic cells with ring sideroblasts produce high erythroferrone levels to reduce hepcidin expression in hepatic cells. *Blood Cells Mol. Dis*. 2019; 78: 1-8. DOI: 10.1016/j.bcmd.2019.04.014.
44. Murphy P.T., Quinn J.P., O'Donghaile D., Swords R., O'Donnell J.R. Myelodysplastic patients with raised percentage of hypochromic red cells have evidence of functional iron deficiency. *Ann. Hematol*. 2006; 85(7): 455-7. DOI: 10.1007/s00277-006-0107-3.
45. Yang W.C., Lin S.F., Wang S.C., Tsai W.C., Wu C.C., Wu S.C. The effects of human BDH2 on the cell cycle, differentiation, and apoptosis and associations with leukemia transformation in myelodysplastic syndrome. *Int. J. Mol. Sci*. 2020; 21(9): 3033. DOI: 10.3390/ijms21093033.
46. Liu Z., Lanford R., Mueller S., Gerhard G. S., Lusciati S., Sanchez M. et al. Siderophore-mediated iron trafficking in humans is regulated by iron. *J. Mol. Med. (Berl)*. 2012; 90(10): 1209-21. DOI: 10.1007/s00109-012-0899-7.
47. Tani K., Fujii H., Takahashi K., Kodo H., Asano S., Takaku F. et al. Erythrocyte enzyme activities in myelodysplastic syndromes: elevated pyruvate kinase activity. *Am. J. Hematol*. 1989; 30(2): 97-103. DOI: 10.1002/ajh.28303002DOI.
48. Lintula R. Red cell enzymes in myelodysplastic syndromes: a review. *Scand J Haematol Suppl*. 1986; 45: 56-9. DOI: 10.1111/j.1600-0609.1986.tb00844.x.
49. Johnson R.M., Panchoosingh H., Goyette G. Jr., Ravindranath Y. Increased erythrocyte deformability in fetal erythropoiesis and in erythrocytes deficient in glucose-6-phosphate dehydrogenase and other glycolytic enzymes. *Pediatr Res*. 1999; 45(1): 106-13. DOI: 10.1203/00006450-199901000-00018.
50. Wimazal F., Sperr W.R., Kundi M., Vales A., Fonatsch C., Thalhammer-Scherrer R. et al. Prognostic significance of serial determinations of lactate dehydrogenase (LDH) in the follow-up of patients with myelodysplastic syndromes. *Ann. Oncol*. 2008; 19(5): 970-6. DOI: 10.1093/annonc/mdm595.
51. Jin J., Hu C., Yu M., Chen F., Ye L., Yin X. et al. Prognostic value of isocitrate dehydrogenase mutations in myelodysplastic syndromes: a retrospective cohort study and meta-analysis. *PLoS One*. 2014; 9(6): e100206. DOI: 10.1371/journal.pone.0100206.
52. Gu Y., Yang R., Yang Y., Zhao Y., Wakeham A., Li W. Y. et al. IDH1 mutation contributes to myeloid dysplasia in mice by disturbing heme biosynthesis and erythropoiesis. *Blood*. 2021; 137(7): 945-58. DOI: 10.1182/blood.2020007075.
53. Patnaik M.M., Hanson C.A., Hodnefield J.M., Lasho T. L., Finke C. M., Knudson R. A. et al. Differential prognostic effect of IDH1 versus IDH2 mutations in myelodysplastic syndromes: a Mayo Clinic study of 277 patients. *Leukemia*. 2012; 26(1): 101-5. DOI: 10.1038/leu.2011.298.
54. Perona G., Guidi G.C., Tummarello D., Mareni C., Battistuzzi G., Luzzato L. A new glucose 6-phosphate dehydrogenase variant (G-6-PD Verona) in a patient with myelodysplastic syndrome. *Scand J Haematol*. 1983; 30(5): 407-14. DOI: 10.1111/j.1600-0609.1983.tb02526.x.
55. Muchi H., Yamamoto Y. Studies on mitochondrial and cytoplasmic malate dehydrogenase in childhood myelodysplastic syndrome. *Blood*. 1983; 62(4): 808-14.
56. Montes P., Guerra-Librero A., García P., Cornejo-Calvo M. E., López M. D. S., Haro T. et al. Effect of 5-Azacytidine Treatment on Redox Status and Inflammatory Condition in MDS Patients. *Antioxidants (Basel)*. 2022; 11(1): 139. DOI: 10.3390/antiox11010139.
57. Gabril'chak A.I., Khaliulin A.V., Selezneva I.A., Gusjakova O.A., Radomskaja V.M., Vasil'eva T.V. Method for assessing the metabolic activity of megakaryocytic bone marrow germ. Patent RF № 2672471; 2018. (in Russian)
58. Lin F. Y., Wu H. C., Cheng K. C., Tung C. L., Chang C. P., Feng Y. H. Adiponectin is down-regulated in bone marrow interstitial fluid in hematological malignancy. *Int. J. Hematol*. 2015; 102(3): 312-7. DOI: 10.1007/s12185-015-1831-z.
59. Krashin E., Ellis M., Cohen K., Viner M., Neumark E., Rashid G. et al. Chemical and thyroid hormone profile of the bone marrow interstitial fluid in hematologic disorders and patients without primary hematologic disorders. *Hematol Oncol*. 2018; 36(2): 445-50. DOI: 10.1002/hon.2493.
60. Iversen P. O., Wiig H. Tumor necrosis factor alpha and adiponectin in bone marrow interstitial fluid from patients with acute myeloid leukemia inhibit normal hematopoiesis. *Clin Cancer Res*. 2005; 11(19 Pt 1): 6793-9. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-05-1033.

КОАГУЛОЛОГИЯ

© ХАБИРОВА А.И., ЛИТВИНОВ Р.И., 2023

Хабирова А. И.¹, Литвинов Р. И.²

ВКЛАД СОКРАТИТЕЛЬНОЙ СПОСОБНОСТИ ТРОМБОЦИТОВ В ЛАБОРАТОРНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ, ХАРАКТЕРИЗУЮЩИЕ ФУНКЦИЮ ТРОМБОЦИТОВ

¹ Институт фундаментальной медицины и биологии Казанского (Приволжского) федерального университета, 420012, г. Казань, Россия;

² Отдел клеточной биологии Медицинского факультета Пенсильванского университета, Филадельфия, Пенсильвания, США

Тромбоциты играют ключевую роль в реакциях гемостаза. Исследования последних лет показали, что тромбоциты обладают сократительными свойствами и способны вызывать сжатие сгустков крови и тромбов не только in vitro, но и in vivo. Сокращение (контракция, ретракция) тромбоцитов имеет большое значение при кровотечениях и тромбозах. Для изучения функционального состояния тромбоцитов применяются различные методы лабораторного исследования, однако не известно, характеризуют ли они сократительные свойства тромбоцитов. Цель - определить вклад сократительной функции тромбоцитов в показатели тромбоэластографии (ТЭГ), анализа функции тромбоцитов на приборе PFA-200 и оптической агрегометрии.

Материал и методы. Исследовали 24 образца крови здоровых доноров. Для определения вклада сократительной функции тромбоцитов в показатели лабораторных тестов ингибировали сокращение тромбоцитов с помощью латрункулина и блебистатина, а также передачу сокращения на фибрин с помощью абциксимаба. Статистический анализ выполняли с применением тестов Стьюдента или Манна-Уитни.

Результаты. Ингибиторы контракции тромбоцитов достоверно подавляют только структурные параметры ТЭГ (K , α , MA), которые характеризуют эластические свойства формирующихся сгустков, тогда как хронометрический параметр R не меняется в присутствии тромбоцитарных ингибиторов. Ингибиторы контракции достоверно удлиняли время тромбоирования микроканалов, покрытых коллагеном, АДФ и эпинефрином, в анализаторе функции тромбоцитов PFA-200. Кинетика и степень агрегации тромбоцитов в присутствии латрункулина и блебистатина не отличались от контроля. Напротив, в присутствии абциксимаба степень агрегации и скорость агрегации предсказуемо снижались из-за ингибирования тромбоцитарного интегрина $\alpha IIb\beta 3$.

Выводы. Сократительная функция тромбоцитов, включающая участие актина, немышечного миозина IIA , а также интегрина $\alpha IIb\beta 3$ дает существенный вклад в параметры лабораторных методов, таких как тромбоэластография и анализ функции тромбоцитов на приборе PFA-200. Показатели оптической агрегации тромбоцитов не отражают сократительную функцию тромбоцитов.

Ключевые слова: тромбоциты; сократительная функция тромбоцитов; гемостаз; тромбоэластография; анализатор функции тромбоцитов PFA-200; агрегация тромбоцитов.

Для цитирования: Хабирова А. И., Литвинов Р. И. Вклад сократительной способности тромбоцитов в лабораторные показатели, характеризующие функцию тромбоцитов. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2023; 68 (9): 544-552
DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2023-68-9-544-552>

Для корреспонденции: Хабирова Алина Ильшатовна, мл. науч. сотр. Учебной научно-исследовательской лаборатории «Молодежный научно-образовательный инкубатор-регенератор»; e-mail: alina.urussu.95@gmail.com

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Работа выполнена при поддержке Программы стратегического академического лидерства Казанского (Приволжского) федерального университета (ПРИОРИТЕТ-2030).

Благодарности. Авторы выражают благодарность фирме ООО «Технология Стандарт» (Барнаул) за безвозмездно предоставленный реактив, каолин.

Поступила 04.06.2023

Принята к печати 06.07.2023

Опубликовано 08.09.2023

Khabirova A. I.¹, Litvinov R. I.²

CONTRIBUTION OF PLATELET CONTRACTILITY TO THE LABORATORY PARAMETERS THAT CHARACTERIZE PLATELET FUNCTION

¹Institute of Fundamental Medicine and Biology of Kazan (Volga Region) Federal University, Kazan, Russia;

²Department of Cell and Developmental Biology, University of Pennsylvania School of Medicine, Philadelphia, Pennsylvania, USA

Platelets play a key role in hemostasis and thrombosis. Recent studies have shown that platelets have contractile properties and are able to cause shrinkage of blood clots both in vitro and in vivo. Platelet contractility has a great pathophysiological significance in

bleeding and thrombosis. Various laboratory tests are used to study the functional state of platelets, but it is unknown whether they characterize the contractile properties of platelets. Aim. To determine the contribution of platelet contractility to the parameters of thromboelastography (TEG), analysis of platelet function using the PFA-200 analyzer, and optical aggregometry. Material and methods. 24 blood samples from healthy donors were studied. To determine contribution of the platelet contractile function to the laboratory parameters, platelet contractility was inhibited by latrunculin and blebbistatin as well as transmission of contraction to fibrin was inhibited by abciximab. Statistical analysis was performed using either Student's t-test or Mann-Whitney U test. Results. The inhibitors of platelet contractility suppressed significantly the structural parameters of TEG (K, α , MA), which characterize the elastic properties of forming clots. The chromometric parameter R did not change in the presence of the platelet inhibitors applied. The contraction inhibitors significantly prolonged the time for complete obstruction of the microchannels coated with collagen, ADP, and epinephrine in the platelet function analyzer (PFA-200). The kinetics and degree of platelet aggregation in the presence of latrunculin and blebbistatin did not differ from the untreated control samples. On the contrary, in the presence of abciximab the degree and rate of platelet aggregation decreased expectedly due to the inhibition of platelet integrin $\alpha IIb\beta 3$. Conclusions. The contractile function of platelets that involves actin, non-muscle myosin IIA, and the integrin $\alpha IIb\beta 3$ makes a substantial contribution to the parameters of thromboelastography and analysis of platelet function with the PFA-200 instrument. In contrast, the parameters of optical platelet aggregometry do not reflect platelet contractility.

Key words: platelets; platelet contractile function; hemostasis; thromboelastography; platelet function analyzer PFA-200; platelet aggregation.

For citation: Khabirova A. I., Litvinov R. I. Contribution of platelet contractility to the laboratory parameters that characterize platelet function. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2023; 68 (9): 544-552 (in Russ.). DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2023-68-9-544-552>

For correspondence: Khabirova A. I., Master of Biology, Junior Researcher, Educational Research Laboratory "Youth Scientific and Educational Incubator-Regenerator"; e-mail: alina.urussu.95@gmail.com

Information about authors:

Khabirova A. I., <https://orcid.org/0000-0002-7243-8832>;

Litvinov R. I., <https://orcid.org/0000-0003-0643-1496>.

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

Funding. This paper has been supported by the Kazan Federal University Strategic Academic Leadership Program (PRIORITY-2030).

Acknowledgements. The authors are grateful to the company Technology Standard LLC (Barnaul) for the free reagent, kaolin.

Received 04.06.2023

Accepted 06.07.2023

Published 08.09.2023

Введение. Тромбоциты – это форменные элементы крови, играющие ключевую роль в реакциях гемостаза и тромбоза [1]. Способность тромбоцитов образовывать гемостатические сгустки или обтурационные тромбы основана на способности к адгезии и агрегации в участке повреждения сосуда, секреции биоактивных веществ, а также прокоагулянтной активности мембраны [2, 3]. Исследования последних лет показали, что активированные тромбоциты обладают способностью к сокращению, или контракции, как *in vitro*, так и *in vivo*. Внутриклеточные силы, генерируемые актином и немышечным миозином IIA, передаются через интегрин $\alpha IIb\beta 3$ на фибрин, что приводит к сжатию сгустка крови [4]. Контракция (ретракция) сгустков крови и тромбов имеет большое патофизиологическое значение при кровотечениях и тромбозах [5].

Для изучения функционального состояния тромбоцитов применяются различные методы лабораторного исследования [6-11], однако, не известно, в какой степени они характеризуют сократительные свойства тромбоцитов. Целью исследования было определение вклада сократительной функции тромбоцитов в интегральные показатели функции тромбоцитов, изучаемой с помощью тромбозластографии (ТЭГ), анализа функции тромбоцитов на приборе PFA-200 и оптической агрегометрии. Для этого указанные тесты проводились в отсутствие и в присутствии ингибиторов сократительной функции тромбоцитов (блебистатина

и латрункулина A), а также ингибитора рецептора $\alpha IIb\beta 3$, абциксимаба (Reorgo®), предотвращающего механотрансдукцию и сжатие сгустка крови.

Материал и методы. Получение цельной крови и плазмы. Использовали образцы венозной крови здоровых доноров старше 18 лет при условии исключения приема ими препаратов, влияющих на свертывание крови и тромбоциты, как минимум за 2 недели до исследования. Работа с образцами крови здоровых доноров одобрена этическим комитетом Казанского (Приволжского) федерального университета (выписка из протокола №27 от 28.12.2020) и проводилась при наличии их письменного согласия. Кровь для исследований получали путем венепункции и стабилизировали, смешивая с 3,8% цитрата натрия в соотношении 9:1 по объему в вакутейнерах Vacuette (Greiner-Bio-One, Австрия). Кровь хранили и обрабатывали при комнатной температуре и использовали не позднее 4-х часов после взятия. Для получения плазмы, богатой тромбоцитами, цитратную кровь центрифугировали при 200g в течение 10 минут.

Тромбозластография. Тромбозластографию выполняли на приборе TEG® 5000 (Haemoscore, США). 350 мкл цельной крови или плазмы, богатой тромбоцитами, инкубировали с 15 мкл суспензии каолина (Технология Стандарт, Россия) в конечной концентрации 0,01 мг/мл при комнатной температуре в течение 2-х минут. Активированный каолином образец (340 мкл) переносили в измерительную кювету

тромбоэластографа, куда предварительно вносили 20 мкл 360 мМ CaCl₂ до конечной концентрации 20 мМ. В ряде опытов после каолина в кювету вносили следующие ингибиторы функции тромбоцитов: латрункулин (Absam, Великобритания) в конечных концентрациях 1 мкМ и 5 мкМ; блебистатин (Sigma Aldrich, США) в конечных концентрациях 20 мкМ и 50 мкМ и абциксимаб (ReoPro®, Eli Lilly, США) в конечных концентрациях 5 мкг/мл и 10 мкг/мл. Каждый образец инкубировали при 37°C в течение 3-х минут. По форме тромбоэластограммы (ТЭГ) (рис. 1) автоматически определяются следующие параметры: *R* - время реакции (время от инициации свертывания хлоридом кальция до начала образования фибрина и расхождения «усов» ТЭГ до 2 мм), *K* – время увеличения амплитуды ТЭГ с 2 мм до 20 мм (характеристика начальной скорости полимеризации фибрина); α° – угол наклона ТЭГ, характеризующий скорость образования сгустка (по значению аналогичен *K*); *MA* - максимальная амплитуда, которая отражает максимальную упругость (эластичность) сгустка [12].

Анализ функции тромбоцитов на приборе PFA-200. PFA (platelet function analyzer) – серийно выпускаемый прибор фирмы Siemens (Германия), предназначенный для выявления дисфункции тромбоцитов в цельной крови. Принцип действия PFA - моделирование процесса закупорки поврежденного сосуда под действием «тромбоцитарной пробки», имитирующей первичный (тромбоцитарный) гемостаз. Аналогом поврежденного сосуда служит микроканал, покрытый коллагеном и агонистами, которые активируют тромбоциты в образце крови, протекающем через канал внутри картриджа [7]. Оценку функции тромбоцитов выполняли на приборе INNOVANCE® PFA-200 (Siemens, Германия) согласно инструкции производителя с использованием картриджей, покрытых коллагеном и АДФ (Coll/ADP) или коллагеном и эпинефрином (Coll/EPI). Для этого в картриджи вносили 800 мкл цельной цитратной крови, содержащей и не содержащей ингибиторы функции тромбоцитов (концентрации указаны в табл. 2). Заполненные картриджи помещали в прибор. После инкубации образца при 37°C в течение 3-х минут запускали ток крови сквозь микроканал картриджа. Прибор автоматически фиксирует время, необходимое для остановки кровотока в результате закупорки канала тромбоцитарными агрегатами.

Оптическая агрегометрия тромбоцитов. Агрегационную активность тромбоцитов оценивали с помощью оптического агрегометра Biola 220LA (Россия), в котором агрегация тромбоцитов регистрируется как увеличение светопропускания суспензии тромбоцитов. В кювете агрегометра к 300 мкл плазмы, богатой тромбоцитами, добавляли индуктор агрегации – пептид TRAP-6 (Sigma-Aldrich, США) в конечной концентрации 50 мкМ и измеряли нарастающую прозрачность плазмы. Прибор регистрирует увеличение светопропускания в течение 5 минут после добавления индуктора агрегации тромбоцитов в виде кривой (агрегатограммы) (рис. 2). Параметры агрегации тромбоцитов, рассчитываемые автоматиче-

чески, это степень агрегации (в %) и скорость агрегации (в %/мин.). В основных опытах в плазму вводили те же ингибиторы функции тромбоцитов и в тех же концентрациях, что указаны для ТЭГ. После введения тромбоцитарных ингибиторов образцы плазмы инкубировали 3 минуты при 37°C перед добавлением индуктора агрегации и записи агрегатограммы.

Статистический анализ. Статистический анализ выполняли с использованием программного пакета GraphPad Prism 8.0.1. Оценку нормальности распределения данных производили с помощью критериев Колмогорова–Смирнова и Шапиро–Уилка. Достоверность различий оценивали с помощью параметрического теста Стьюдента или непараметрического теста Манна-Уитни. Уровень статистической значимости 95% ($p < 0,05$).

Результаты. Влияние ингибиторов контракции сгустков крови на параметры ТЭГ в цельной крови. Чтобы определить, отражают ли параметры ТЭГ сократительную функцию тромбоцитов и, если да, то в какой степени, тромбоэластография цельной крови была проведена в отсутствие и в присутствии ингибиторов контракции тромбоцитов. Численные результаты представлены в табл. 1, А и показаны на рис. 1. При добавлении латрункулина наблюдалось дозозависимое удлинение времени реакции *K* ($p = 0,001$) и уменьшение угла α ($p = 0,004$) по сравнению с контролем с ДМСО. Максимальная амплитуда (*MA*) в присутствии латрункулина также уменьшалась дозозависимым образом ($p < 0,0001$). Аналогично, блебистатин вызывал дозозависимое удлинение времени *K* ($p = 0,002$) и угла α ($p = 0,02$) по сравнению с контролем с ДМСО. Максимальная амплитуда (*MA*) уменьшалась в среднем на 31% при концентрации блебистатина 20 мкМ и на 49% при концентрации 50 мкМ ($p < 0,0001$). Однако, наибольшее влияние на параметры ТЭГ оказывал абциксимаб. Время *K* при концентрациях абциксимаба 5 мкг/мл и 10 мкг/мл в среднем удлинялось в 3,5 и 5 раз ($p < 0,0001$), угол наклона кривой α уменьшался на 47% в обоих случаях ($p = 0,001$), а максимальная амплитуда (*MA*) уменьшалась на 66% и 67% ($p < 0,0001$), соответственно.

Важно отметить, что ингибиторы контракции тромбоцитов достоверно подавляли только структурные параметры ТЭГ (*K*, α , *MA*), которые характеризуют эластические свойства формирующихся сгустков, тогда как хронометрический параметр *R* (время от активации свертывания крови до начала полимеризации фибрина) не менялся в присутствии тромбоцитарных ингибиторов (см. табл. 1).

Влияние ингибиторов контракции сгустков крови на параметры ТЭГ в богатой тромбоцитами плазме. Поскольку эритроциты существенно влияют и на показатели ТЭГ, и на контракцию сгустков крови, были изучены эффекты ингибиторов функции тромбоцитов на параметры ТЭГ в богатой тромбоцитами плазме, не содержащей эритроцитов.

При добавлении к плазме латрункулина в концентрациях 1 мкМ и 5 мкМ максимальная амплитуда (*MA*) уменьшалась дозозависимым образом в среднем на 1% и 26% ($p = 0,001$), как и угол наклона α , который

достоверно уменьшался на 1% и 12% ($p=0,03$), соответственно (табл. 1, Б). Эффект блебистатина был аналогичным: в присутствии 20 мкМ и 50 мкМ блебистатина средняя максимальная амплитуда (МА) уменьшалась на 19% и 40%, соответственно ($p=0,001$; $p<0,0001$). Угол наклона α , хотя и имел тенденцию к уменьшению, не достигал достоверных отличий по сравнению с контролем с ДМСО ($p=0,4$; $p=0,3$). Эффекты абциксимаба в плазме, богатой тромбоцитами, были наиболее выраженными по сравнению с другими ингибиторами контракции. При добавлении абциксимаба в концентрациях 5 мкг/мл и 10 мкг/мл средние значения максимальной амплитуды (МА) уменьшались на 44% и 47% соответственно ($p<0,0001$; $p=0,001$); угол наклона α уменьшался в среднем, соответственно, на 13% ($p=0,01$) и 16% ($p=0,02$).

Как и в цельной крови, в богатой тромбоцитами

плазме время до начала образования сгустка (параметр R) не изменялось в присутствии исследованных ингибиторов. Параметр K в плазме, богатой тромбоцитами, достоверно удлинялся только в присутствии абциксимаба в максимальной концентрации ($p=0,03$), в случае с другими ингибиторами не менялся, тогда как в цельной крови подавление контракции тромбоцитов приводило к его достоверному увеличению (табл. 1).

Таким образом, все изученные ингибиторы контракции сгустков крови вызывали уменьшение максимальной амплитуды (МА) и угла наклона кривой α , как в цельной крови, так и в плазме, богатой тромбоцитами. В ответ на подавление контракции сгустков параметр K удлинялся только в цельной крови. Время свертывания (параметр R) было вовсе не чувствительно к действию ингибиторов контракции тромбоцитов ни в цельной крови, ни в богатой тромбоцитами плазме.

Таблица 1

Параметры ТЭГ до и после добавления ингибиторов функции тромбоцитов

Экспериментальные условия		Параметры ТЭГ			
		R (мин)	K (мин)	Угол α (°)	МА (мм)
(А) Цельная кровь					
Контроль без ДМСО	($n=7$)	5,3±1,9	2,7±1,1	56,2±10,5	60,0±5,1
Контроль с ДМСО	($n=7$)	4,7±1,2	2,1±0,5	61,6±6,7	61,0±4,5
Латрункулин	1 мкМ ($n=7$)	4,8±1,1	2,4±0,8	59,1±8,6	57,5±5,1
	5 мкМ ($n=6$)	4,8±1,8	8,2±6,5**	39,1±14,5*	35,2±8,5***
Блебистатин	20 мкМ ($n=7$)	4,3±1,2	3,0±1,1	53,9±9,4	41,7±5,3***
	50 мкМ ($n=7$)	4,3±1,2	4,0±1,6*	50,2±8,5*	31,0±4,0***
Абциксимаб	5 мкг/мл ($n=6$)	5,7±2,2	9,4±3,0**	29,7±10,8**	20,4±4,4***
	10 мкг/мл ($n=6$)	5,6±1,8	12,8±2,6***	29,7±9,1**	19,6±3,8***
(Б) Плазма, богатая тромбоцитами					
Контроль без ДМСО	($n=7$)	4,7±1,4	0,9±0,2	79,8±4,4	74,8±4,7
Контроль с ДМСО	($n=7$)	4,2±1,1	0,9±0,2	79,0±4,7	74,1±4,8
Латрункулин	1 мкМ ($n=7$)	4,5±1,2	0,9±0,3	78,1±4,9	73,1±3,4
	5 мкМ ($n=6$)	4,6±1,1	1,4±0,6	69,5±8,9*	54,6±11,1**
Блебистатин	20 мкМ ($n=7$)	4,6±1,7	1,0±0,4	76,2±6,8	59,7±7,0**
	50 мкМ ($n=7$)	4,5±1,5	1,0±0,3	75,7±6,1	44,6±5,5***
Абциксимаб	5 мкг/мл ($n=6$)	5,3±1,9	1,7±0,8	69,1±9,7*	41,8±8,5***
	10 мкг/мл ($n=6$)	4,8±1,7	1,8±1,0*	66,6±12,7*	39,9±8,9**

Примечание. Результаты представлены как среднее ± стандартное отклонение. Тест Стьюдента или Манна-Уитни; * - $p<0,05$; ** - $p<0,001$; *** - $p<0,0001$ по сравнению с контролем с добавлением (латрункулин и блебистатин) или без добавления ДМСО (абциксимаб); остальные показатели статистически не отличаются от контроля ($p>0,05$).

n – число исследованных образцов крови, полученных от независимых доноров.

Влияние тромбоцитарных ингибиторов на время закупорки микроканала в анализаторе функции тромбоцитов PFA-200. Чтобы определить влияние контрактной функции тромбоцитов на время закупорки микроканала тромбоцитарными агрегатами, цельную цитратную кровь пропускали через картриджи, покрытые коллагеном и АДФ или коллагеном и эпинефрином в отсутствие и в присутствии ингибиторов контракции сгустков крови: латрункулина, блебистатина, а также абциксимаба. Поскольку результаты не зависели от покрытия картриджей и от концентрации ингибиторов, они объединены в табл. 2. Время закупорки канала в картриджах в присутствии

латрункулина достоверно удлинялось по сравнению с контролем почти в 1,5 раза ($p=0,007$) (см. табл. 2). В присутствии блебистатина время закупорки канала в абсолютных значениях имело тенденцию к увеличению, но не достигало достоверности ($p=0,15$) ввиду разброса данных, в то время как относительные цифры показали достоверное увеличение среднего времени закупорки канала по сравнению с контролем в 1,3 раза ($p=0,02$) (табл. 2). Абциксимаб также достоверно удлинял среднее время закрытия канала в картриджах, как в абсолютных ($p=0,002$), так и в относительных единицах ($p=0,0008$), почти в 2 раза по сравнению с контролем (табл. 2).

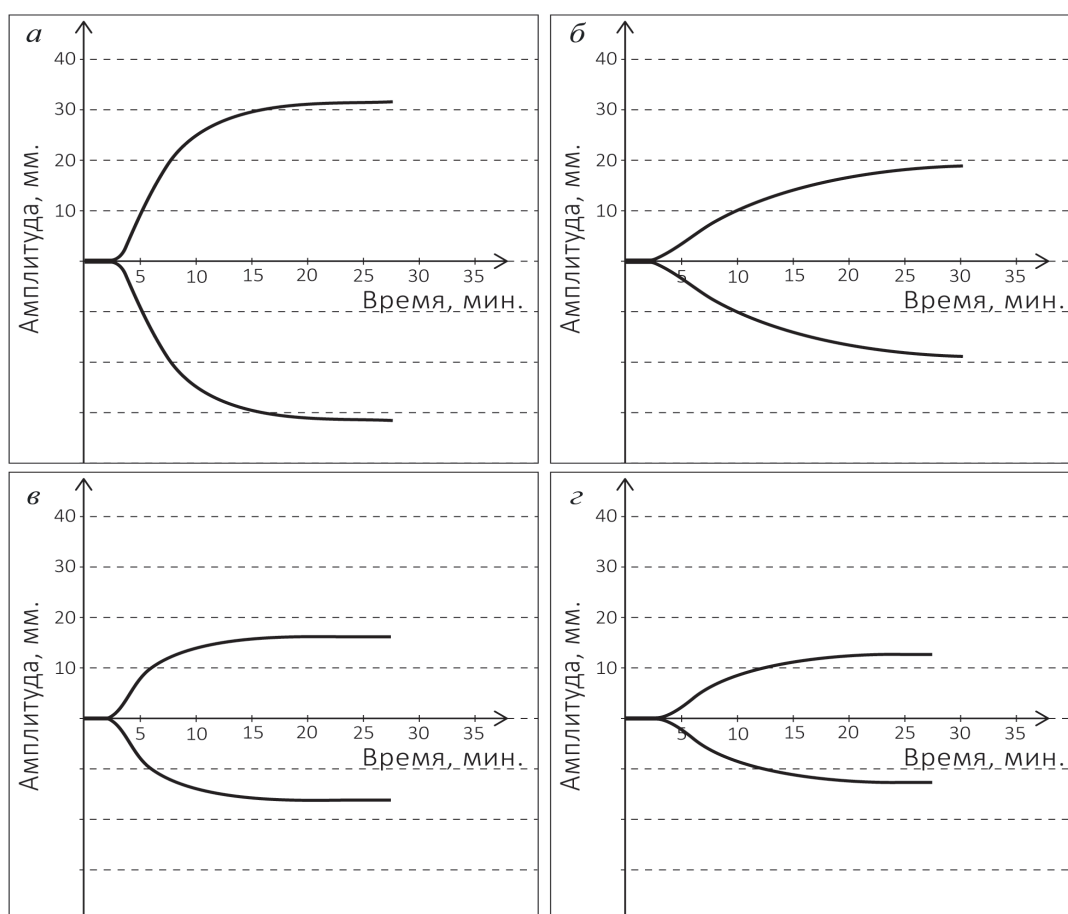


Рис. 1. Характерные кривые ТЭГ цельной крови в отсутствие (а) и в присутствии ингибиторов функции тромбоцитов: 5 мкМ латрункулина (б), 50 мкМ блебистатина (в) и 10 мкг/мл абциксімаба (г). Сравнительные ТЭГ плазмы, богатой тромбоцитами, выглядят аналогично.

Таблица 2

Влияние ингибиторов контракции тромбоцитов на время закрытия микроканалов, покрытых коллагеном, АДФ и эпинефрином, в анализаторе функции тромбоцитов PFA-200

Контроль (n=12)	Латрункулин (1 или 2 мкМ) (n=12)	Контроль (n=9)	Блебистатин (20 или 80 мкМ) (n=9)	Контроль (n=9)	Абциксімаб (0,1 или 1 мкг/мл) (n=9)
(А) Абсолютные результаты (с)					
117±29	168±51	120±31	144±36	127±27	224±79
$p=0,007^*$		$p=0,15$		$p=0,002^*$	
(Б) Относительные результаты, нормализованные по контролю					
1	1,45±0,39	1	1,30±0,32	1	1,78±0,56
$p=0,0006^{**}$		$p=0,02^*$		$p=0,0008^{**}$	

Примечание. Результаты представлены как среднее ± стандартное отклонение. Тест Стьюдента или Манна-Уитни. n – число исследованных образцов крови, полученных от независимых доноров.

Агрегация тромбоцитов в присутствии ингибиторов контракции. Чтобы определить влияние сократительной функции тромбоцитов на скорость и полноту их агрегации, была изучена оптическая агрегация тромбоцитов, индуцированная тромбоино-подобным пептидом TRAP-6 в плазме, в отсутствие и в присутствии ингибиторов контракции. Результа-

ты, представленные на рис. 2 и в табл. 3, показывают, что средняя степень агрегации тромбоцитов в присутствии латрункулина и блебистатина не отличалась от контроля. Напротив, в присутствии абциксімаба в концентрациях 5 мкг/мл и 10 мкг/мл средняя степень агрегации снижалась примерно в 2 раза и 5 раз ($p=0,0002$; $p<0,0001$), соответственно. Ни латрунку-

лин, ни блебистатин не влияли на скорость агрегации, тогда как при добавлении абциксимаба средняя ско-

рость агрегации достоверно уменьшалась с увеличением концентрации ($p=0,0005$).

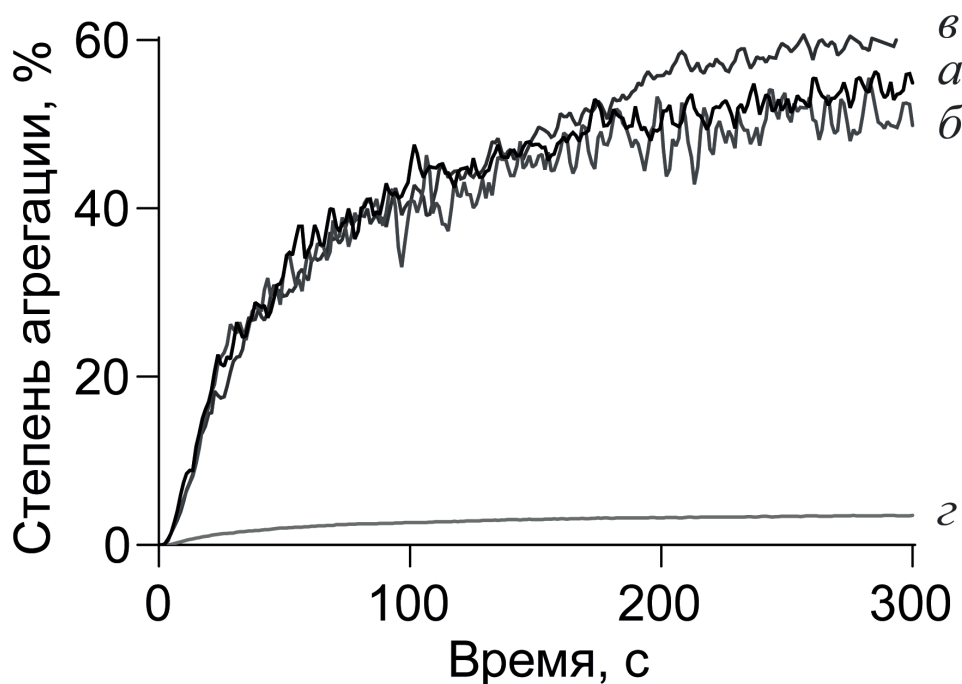


Рис. 2. Характерные индивидуальные оптические агрегограммы тромбоцитов в отсутствие (а) и в присутствии ингибиторов функции тромбоцитов: 5 мкМ латрункулина (б), 50 мкМ блебистатина (в) и 10 мкг/мл абциксимаба (г).

Таблица 3

Параметры агрегации тромбоцитов при добавлении ингибиторов контрактильной функции тромбоцитов

Параметры	Контроль (n=12)	Латрункулин (1 мкМ) (n=7)	Латрункулин (5 мкМ) (n=7)	Блебистатин (20 мкМ) (n=7)	Блебистатин (50 мкМ) (n=7)	Абциксимаб (5 мкг/мл) (n=8)	Абциксимаб (10 мкг/мл) (n=8)
Степень агрегации, %	62±7	62±6	62±8	60±12	64±11	34±18**	13±7***
Скорость агрегации, %/мин	8,0±3,6	7,3±1,9	7,5±2,8	6,9±2,2	6,5±3,6	8,0±5,8	2,3±1,5**

Примечание. Результаты представлены как среднее ± стандартное отклонение. Тест Стьюдента или Манна-Уитни. ** - $p<0,001$; *** - $p<0,0001$ по сравнению с контролем; остальные показатели статистически не отличаются от контроля ($p>0,05$). n – число исследованных образцов крови, полученных от независимых доноров.

Обсуждение. Известно, что сократительная функция тромбоцитов играет критически важную роль в контракции сгустков крови. Движущая сила этого процесса – сокращение актомиозинового комплекса внутри активированных тромбоцитов с формированием механической силы, которая передается на весь сгусток крови через молекулы интегрина $\alpha IIb\beta 3$, взаимодействующие с волокнами фибрина [5]. Контракция (ретракция, сжатие) сгустков происходит не только *in vitro*, но и *in vivo* как патофизиологический процесс, который или улучшает гемостаз, сближая края раны, предотвращая кровотечение и инфициро-

вание раны. При тромбозе контракция тромба увеличивает просвет сосуда, уменьшая степень его закупорки и восстанавливая локальный кровоток [13]. Кроме того, контракция предотвращает тромбоэмболию, уплотняя тромб и увеличивая его механическую стабильность [14, 15], а также изменяет восприимчивость сжатых сгустков к естественному фибринолизу и тромболитической терапии [16].

Для количественной оценки контракции сгустков крови существуют различные методы. Большинство основано на измерении конечного размера сжатого сгустка; они просты в использовании, однако, их

недостатками являются неточность измерений и отсутствие данных о кинетике процесса контракции [17]. Другие методы основаны на измерении силы сокращения, которую генерируют тромбоциты; для этого используются различные ретрактометры. Сравнительно недавно разработан метод автоматического и непрерывного определения размера сгустка в процессе его сжатия на основе оптического регистратора тромбодинамики («ГемаКор», Россия) [18]. На показатели контракции сгустков крови, независимо от метода ее изучения, могут влиять число тромбоцитов и эритроцитов, концентрация фибриногена, дефекты свертывания крови и другие природные и экспериментальные факторы [18 - 20].

Лабораторные исследования функции тромбоцитов проводятся в самых разных клинических случаях, когда есть основания предполагать дисфункцию тромбоцитов как причину геморрагического диатеза или, когда надо оценить эффективность применения антитромбоцитарных препаратов. Для этих целей разработаны различные методы и устройства, которые основаны на оценке различных функций тромбоцитов [10, 21]. Интегральные методы изучения тромбоцитов для клиники характеризуются быстротой, простотой и доступностью. Важнейшей особенностью интегральных методов является то, что они оценивают функцию тромбоцитов в условиях, близких к физиологическим, с участием других компонентов крови и плазмы, которые также участвуют в гемостазе. К сожалению, ни один из клинико-лабораторных методов изучения тромбоцитов не был проанализирован с точки зрения информации о сократительной функции тромбоцитов и ее вкладе в определяемые параметры.

Для определения вклада сократительной функции тромбоцитов в лабораторные тесты ТЭГ, анализа функции тромбоцитов на приборе PFA-200 и оптической агрегометрии, мы ингибировали эту функцию при помощи латрункулина, блебистатина и абциксимаба, которые действуют на разные стадии процесса генерации сократительной силы и ее передачи на внеклеточный матрикс, т.е. механотрансдукции.

Тромбоэластография визуализирует изменения упругости сгустка, происходящие в процессе свертывания крови, описывает процесс с помощью структурных (MA и угол α) и хронометрических (K и R) параметров [22, 23]. Полученные результаты показали, что и в цельной крови, и плазме, богатой тромбоцитами, структурные параметры ТЭГ в значительной степени отражают сократительную функцию тромбоцитов. При этом в отличие от характеристики вязкоэластических свойств сгустка, зависящих от контракции, время от инициации свертывания крови до момента образования тромбина и появления первых волокон фибрина не зависит от сократительной функции тромбоцитов и не отражает ее состояние. В пользу решающей роли тромбоцитов в определении структурных параметров ТЭГ свидетельствует значительная разница в прочности сгустка (MA) при сопоставлении богатой тромбоцитами плазмы и плазмы без тромбоцитов с добавлением каолин-кефалина [24] при отсутствии разницы в генерации тромбина [25].

Принцип действия анализатора функции тромбоцитов (PFA-200) — это моделирование процесса закупорки поврежденного сосуда в виде искусственного микроканала, стенки которого покрыты коллагеном и АДФ или эpineфрином [7, 26]. Тромбоциты участвуют в этом процессе прежде всего благодаря способности к адгезии и агрегации [27]. В наших опытах установлено, что время закупорки микроканала существенно зависит от сократительных свойств тромбоцитов, поскольку и латрункулин и блебистатин значительно удлиняли время obturации. Эти эффекты имеют как минимум два важных следствия. Во-первых, они указывают на информативность PFA-200 как метода, характеризующего, наряду с другими свойствами, сократительную функцию тромбоцитов. Во-вторых, удлинение времени закупорки канала под действием ингибиторов контракции косвенно подтверждает важность контракции тромбоцитов и сжатия сгустков крови в гемостазе. Время закрытия микроканала удлинялось также при воздействии абциксимаба, антагониста интегрин $\alpha IIb\beta 3$, однако его эффект может быть связан, как с нарушением механотрансдукции, так и с подавлением агрегации тромбоцитов.

Оптическая агрегометрия тромбоцитов, разработанная G.V.R. Vorn [28], до сих пор является золотым стандартом для оценки агрегационной функции тромбоцитов. Анализ основан на измерении увеличения светопропускания через образец плазмы богатой тромбоцитами после добавления экзогенного агониста [9, 29]. В нашем исследовании селективные ингибиторы контракции тромбоцитов, латрункулин и блебистатин, не влияли на параметры агрегации тромбоцитов, тогда как абциксимаб предсказуемо снижал и степень, и скорость агрегации, т. к. ингибировал связывание рецептора $\alpha IIb\beta 3$ на тромбоцитах с фибриногеном. Полученные результаты позволяют заключить, что агрегограмма и ее параметры не отражают сократительную функцию тромбоцитов и что агрегация тромбоцитов, по крайней мере, *in vitro*, протекает без участия сократительного аппарата тромбоцитов.

Заключение. Таким образом, сократительная функция тромбоцитов, включающая участие актина, немышечного миозина IIА, а также интегрин $\alpha IIb\beta 3$ вносит существенный вклад в параметры лабораторных методов, таких как тромбоэластография и анализ функции тромбоцитов на приборе PFA-200. В отличие от этих методов, показатели оптической агрегации тромбоцитов не отражают сократительную функцию тромбоцитов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Michelson A.D., Cattaneo M., Frelinger A., Newman P. Platelets. Cambridge: Elsevier Academic press; 2019. ISBN: 9780128134566.
2. Twomey L., Wallace R.G., Cummins P.M., Degryse B., Sheridan S., Harrison M. et al. Platelets: from formation to function. In: Castanho F.L., Ganes S.D.A., eds. Homeostasis-An Integrated Vision. London: IntechOpen; 2019:71-92. ISBN: 978-1-78985-078-9.
3. Scridon A. Platelets and Their Role in Hemostasis and Thrombosis. Physiology to Pathophysiology and Therapeutic Implications.

- International Journal of Molecular Sciences*. 2022; 23(21):12772. DOI: 10.3390/ijms232112772.
4. Litvinov R.I., Weisel J.W. Blood clot contraction: Mechanisms, pathophysiology, and disease. *Research and Practice in Thrombosis and Haemostasis*. 2023; 7(1):100023. DOI: 10.1016/j.rpth.2022.100023.
 5. Petrich B.G., Fogelstrand P., Partridge A.W., Yousefi N., Ablooglu A.J., Shattil S.J. et al. The antithrombotic potential of selective blockade of talin-dependent integrin $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$ (platelet GPIIb-IIIa) activation. *The Journal of Clinical Investigation*. 2007; 117(8):2250-9. DOI: 10.1172/JCI131024.
 6. Harrison P. Platelet function analysis. *Blood Reviews*. 2005; 19(2):111-23. DOI: 10.1016/j.blre.2004.05.002.
 7. Rechner A.R. Platelet function testing in clinical diagnostics. *Hämostaseologie*. 2011; 31(02):79-87. DOI: 10.5482/ha-1133.
 8. Tyagi T., Jain K., Gu S.X., Qiu M., Gu V.W., Melchinger H. et al. A guide to molecular and functional investigations of platelets to bridge basic and clinical sciences. *Nature Cardiovascular Research*. 2022; 1(3):223-7. DOI: 10.1038/s44161-022-00021-z.
 9. Choi J.L., Li S., Han J.Y. Platelet function tests: a review of progresses in clinical application. *BioMed Research International*. 2014; 2014(3):456569. DOI: 10.1155/2014/456569.
 10. Paniccia R., Priora R., Alessandrello Liotta A., Abbate R. Platelet function tests: a comparative review. *Vascular Health and Risk Management*. 2015; 11:133-48. DOI: 10.2147/VHRM.S44469.
 11. Luddington R.J. Thrombelastography/thromboelastometry. *Clinical and Laboratory Haematology*. 2005; 27(2):81-90. DOI: 10.1111/j.1365-2257.2005.00681.x.
 12. Bose E., Hravnak M. Thromboelastography: a practice summary for nurse practitioners treating hemorrhage. *The Journal for Nurse Practitioners*. 2015; 11(7):702-9. DOI: 10.1016/j.nurpra.2015.05.006.
 13. Tutwiler V., Peshkova A.D., Andrianova I.A., Khasanova D.R., Weisel J.W., Litvinov R. I. Contraction of blood clots is impaired in acute ischemic stroke. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 2017; 37(2):271-9. DOI: 10.1161/ATVBAHA.116.308622.
 14. Peshkova A.D., Malyasyov D.V., Bredikhin R.A., Le Minh G., Andrianova I.A., Tutwiler V. et al. Reduced contraction of blood clots in venous thromboembolism is a potential thrombogenic and embologenic mechanism. *TH Open*. 2018; 2(01):e104-e115. DOI: 10.1055/s-0038-1635572.
 15. Evtugina N.G., Peshkova A.D., Pichugin A.A., Weisel J.W., Litvinov R.I. Impaired contraction of blood clots precedes and predicts postoperative venous thromboembolism. *Scientific Reports*. 2020; 10(1):1-11. DOI: 10.1038/s41598-020-75234-y.
 16. Tutwiler V., Peshkova A.D., Le Minh G., Zaitsev S., Litvinov R.I., Cines D.B. et al. Blood clot contraction differentially modulates internal and external fibrinolysis. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 2019; 17(2):361-70. DOI: 10.1111/jth.14370.
 17. Литвинов Р.И., Пешкова А.Д. Контракция (ретракция) сгустков крови и тромбов: патогенетическое и клиническое значение. *Альманах клинической медицины*. 2018; 46(7):662-71. DOI: 10.18786/2072-0505-2018-46-7-662-671.
 18. Tutwiler V., Litvinov R.I., Lozhkin A.P., Peshkova A.D., Lebedeva T., Ataullakhanov F.I. et al. Kinetics and mechanics of clot contraction are governed by the molecular and cellular composition of the blood. *Blood*. 2016; 127(1):149-59. DOI: 10.1182/blood-2015-05-647560.
 19. Litvinov R.I., Evtugina N.G., Peshkova A.D., Safullina S.I., Andrianova I.A., Khabirova A.I. et al. Altered platelet and coagulation function in moderate-to-severe COVID-19. *Scientific Reports*. 2021; 11(1):16290. DOI: 10.1038/s41598-021-95397-6.
 20. Jansen E.E., Hartmann M. Clot retraction: cellular mechanisms and inhibitors, measuring methods, and clinical implications. *Biomedicine*. 2021; 9(8):1064. DOI: 10.3390/biomedicine9081064.
 21. Kehrel B.E., Brodde M.F. State of the art in platelet function testing. *Transfusion Medicine and Hemotherapy*, 2013; 40(2):73-86. DOI: 10.1159/000350469.
 22. Reikvam H., Steien E., Hauge B., Liseth K., Hagen K.G., Størkson R. et al. Thrombelastography. *Transfusion and Apheresis Science*. 2009; 40(2):119-23. DOI: 10.1016/j.transci.2009.01.019.
 23. Hartmann J., Murphy M., Dias J.D. Viscoelastic hemostatic assays: moving from the laboratory to the site of care — a review of established and emerging technologies. *Diagnostics*. 2020; 10(2):118. DOI: 10.3390/diagnostics10020118.
 24. Lang T., Toller W., Gütl M., Mahla E., Metzler H., Rehak P. et al. Different effects of abciximab and cytochalasin D on clot strength in thrombelastography. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 2004; 2(1):147-53. DOI: 10.1111/j.1538-7836.2004.00555.x.
 25. Liebrecht L.K., Newton J., Martin E.J., Wickramaratne N., Jayaraman S., Han J. et al. Effects of a novel low volume resuscitation solutions on coagulation and platelet function. *PLoS One*. 2019; 14(5):e0215386. DOI: 10.1371/journal.pone.0215386.
 26. Ушакова О.Е., Нечипуренко Д.Ю., Бутылин А.А., Пантелеев М.А. Применение проточных систем в лабораторной диагностике для интегральной оценки системы гемостаза. *Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии*. 2018; 17(1):117-29. DOI: 10.24287/1726-1708-2018-17-1-117-129.
 27. Favaloro E.J. Utility of the PFA-100® for assessing bleeding disorders and monitoring therapy: a review of analytical variables, benefits and limitations. *Haemophilia*. 2001; 7(2):170-9. DOI: 10.1046/j.1365-2516.2001.00486.x.
 28. Born G.V.R. Aggregation of blood platelets by adenosine diphosphate and its reversal. *Nature*. 1962; 194:927-9. DOI: 10.1038/194927b0.
 29. Koltai K., Kesmarky G., Feher G., Tibold A., Toth K. Platelet aggregometry testing: molecular mechanisms, techniques and clinical implications. *International Journal of Molecular Sciences*. 2017; 18(8):1803. DOI: 10.3390/ijms18081803.

REFERENCES

1. Michelson A.D., Cattaneo M., Frelinger A., Newman P. Platelets. Cambridge: Elsevier Academic press; 2019. ISBN: 9780128134566.
2. Twomey L., Wallace R.G., Cummins P.M., Degryse B., Sheridan S., Harrison M. et al. Platelets: from formation to function. In: Castanho F.L., Ganes S.D.A. eds. Homeostasis-An Integrated Vision. London: IntechOpen; 2019:71-92. ISBN: 978-1-78985-078-9.
3. Scridon A. Platelets and Their Role in Hemostasis and Thrombosis. Physiology to Pathophysiology and Therapeutic Implications. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022; 23(21):12772. DOI: 10.3390/ijms232112772.
4. Litvinov R.I., Weisel J.W. Blood clot contraction: Mechanisms, pathophysiology, and disease. *Research and Practice in Thrombosis and Haemostasis*. 2023; 7(1):100023. DOI: 10.1016/j.rpth.2022.100023.
5. Petrich B.G., Fogelstrand P., Partridge A.W., Yousefi N., Ablooglu A.J., Shattil S.J. et al. The antithrombotic potential of selective blockade of talin-dependent integrin $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$ (platelet GPIIb-IIIa) activation. *The Journal of Clinical Investigation*. 2007; 117(8):2250-9. DOI: 10.1172/JCI131024.
6. Harrison P. Platelet function analysis. *Blood Reviews*. 2005; 19(2):111-23. DOI: 10.1016/j.blre.2004.05.002.
7. Rechner A. R. Platelet function testing in clinical diagnostics. *Hämostaseologie*. 2011; 31(02):79-87. DOI: 10.5482/ha-1133.
8. Tyagi T., Jain K., Gu S.X., Qiu M., Gu V.W., Melchinger H. et al. A guide to molecular and functional investigations of platelets to bridge basic and clinical sciences. *Nature Cardiovascular Research*. 2022; 1(3):223-37. DOI: 10.1038/s44161-022-00021-z.
9. Choi J.L., Li S., Han J.Y. Platelet function tests: a review of progresses in clinical application. *BioMed Research International*. 2014; 2014(3):456569. DOI: 10.1155/2014/456569.
10. Paniccia R., Priora R., Alessandrello Liotta A., Abbate R. Platelet function tests: a comparative review. *Vascular Health and Risk Management*. 2015; 11:133-48. DOI: 10.2147/VHRM.S44469.
11. Luddington R.J. Thrombelastography/thromboelastometry. *Clinical & Laboratory Haematology*. 2005; 27(2):81-90. DOI: 10.1111/j.1365-2257.2005.00681.x.
12. Bose E., Hravnak M. Thromboelastography: a practice summary for nurse practitioners treating hemorrhage. *The Journal for Nurse*

- Practitioners. 2015; 11(7):702-9. DOI: 10.1016/j.nurpra.2015.05.006.
13. Tutwiler V., Peshkova A.D., Andrianova I.A., Khasanova D.R., Weisel, J.W., Litvinov R.I. Contraction of blood clots is impaired in acute ischemic stroke. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 2017; 37(2):271-9. DOI: 10.1161/ATVBAHA.116.308622.
 14. Peshkova A.D., Malyasyov D.V., Bredikhin R.A., Le Minh G., Andrianova I.A., Tutwiler V. et al. Reduced contraction of blood clots in venous thromboembolism is a potential thrombogenic and embologenic mechanism. *TH Open*. 2018; 2(01):e104-e115. DOI: 10.1055/s-0038-1635572.
 15. Evtugina N.G., Peshkova A.D., Pichugin A.A., Weisel J.W., Litvinov R.I. Impaired contraction of blood clots precedes and predicts postoperative venous thromboembolism. *Scientific Reports*. 2020; 10(1):1-11. DOI: 10.1038/s41598-020-75234-y.
 16. Tutwiler V., Peshkova A.D., Le Minh G., Zaitsev S., Litvinov R.I., Cines D.B. et al. Blood clot contraction differentially modulates internal and external fibrinolysis. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 2019; 17(2):361-70. DOI: 10.1111/jth.14370.
 17. Litvinov R.I., Peshkova A.D. Contraction of blood clots and thrombi: pathogenic and clinical significance. *Al'manakh Klinicheskoy Meditsiny*. 2018; 46(7):662-71. DOI: 10.18786/2072-0505-2018-46-7-662-671. (in Russian)
 18. Tutwiler V., Litvinov R.I., Lozhkin A.P., Peshkova A.D., Lebedeva T., Ataulakhanov F.I. et al. Kinetics and mechanics of clot contraction are governed by the molecular and cellular composition of the blood. *Blood*, 2016; 127(1):149-59. DOI: 10.1182/blood-2015-05-647560.
 19. Litvinov R.I., Evtugina N.G., Peshkova A.D., Safiullina S.I., Andrianova I.A., Khabirova A.I. et al. Altered platelet and coagulation function in moderate-to-severe COVID-19. *Scientific Reports*. 2021; 11(1):16290. DOI: 10.1038/s41598-021-95397-6.
 20. Jansen E.E., Hartmann M. Clot retraction: cellular mechanisms and inhibitors, measuring methods, and clinical implications. *Biomedicines*. 2021; 9(8):1064. DOI: 10.3390/biomedicines9081064.
 21. Kehrel B.E., Brodde M.F. State of the art in platelet function testing. *Transfusion Medicine and Hemotherapy*, 2013; 40(2):73-86. DOI: 10.1159/000350469.
 22. Reikvam H., Steien E., Hauge B., Liseth K., Hagen K.G., Størkson R. et al. Thrombelastography. *Transfusion and Apheresis Science*. 2009; 40(2):119-23. DOI: 10.1016/j.transci.2009.01.019.
 23. Hartmann J., Murphy M., Dias J.D. Viscoelastic hemostatic assays: moving from the laboratory to the site of care — a review of established and emerging technologies. *Diagnostics*. 2020; 10(2):118. DOI: 10.3390/diagnostics10020118.
 24. Lang T., Toller W., Gütl M., Mahla E., Metzler H., Rehak P. et al. Different effects of abciximab and cytochalasin D on clot strength in thrombelastography. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 2004; 2(1):147-53. DOI: 10.1111/j.1538-7836.2004.00555.x.
 25. Liebrecht L.K., Newton J, Martin E.J., Wickramaratne N., Jayaraman S., Han J. et al. Effects of a novel low volume resuscitation solutions on coagulation and platelet function. *PLoS One*. 2019; 14(5):e0215386. DOI: 10.1371/journal.pone.0215386.
 26. Ushakova O.E., Nechipurenko D.YU., Butylin A.A., Pantelev M.A. Application of flow systems in laboratory diagnostics for the integral evaluation of the hemostatic system. *Voprosy Gematologii/ Onkologii i immunopatologii v pediatrii*. 2018; 17(1):117-29. DOI: 10.24287/1726-1708-2018-17-1-117-129. (in Russian)
 27. Favaloro E.J. Utility of the PFA-100® for assessing bleeding disorders and monitoring therapy: a review of analytical variables, benefits and limitations. *Haemophilia*. 2001; 7(2):170-9. DOI: 10.1046/j.1365-2516.2001.00486.x.
 28. Born G.V.R. Aggregation of blood platelets by adenosine diphosphate and its reversal. *Nature*. 1962; 194:927-9. DOI: 10.1038/194927b0.
 29. Koltai K., Kesmarky G., Feher G., Tibold A., Toth K. Platelet aggregometry testing: molecular mechanisms, techniques and clinical implications. *International Journal of Molecular Sciences*. 2017; 18(8):1803. DOI: 10.3390/ijms18081803.

МИКРОБИОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2023

Мануйлова Е.Б.¹, Садеков Т.Ш.¹, Мехтиев Э.Р.О.¹, Затевалов А.М.¹, Самойлова М.В.²,
Миронов А.Ю.^{1,3}

МИКРОБИОМ-АССОЦИИРОВАННАЯ МЕТАБОЛОМИКА В КЛИНИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКЕ ТОНЗИЛЛИТА

¹ФБУН «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г. Н. Габричевского»
Роспотребнадзора, 125212, г. Москва, Россия;

²ФГАУ ВО «Российский университет дружбы народов», 117198, Москва, Россия;

³Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий ФМБА России, 115682, Москва, Россия

Исследованы особенности функциональной активности микробиоценоза ротоглотки при тонзиллите методом микробиом-ассоциированной метаболомики. Построена модель предиктивной диагностики «Тонзиллит», проведена её валидация и после объединения обучающей и валидационной выборок построена модель «Тонзиллит 1.0». Установлено, что в дискриминантном уравнении модели «Тонзиллит» включены концентрации анаэробных микроорганизмов – пропионовая и масляная кислота, а в модели «Тонзиллит 1.0» включена еще и концентрация валериановой кислоты. Моделью «Тонзиллит», построенной на результатах биохимического анализа микрофлоры ротоглотки 40 пациентов, описывается уникальное соотношение концентраций пропионовой и масляной кислот в слюне (метаболический отпечаток тонзиллита), выраженный в виде диагностических коэффициентов (линейных уравнений), позволяющих с 95% прогностической точностью диагностировать тонзиллит. Прогностическая точность по валидационной выборке (30 человек) составляет 100%. Прогностическая точность модели «Тонзиллит 1.0» (70 человек) составляет 97,1%. Увеличение прогностической точности модели предиктивной диагностики тонзиллита происходит за счёт увеличения чувствительности с 90% в модели «Тонзиллит» до 95% в модели «Тонзиллит 1.0».

Увеличение численности групп способствует увеличению прогностической точности модели предиктивной диагностики тонзиллита, повышает статистическую значимость различий между группами «Тонзиллит» и группой сравнения. Модель предиктивной диагностики «Тонзиллит 1.0», может быть использована в клинической лабораторной диагностике тонзиллита по метаболитическим биомаркерам в слюне методом микробиом-ассоциированной метаболомики.

Ключевые слова: тонзиллит; микробиота; микробиоценоз ротоглотки; ГЖХ; слюна; короткоцепочечные жирные кислоты; метаболомика; математическое моделирование; линейный дискриминантный анализ.

Для цитирования: Мануйлова Е.Б., Садеков Т.Ш., Мехтиев Э.Р.О., Затевалов А.М., Самойлова М.В., Миронов А.Ю. Микробиом-ассоциированная метаболомика в клинической лабораторной диагностике тонзиллита. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2023; 68 (9): 553-558. DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2023-68-9-553-558>

Для корреспонденции: Мануйлова Екатерина Борисовна, мл. науч. сотр. лаб. дифтерийных инфекций; e-mail: k2205@mail.ru

Финансирование. Работа выполнена в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 01.07.2023

Принята к печати 05.07.2023

Опубликовано 08.09.2023

*Manuilova E.B.¹, Sadekov T.Sh.¹, Mehtiev E.R.O.¹, Zatevalov A.M.¹, Samoylova M.V.²,
Mironov A.Yu.^{1,3}*

MICROBIOME-ASSOCIATED METABOLOMIC IN THE CLINICAL LABORATORY DIAGNOSIS OF TONSILLITIS

¹G. N. Gabrichevsky Research Institute for epidemiology and microbiology, Rospotrebnadzor, 125212, Moscow, Russia;

²Peoples' Friendship University of Russia, 117198, Moscow, Russia;

³Federal scientific and clinical center for specialized types of medical care and medical technologies of the FMBA of Russia, 115682, Moscow, Russia

The features of the functional activity of oropharyngeal microbiocenosis in tonsillitis were studied by the method of microbiome-associated metabolomic. A model of predictive diagnostics «Tonsillitis» was built, it was validated, and after combining the training and validation samples, the model «Tonsillitis 1.0» was built. It has been established that the concentrations of anaerobic microorganisms - propionic and butyric acid are included in the discriminant equation of the Tonsillitis model, and the concentration of valeric acid is also included in the Tonsillitis 1.0 model. The Tonsillitis model was built by the results of biochemical analysis of the oropharyngeal microflora of 40 patients, describes the unique ratio of the concentrations of propionic and butyric acids in saliva (the metabolic imprint of tonsillitis), expressed as diagnostic coefficients (linear equations), which allow diagnosing

tonsillitis with 95% predictive accuracy. The predictive accuracy for the validation sample (30 people) is 100%. The predictive accuracy of the Tonsillitis 1.0 model (70 people) is 97.1%. An increase in the predictive accuracy of the model for predictive diagnosis of tonsillitis occurs due to an increase in sensitivity from 90% in the Tonsillitis model to 95% in the Tonsillitis 1.0 model. An increase in the number of groups contributes to an increase in the predictive accuracy of the model for predictive diagnosis of tonsillitis, increases the statistical significance of differences between the Tonsillitis groups and the comparison group. The model of predictive diagnosis «Tonsillitis 1.0» can be used in clinical laboratory diagnosis of tonsillitis by metabolic biomarkers in saliva using microbiome-associated metabolomic.

Key words: tonsillitis; microbiota; oropharyngeal microbiocenosis; GLC; saliva; short chain fatty acids; metabolomics; math modeling; linear discriminant analysis.

For citation: Manuylova E.B., Sadekov T.Sh., Mekhiev E.R.O., Zatevalov A.M., Samoylova M.V., Mironov A.Yu. Microbiome-associated metabolomic in the clinical laboratory diagnosis of tonsillitis. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika* (Russian Clinical Laboratory Diagnostics). 2023; 68 (9): 553-558 (in Russ.). DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2023-68-9-553-558>

For correspondence: Manuylova E.B., junior researcher laboratory of diphtheria infections; e-mail: k2205@mail.ru

Information about authors:

Manuylova E.B., <https://orcid.org/0000-0002-4189-0455>;

Sadekov T. Sh. , <https://orcid.org/0000-0001-5337-0054>;

Mekhiev E.R.O. , <https://orcid.org/0000-0002-9942-2662>;

Zatevalov A.M. , <https://orcid.org/0000-0002-1460-4361>;

Samoylova M.V. , <https://orcid.org/0000-0001-6771-919X>;

Mironov A. Yu. , <https://orcid.org/0000-0002-8544-5230>;

Acknowledgment. The work was carried out within the framework of the industry program of Rosпотребнадзор.

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

Received 01.07.2023

Accepted 05.07.2023

Published 08.09.2023

Введение. Респираторные заболевания остаются наиболее распространёнными инфекционными заболеваниями, что формирует запрос на новые средства их диагностики и лечения. Одной из ведущих проблем оториноларингологии остается заболеваемость хроническим тонзиллитом. Это заболевание имеет невыраженную клиническую симптоматику при условии сохранения барьерных функций слизистой оболочки. При возникновении определённых условий возможно нарушение барьерной функции слизистой оболочки с высокой вероятностью формирования паратонзиллярных абсцессов [1]. Доказано, что при длительном хроническом тонзиллите возможно развитие артрита, ревматизма, нефрита, сепсиса [2].

Клиническая диагностика тонзиллита проводится с помощью пальпации лимфатических узлов, осмотра зева с помощью специальной подсветки, для уточнения клинического диагноза используются данные клинической лабораторной диагностики: общий анализ крови, общий анализ мочи, бактериологический анализ мазка из зева. Клинический диагноз зависит от фактора субъективности и квалификации врача, от выраженности клинических проявлений заболевания. Доказательная медицина позволяет установить более чёткие критерии хронического тонзиллита, основанные на метаболической реакции микробиоценоза ротоглотки, измеренные по соотношению концентраций короткоцепочечных жирных кислот (КЖК) в слюне [3, 4].

Для оценки сложной биологической системы, к которой относится многовидовая структура микробного сообщества ротоглотки, составляющая микробно-каневый комплекс слизистой оболочки, необходимы

методы многомерной статистики и математического моделирования. Высокая реакционность микробиоты предполагает сложный многоуровневый ответ, для распознавания которого эффективно применяются проекционные методы математического моделирования - линейный дискриминантный анализ [5]. Популярность линейного дискриминантного анализа обусловлена его высокой специфичностью и чувствительностью, что существенно повышает прогностическую точность. Важное значение имеет простота использования этого метода, поскольку данный алгоритм входит в большинство платных и бесплатных статистических пакетов, где расчёты и моделирование не требуют от исследователя навыков в программировании [6, 7].

Результатом математического моделирования по алгоритму линейного дискриминантного анализа являются классификационные уравнения, представляющие решающие правила, выраженные в линейных функциях, описывающих гиперплоскость, разделяющую дискриминантное пространство на области, принадлежащие к основной группе и группе сравнения [8]. Тестирование обучающей выборки на ошибки I и II рода позволяет выявить количество истинно-положительных, отрицательных и ложноположительных и ложноотрицательных случаев, а так же получить качественные характеристики модели. К основным качественным характеристикам относятся аналитические: прогностическая точность, специфичность и чувствительность, которые обычно имеют высокие показатели, характеризующие качество дискриминации в обучающей выборке. Результаты прогностической точности, полученные на других выборках,

могут быть значительно ниже, чем аналитическая точность, специфичность и чувствительность. Это следует учитывать, при использовании пилотных математических моделей линейного дискриминантного анализа для задач предиктивной диагностики [9].

Для проверки и повышения устойчивости математических моделей применяются валидационные мероприятия, сводящиеся к сравнению количества положительных и отрицательных результатов, предсказанных моделью, относительно диагнозов, поставленных другими (более точными методами). Результаты прогностической точности, полученные по валидационной выборке имеют более важное значение для использования математической модели в практике. Объединение валидационной выборки и обучающей выборки пилотной модели для расчёта новой модели, позволяет получить более устойчивую модель, даже если значения аналитической прогностической точности в результате будут ниже, чем у пилотной модели. Повышение численности групп в модели, через валидационные итерации имеют смысл до получения стабильных показателей прогностической точности, которые будут отражать истинное качество дискриминации модели [10,11].

Цель исследования - рассчитать метаболические биомаркеры тонзиллита методом микробиом-ассоциированной метаболомики по концентрациям короткоцепочечных жирных кислот в слюне.

Материал и методы. Для построения математической модели «Тонзиллит» использованы концентрации КЖК в слюне у пациентов амбулаторного приёма с диагнозом «Тонзиллит». Материал набирался на базах кафедры оториноларингологии МГМСУ им. А. И. Евдокимова, ГКБ № 70 им. Е. О. Мухина и НИИЦ Центрального научно-исследовательского института стоматологии и челюстно-лицевой хирургии. Для построения пилотной модели проведено исследование образцов слюны методом газо-жидкостной хроматографии (ГЖХ) у 40 пациентов в возрасте от 15 до 50 лет. Перед включением в исследование у каждого из участников исследования получено письменного информационного согласия об использовании результатов обследования в научных целях. В основную группу были включены 20 пациентов амбулаторного приёма с диагнозом «Тонзиллит», который установлен врачом-отоларингологом по результатам клиничко-физикального обследования. В группу сравнения включены 20 пациентов амбулаторного приёма КДЦ при ФБУН МНИИЭМ им. Г. Н. Габричевского. Для валидации математической модели использованы концентрации КЖК в слюне у 30 пациентов, из которых 20 относились к основной группе и 10 к группе сравнения. Определение по группам для мероприятий по валидации моделей проводили так же, как и для обучающей выборки. Результирующая модель «Тонзиллит 1.0» обучена на объединённых выборках пилотной модели «Тонзиллит» и валидационной выборки. Общая численность групп составила 70 человек. Основная группа модели «Тонзиллит 1.0» составила 40 пациентов с тонзиллитом, группа сравнения 30 человек. Гендерные различия не учитывались.

Концентрации КЖК в слюне определялись методом ГЖХ на капиллярной колонке диаметром 0,3 мм, длиной 30 метров с неподвижной фазой FFPA, в изотермическом режиме термостата при 150 оС, с регистрацией сигнала на пламенно-ионизационном детекторе [8]. Для расчёта концентраций КЖК использован метод внутреннего стандарта с α, α -диметилмасляной кислотой. Пробоподготовка включает подкисление образца слюны 0,1N водным раствором HCl, осаждение белка 60% водным раствором HClO₄, с последующим центрифугированием на 6000 об/мин. в течение 10 минут. Расчёт концентраций КЖК проведён с помощью программы, предоставленной производителем хроматографа «Кристалл 5000.2», по соотношению высот пиков компонентов, идентифицированных по времени удержания и высоты пика стандарта [10].

Результаты биохимических анализов микрофлоры ротоглотки для валидации модели по отдельным партиям собирали через сервис, обеспечивающий использование математических моделей для предиктивной диагностики, расположенный на сайте www.gabr1ch.ru и имеющий название «Инновационные проекты научно-исследовательских групп Московского НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г. Н. Габричевского Роспотребнадзора».

Статистический анализ и математическое моделирование проведено методом линейного дискриминантного анализа с использованием одноименного блока в программе Statistica 10.0.

Результаты. Пилотная модель линейного дискриминантного анализа «Тонзиллит» построена на результатах биохимического анализа микрофлоры ротоглотки 40 пациентов, из них: 20 пациентов с подтверждённым диагнозом хронического тонзиллита и 20 пациентов группы сравнения. Для расчёта математической модели использованы следующие концентрации КЖК в слюне: уксусной (C2), пропионовой (C3), изомасляной (iC4), масляной (C4), изовалериановой (iC5), валериановой (C5), изокапроновой (iC6), капроновой (C6) кислот. Чтобы избежать влияния активности секреции слюнных желез на соотношение концентраций КЖК, в уравнения дискриминантного анализа взяты приведённые концентрации (отнесённые к общей сумме C2-C6, включая изомеры). Методом пошагового исключения компонентов с анализом сопряжённости построена модель, в которую включены концентрации пропионовой и масляной КЖК (C3 и C4). Для модели рассчитаны:

- Дискриминантная функция;
- Координаты центроидов основной группы (ОГ) и группы сравнения (ГС);
- Расстояния Махаланобиса и статистическая значимость разности групп;
- Классификационные функции;
- Факторная нагрузка на компоненты;
- Прогностическая точность модели, для элементов, задействованных в построении модели, специфичность и чувствительность.

Разделение групп представлено в классификационной матрице (табл. 1).

На валидационной серии результатов анализов

пациентов тестировали способность модели определять правильный диагноз - хронический тонзиллит. Результаты биохимического анализа микрофлоры ротоглотки подставлены в классификационные уравнения для определения принадлежности к группе. Из 30

пациентов - 20 человек имели установленный диагноз «Хронический тонзиллит» и 10 человек не имели этого заболевания и помещены в группу сравнения. Результаты распределения по группам данных валидации представлены в табл. 2.

Таблица 1

Классификационная матрица пилотной модели «Тонзиллит»

Группы, заданные для обучения модели	Корректно определены моделью, %	Количество образцов, определенных по группам моделью, ед.	
		Основная группа	Группа сравнения
Основная группа (чувствительность)	90	18	2
Группа сравнения (специфичность)	100	0	20
Суммарно (точность)	95	18	22

Таблица 2

Валидация пилотной модели «Тонзиллит»

Группы, заданные для обучения модели	Корректно определены моделью	Количество образцов, определенных по группам моделью	
		Основная группа	Группа сравнения
Основная группа (чувствительность)	100	20	0
Группа сравнения (специфичность)	100	0	10
Суммарно (точность)	100	20	10

Таблица 3

Внешние и внутренние прогностические характеристики пилотной модели «Тонзиллит»

Параметры	Качественные характеристики, %		Погрешность, %
	внутренняя	внешняя	
Чувствительность	90	100	10
Специфичность	100	100	0
Точность	95	100	5

Таблица 4

Классификационная матрица модели «Тонзиллит 1.0»

Группы, заданные для обучения модели	Корректно определены моделью	Количество образцов, определенных по группам моделью	
		Основная группа	Группа сравнения
Основная группа (чувствительность)	95	38	2
Группа сравнения (специфичность)	100	0	30
Суммарно (точность)	97,1	38	32

Погрешность, рассчитанная сравнением внутренних и внешних прогностических показателей представлена в табл. 3.

В результате использования классификационных уравнений пилотной модели корректно определены 100% пациентов. Погрешность чувствительности 10%, специфичности 0%, что составляет общую погрешность точности модели 5%. Уровни погрешности превышают 5%, что указывает на недостаточную устойчивость модели. Увеличение устойчивости модели можно достичь увеличением количества пациентов в группах с последующим перестроением модели.

Результаты биохимического анализа слюны пациентов пилотной модели и валидационные данные

объединены в количестве - 70 пациентов, из которых 40 с диагнозом «Хронический тонзиллит» отнесены в основную группу (ОГ), 30 - в группу сравнения (ГС).

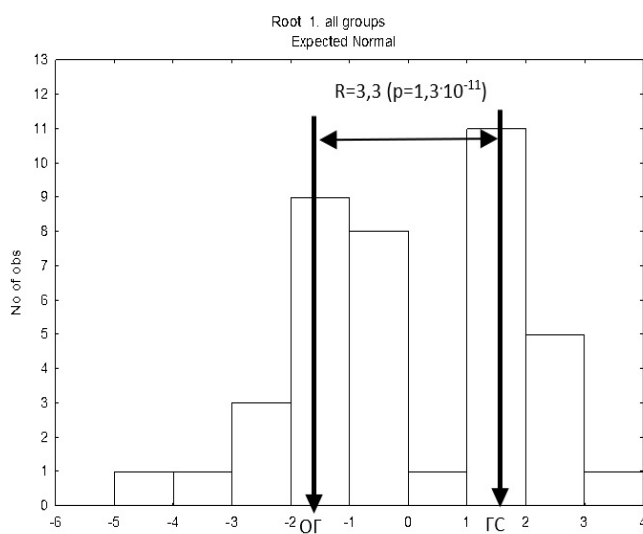
Методом пошагового исключения компонентов с анализом сопряженности в построенную модель «Тонзиллит 1.0» включены пропионовая (C₃), масляная (C₄), валериановая (C₅) КЖК. Результаты разделения групп представлены в классификационной матрице (табл. 4).

Аналитическая точность модели «Тонзиллит 1.0» составляет 97,1%, что выше прогностической точности пилотной модели «Тонзиллит» - 95%. Повышение прогностической точности достигается за счёт повышения аналитической чувствительности («Тонзиллит 1.0» - 95%, а «Тонзиллит» - 90%).

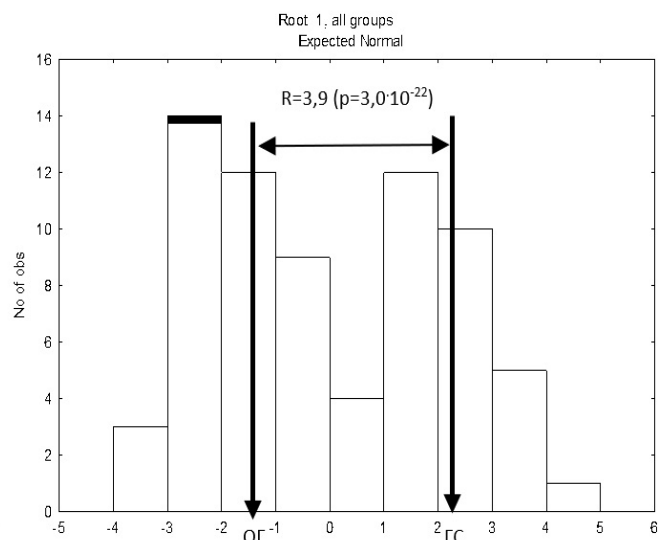
Рассмотрим динамику смещения центроидов групп и распределение количества образцов в дискриминантной функции, расстояние Махаланобиса и статистическую значимость различий. Гистограммы распределения представлены на рисунке, а, б.

С увеличением количества образцов в модели разделение образцов на группы становится более выраженным. Расстояние Махаланобиса между группами увеличивается, а статистическая значимость увеличивается (p – снижается).

а



б



Распределение количества образцов и расположение центроидов в координатах дискриминантной функции при увеличении численности групп. а - тонзиллит (40 образцов); б - тонзиллит 1.0 (70 образцов).

Обсуждение. Хронический тонзиллит является заболеванием, для которого микрофлора ротоглотки формирует чёткий метаболический след, что подтверждает состоявшаяся модель линейного дискриминантного анализа. Уровень статистической значимости дискриминации групп при $p=1,3 \cdot 10^{-11}$ указывает на высокую чёткость метаболического следа, характеризующего специфичность соотношения концентраций метаболитов, продуцируемых микроорганизмами. В модели задействованы концентрации пропионовой и масляной кислот, на долю которых приходится около 25% пула КЖК и более 90% пула КЖК, продуцируемого анаэробными микроорганизмами. Исходя из состава компонентов КЖК, на которых построена модель можно заключить, что заболевание влияет на большую часть видов анаэробных микроорганизмов, выстраивающих свои трофические цепочки и специфику метаболизма, узнаваемого системой распознавания образов [12, 13].

Чёткость метаболического отпечатка тонзиллита подтверждается высокими показателями прогностической точности, чувствительности и специфичности, полученными на валидационной выборке. Пилотная модель, построенная на небольшой выборке, безошибочно определила тонзиллит при валидации, что так же указывает на чёткость метаболического отпечатка заболевания.

Модель «Тонзиллит 1.0», построенная на объединенной выборке, улучшила показатели аналитической прогностической точности, чувствительности и специфичности, в дискриминантное уравнение включена концентрация валериановой КЖК, относящаяся к метаболитам, продуцируемым облигатной анаэробной микрофлорой [3, 4, 14].

Увеличение расстояния Махаланобиса между центроидами Тонзиллит и группой сравнения, снижение порогового значения p с $1,3 \cdot 10^{-11}$ до $1,3 \cdot 10^{-22}$ указывает на улучшение качества дискриминации групп при увеличении количества пациентов в выборках.

Заключение. Показано, что при тонзиллите существенно изменяется функциональная активность микробиоценоза ротоглотки, которая имеет специфический метаболический след, характеризующийся уникальным соотношением концентраций пропионовой, масляной, валериановой КЖК. Модель дискриминантного анализа в пилотном варианте имеет аналитическую прогностическую точность на уровне 95%, при 90% чувствительности и 100% специфичности. Валидационные показатели качественных характеристик модели составляют 100% для прогностической точности, чувствительности и специфичности.

Модель «Тонзиллит 1.0», построенная с помощью алгоритмов линейного дискриминантного анализа по концентрациям КЖК в слюне, на выборке 70 человек

имеет аналитическую точность 97,1% при 95% чувствительности и 100% специфичности. В результате валидации и увеличения выборки увеличилась прогностическая точность модели, расстояние Махалобиса между центроидами и уровень статистической значимости различий между группами.

Модель предиктивной диагностики «Тонзиллит 1.0», может быть использована в клинической лабораторной диагностике тонзиллита по метаболическим биомаркерам в слюне методом микробиом-ассоциированной метабомики.

ЛИТЕРАТУРА

1. Мионов А. А., Мионов А. Ю., Пашков Е. П., Вознесенский Н. Л., Истратов В. Г. Микрофлора паратонзиллярных абсцессов. *Вестник оториноларингологии*. 1989; 1:49-52.
2. Мионов А.Ю., Савицкая К.И., Воробьев А.А., Нестерова М.В. Микрофлора при заболеваниях ЛОР-органов и нервной системы у больных региона Московской области. *Вестник оториноларингологии*. 2001; 4:31-5.
3. Бакулин Н.И., Батуро А.П., Блинкова Л.П., Бутова С.А., Воропаева С.Д., Гавристова И.А. и др. Клиническая лабораторная аналитика: Клиническая лабораторная аналитика в 5 томах. Т.4. М.: Агат-Мед; 2003.
4. Мионов А.Ю., Зур Н.В. Молекулярные маркеры патогенов. М.: Тираж; 2013. ISBN 978-5-905463-13-6.
5. Затевалов А.М., Селькова Е.П., Алёшкин А.В., Афанасьев С.С., Воропаева Е.А. Дифференциальная клинико-лабораторная диагностика острых респираторных заболеваний методами математического моделирования по состоянию микробиоценоза ротоглотки. *Журнал МедиАль*. 2016; 1(18): 36.
6. Затевалов А.М., Радугина Н.В., Жиленкова О.Г., Мионов А.Ю., Мехтиев Э.Р.О. Применение газовой хроматографии-масс-спектрометрии и математического моделирования для диагностики кандидозного кольпита. *Проблемы медицинской микологии*. 2019; 21(2): 69.
7. Трухачёва Н. В. Математическая статистика в медико-биологических исследованиях с применением пакета Statistica. М.: ГЭ-ОТАР-Медиа; 2013.
8. Боровиков В.П., Боровиков И.П. STATISTICA: Статистический анализ и обработка данных в среде Windows. М.: Филин; 1998.
9. Мехтиев Э.Р.О., Затевалов А.М., Радугина Н.В., Жиленкова О.Г., Садеков Т.Ш. Изучение микробиоценоза влагалища при вагиназах и цервицитах с помощью метода ГХ-МС. *Известия ГГТУ. Медицина, фармация*. 2022; 1: 49-50.
10. Затевалов А.М., Селькова Е.П., Афанасьев С.С., Алёшкин А.В., Мионов А.Ю., Гусарова М.П., Гудова Н.В. Оценка степени микробиологических нарушений микрофлоры ротоглотки и кишечника с помощью методов математического моделирования. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2016; 61(2): 117-21.
11. Зайцев В.М., Лифляндский В.Г., Маринкин В.И. Прикладная медицинская статистика. Учебное пособие. М.: Фолиант: СПб; 2006. ISBN 5-93929-135-X.
12. Истратов В.Г., Мионов А.Ю., Руднева В.Г., Горшенина И.Ю., Воробьев А.А. Изучение патогенетических механизмов интоксикации у больных с анаэробной неклостридиальной инфекцией. *Вестник Российской академии медицинских наук*. 1996; 2: 41-3.
13. Мионов А.Ю. Неклостридиальная анаэробная инфекция полости рта и ЛОР органов. *Вестник оториноларингологии*. 1990; 52(6): 42-6.
14. Мионов А.Ю. Газовая хроматография и масс-спектрометрия в диагностике анаэробов. *Альманах клинической медицины*. 2012; 26: 45-51.

REFERENCES

1. Mironov A.A., Mironov A.Yu., Pashkov E.P., Voznesensky N.L., Istratov V.G. Microflora in the paratonsillar abscesses. *Vestnik otorinolaringologii*. 1989; 1:49-52. PMID: 2711558. (in Russian)
2. Mironov A.Yu., Savitskaya K.I., Vorob'yov A.A., Nesterova M.V. Microflora in diseases of the ENT organs and the nervous system in patients in the region of the Moscow Region. *Vestnik otorinolaringologii*. 2001; 4:31-5. (in Russian)
3. Bakulin N.I., Batur A.P., Blinkova L.P., Buтова S.A., Voropaeva S.D., Gavristova I.A. et al. Clinical laboratory analytics in 5th volumes. Vol. 4. Moscow: Agat-Med; 2003. ISBN 5-94419-008-6. (in Russian)
4. Mironov A.Yu., Zur N.V. Molecular markers of pathogens. Moscow: Tirazh; 2013. ISBN 978-5-905463-13-6. (in Russian)
5. Zatevalov A.M., Sel'kova Ye.P., Alyoshkin A.V., Afanas'yev S.S., Voropayeva Ye.A. Differential clinical and laboratory diagnosis of acute respiratory diseases by mathematical modeling methods of the state of oropharyngeal microbiocenosis. *Zhurnal MediAl'*. 2016; 1(18): 36. (in Russian)
6. Zatevalov A.M., Radugina N.V., Zhilenkova O.G., Mironov A.Yu., Mekhtiyev E.R.O. The use of gas chromatography-mass spectrometry and mathematical modeling for the diagnosis of candidal colpitis. *Problemy meditsinskoj mikologii*. 2019; 21(2): 69. (in Russian)
7. Trukhacheva N.V., ed. Mathematical statistics in biomedical research using the Statistica package. Moscow: GEOTAR-media; 2013. (in Russian)
8. Borovikov V.P., Borovikov I.P. Statistica. Statisticheskii analiz i obrabotka dannykh v srede Windows (Statistica. Statistical Analysis and Data Processing in the Windows Environment), Moscow: Filin; 1998. (in Russian)
9. Mekhtiev E.R.O., Zatevalov A.M., Radugina N.V., Zhilenkova O.G., Sadekov T.S.H. The study of vaginal microbiocenosis in vaginosis and cervicitis using the GC-MS method. *Izvestiya GGTU. Meditsina, farmatsiya*. 2022; 1: 49-50. (in Russian)
10. Zatevalov A.M., Sel'kova Ye.P., Afanas'yev S.S., Alyoshkin A.V., Mironov A.Yu., Gusarova M.P., Gudova N.V. Assessment of the degree of microbiological disorders of the microflora of the oropharynx and intestines using mathematical modeling methods. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2016; 61(2): 117-21. (in Russian)
11. Zaytsev V.M., Lifyandsky V.G., Marinkin V.I. Applied medical statistics: textbook. Moscow: Foliant; 2006. (in Russian)
12. Istratov V.G., Mironov A.Yu., Rudneva V.G., Gorshenina I.Yu., Vorob'yev A.A. Study of pathogenetic mechanisms of intoxication in patients with anaerobic nonclostridial infection. *Vestnik Rossiyskoy akademii meditsinskikh nauk*. 1996; 2: 41-3. (in Russian)
13. Mironov A.Yu. Non-clostridial anaerobic infection of the oral cavity and ENT organs. *Vestnik otorinolaringologii*. 1990; 52(6): 42-6. (in Russian)
14. Mironov A.Yu. Gas chromatography and mass spectrometry in the diagnosis of anaerobes. *Almanakh klinicheskoy meditsiny*. 2012; 26:45-51. (in Russian)

КЛИНИЧЕСКИЕ МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2023

Гордеева Л.А.¹, Поленок Е.Г.¹, Воронина Е.Н.², Соколова Е.А.², Мун С.А.¹, Чернокульская К.С.¹, Култаева И.В.¹, Оскорбина О.С.¹, Глушков А.Н.¹

ИЗУЧЕНИЕ СВЯЗИ МЕЖДУ ИММУННЫМ ОТВЕТОМ НА КСЕНО- И ЭНДОБИОТИКИ И ПОЛИМОРФНЫМИ ЛОКУСАМИ ГЕНОВ ФЕРМЕНТОВ БИОТРАНСФОРМАЦИИ У ЖЕНЩИН С ВРОЖДЕННЫМИ ПОРОКАМИ РАЗВИТИЯ У ПЛОДА

¹ФГБУН «Федеральный исследовательский центр угля и углехимии СО РАН (Институт экологии человека СО РАН)», 650065, Кемерово, Россия;

²ФГБУН Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, 630090, Новосибирск, Россия

Изучали возможную связь между иммунным ответом на ксено- и эндобиотики и полиморфными локусами генов ферментов биотрансформации у женщин с врожденными пороками развития у плода. Обследованы 232 беременные женщины с врожденными пороками развития (ВПП) у плода и 267 женщин с физиологической беременностью (15-30 недель). Курение в семье оценивали как курение одного из супругов или обоих супругов. IgA и IgG антитела (АТ) в сыворотке крови женщин, специфичные к бензо[а]пирену (БП), 17β-эстрадиолу (Е2) и прогестерону (ПГ), определяли с помощью неконкурентного полуколичественного иммуноферментного анализа. Были рассчитаны индивидуальные соотношения уровней АТ класса А и G БП/Е2, БП/ПГ. Типирование полиморфизма в генах CYP1A1 (rs4646903), CYP1A2 (rs762551), CYP1B1 (rs1056836), CYP2D6 (rs35742686, rs3892097), GSTP1 (rs1695) и NAT2 (rs1801280, rs1799930, rs1799931) проводили методом ПЦР в режиме реального времени с использованием TaqMan-зондов, типирование полиморфизма генов GSTM1-0 (del) и GSTT1-0 (del) - мультиплексной ПЦР.

Выявлены прямые значимые корреляционные связи между уровнями IgA и IgG АТ к БП и стероидными гормонами (Е2 и ПГ) и между IgA и IgG АТ к Е2 и ПГ у женщин с ВПП у плода и в контрольной группе. Основными значимыми предикторами, ассоциированными с высоким риском ВПП у плода, были соотношение материнских уровней IgA-БП/IgA-ПГ >1,5УЕ (OR=4,70, 95СІ%: 2,67-8,26, p<0,0001) и генотип GSTT1 «0/0» (OR=3,32, 95СІ%: 1,79-6,13, p=0,001), причем при курении в семье риск значительно увеличивался. Материнские полиморфные локусы генов CYP1-2, GST(M1,P1) и NAT2 самостоятельно не вносили значимого эффекта в предрасположенность к ВПП у плода.

Наши результаты могут быть полезными для ранней диагностики ВПП у плода в комплексе с известными инструментальными и лабораторными методами.

Ключевые слова: врожденные пороки развития; антитела; бензо[а]пирен; стероидные гормоны; полиморфизм гена.

Для цитирования: Гордеева Л.А., Поленок Е.Г., Воронина Е.Н., Соколова Е.А., Мун С.А., Чернокульская К.С., Култаева И.В., Оскорбина О.С., Глушков А.Н. Изучение связи между иммунным ответом на ксено- и эндобиотики и полиморфными локусами генов ферментов биотрансформации у женщин с врожденными пороками развития у плода. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2023; 68 (9):559-569. DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2023-68-9-559-569>

Для корреспонденции: Гордеева Людмила Александровна, канд. биол. наук, вед. науч. сотр. лаб. иммуногенетики; e-mail: gorsib@rambler.ru

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 20.06.2023

Принята к печати 22.06.2023

Опубликовано 08.09.2023

Gordeeva L.A.¹, Polenok E.G.¹, Voronina E.N.², Sokolova E.A.², Mun S.A.¹, Chernokulskaya K.S.¹, Kultaeva I.V.¹, Oskorbina O.S.¹, Glushkov A.N.¹

THE RESEARCH OF RELATIONSHIP BETWEEN IMMUNE RESPONSE TO XENO- AND ENDOBIOTICS AND POLYMORPHIC LOCI OF GENE BIOTRANSFORMATION ENZYMES IN WOMEN WITH CONGENITAL MALFORMATIONS IN THE FETUS

¹Federal Research Center of Coal and Coal Chemistry of Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (Institute of Human Ecology SB RAS), 650065, Kemerovo, Russia;

²Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, 630090, Novosibirsk, Russia

The relationship between the immune response to xeno- and endobiotics and polymorphic loci of biotransformation enzyme genes in women with congenital malformations (CMs) in the fetus were studied. We studied 232 pregnant women with CMs in the fetus and 267 women with physiological pregnancy (15-30 weeks). The family smoking factor was assessed as smoking by one or both

partners smoking. IgA and IgG antibodies (AB) specific to benzo[a]pyrene (BP), 17 β -estradiol (E2) and progesterone (PG) were determined in the blood serum of women using a non-competitive semi-quantitative enzyme immunoassay. Typing of rs4646903 CYP1A1, rs762551 CYP1A2, rs1056836 CYP1B1, rs35742686, rs3892097 CYP2D6, rs1695 GSTP1, and rs1801280, rs1799930, rs1799931 NAT2 genes polymorphism was determined through TaqMan-real-time PCR and GSTM1-0 (del), GSTT1-0 (del) genes polymorphisms was defined through multiplex real-time PCR.

Direct significant correlations were found between the levels of IgA and IgG AB to BP and steroid hormones (E2 and PG) and between IgA and IgG AB to E2 and PG in women with CMs in the fetus and in the control group. The ratio of maternal levels of IgA-BP/IgA-PG >1.5 (OR=4.70, 95CI%: 2.67-8.26, p <0.0001) and GSTT1 genotype "0/0" (OR=3.32, 95CI%: 1.79-6.13, p =0.001) were main significant predictors associated with a high risk of CMs in the fetus, with smoking in the family significantly increasing the risk. The study showed that maternal polymorphic loci of the CYP1-2, GST (M1, P1) and NAT2 genes alone did not significantly affect the predisposition to CMs in the fetus.

Our results may be useful for early diagnosis of fetal CMs in combination with known instrumental and laboratory methods.

Key words: congenital malformations; antibodies; benzo[a]pyrene; steroid hormones; gene polymorphism.

For citation: Gordeeva L.A., Polenok E.G., Voronina E.N., Sokolova E.A., Mun S.A., Chernokulskaia K.S., Kul'taeva I.V., Oskorbina O.S., Glushkov A.N. The research of relationship between immune response to xeno- and endobiotics and polymorphic loci of gene biotransformation enzymes in women with congenital malformations in the fetus. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2023; 68 (9):559-569 (in Russ.). DOI: https://doi.org/10.51620/0869-2084-2023-68-9-559-569

For correspondence: Gordeeva L.A., PhD. Sci. Biol., leading researcher of the Laboratory immunogenetics; e-mail: gorsib@rambler.ru

Information about authors:

Gordeeva L.A., <https://orcid.org/0000-0001-5870-7584>;
Polenok E.G., <https://orcid.org/0000-0002-9368-2340>;
Voronina E.N., <https://orcid.org/0000-0002-3405-6980>;
Sokolova E.A., <https://orcid.org/0000-0002-4852-5661>;
Mun S.A., <https://orcid.org/0000-0002-5530-3469>;
Chernokulskaia K.S., <https://orcid.org/0009-0009-9946-4684>;
Kul'taeva I.V., <https://orcid.org/0009-0009-0217-4059>;
Oskorbina O.S., <https://orcid.org/0009-0002-9607-0224>;
Glushkov A.N., <https://orcid.org/0000-0002-8560-6719>.

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

Acknowledgment. The study had no sponsor support.

Received 20.06.2023

Accepted 22.06.2023

Published 08.09.2023

Введение. Врожденные пороки развития (ВПР) у плода относятся к мультифакторным заболеваниям, часто причиной их возникновения может быть совместное действие средовых и генетических факторов во время беременности [1]. Подавляющее большинство химических веществ (ксенобиотиков) могут индуцировать ВПР у плода. Из них высокую опасность представляют полициклические ароматические углеводороды (ПАУ), нитрозоамины, пестициды и другие вещества - широко распространенные загрязнители воздуха, питьевой воды и продуктов питания. Они могут пагубно влиять на эндокринную систему беременной женщины, проявляя эстрогеноподобные свойства [2].

Бензо[а]пирен (БП) является основным респираторным канцерогеном в сложной смеси ПАУ, образующийся в результате сгорания нефтепродуктов, каменного угля, содержимого сигарет и приготовления пищи. Предполагается, что БП может воздействовать на организм человека как напрямую, повреждая ДНК, так и опосредованно, способствуя формированию окислительных повреждений и развитию хронического воспаления [3]. БП также может вмешиваться в функционирование нейроэндокринной системы, при-

водя к нарушению стероидогенеза в репродуктивных органах [2].

Половые стероидные гормоны играют важную роль в сохранении и поддержании беременности. Гормоны прогестерон (ПГ) и 17 β -эстрадиол (Е2) обладают иммуномодулирующими эффектами на разных уровнях, начиная с центральных органов иммунной системы и заканчивая маточным компартментом. Оба гормона обеспечивают формирование иммуно-толерантности матери к эмбриону/плоду за счет эндокринного контроля механизмов иммуносупрессии [4]. В то же время, их отклонение от нормы ведет к патологии беременности, в том числе к ВПР у плода [5].

Считается, что плод могут повреждать инертные в химическом отношении метаболиты ксено- и эндобiotics, циркулирующие в организме матери, либо реактивные метаболиты, образовавшиеся непосредственно в тканях плода [6]. Метаболизм ксенобиотиков включает ферментативное преобразование (активацию и детоксикацию), в результате которого эти вещества превращаются в форму, удобную для выведения из материнского организма. Причем в биотрансформации ксено- и эндобiotics могут участвовать одни и те же ферменты. Установлено, что

активность ферментов биотрансформации зависит от индивидуальных особенностей генома человека. Контролируемый генами дисбаланс в ферментах активации и детоксикации ведет к инициации мутагенных, тератогенных и канцерогенных эффектов ксено- и эндобиотиков, и их связи с патологией [7].

Метаболиты ксено- и эндобиотиков в организме могут вести себя как гаптены и способны индуцировать образование специфических антител (АТ). Обнаружено, что, несмотря на малый размер стероидов, они стимулируют образование поликлональных АТ. Высокая продукция АТ класса G и M к ПГ связана с невынашиванием беременности [8]. Функции АТ к ксено- и эндобиотикам у женщин с ВПР у плода до конца не изучены. Есть вероятность, что гены ферментов биотрансформации могут опосредованно влиять на иммунохимический гомеостаз низкомолекулярных ксено- и эндобиотиков у женщин, вынашивающих плод с ВПР.

Цель работы - изучить возможную связь между иммунным ответом на ксено- и эндобиотики и полиморфными локусами генов ферментов биотрансформации у женщин с врожденными пороками развития у плода.

Материал и методы. В основную группу (группа ВПР) были включены 232 беременные женщины (срок 10-30 недель) с ВПР у плода. Критериями включения в группу были гинекологическое обследование, результаты пренатального УЗИ-скрининга и диагностических тестов, подтверждающих отклонение от нормы маркеров состояния плода (АФП и ХГЧ). Спектр ВПР у плода включал: пороки сердечно-сосудистой системы (Q20-Q28, $n=49$) – дефект межжелудочковой и/или предсердной перегородки, аномалии магистральных сосудов, тетрада Фалло; пороки центральной нервной системы (Q00-Q07, $n=48$) – анэнцефалия, мальформации Арнольда-Киари и Денди-Уокера, *spina bifida*; пороки мочевыводящей системы (Q60-Q64, $n=42$) – врожденный гидронефроз, дисплазия почек, одно/двух сторонняя пиелоэктазия, поликистоз почек; пороки костно-мышечной системы (Q65-Q79, $n=30$) - полидактилия, укорочение трубчатых костей, нарушение развития передней брюшной стенки, гастрошизис; пороки пищеварительной системы ($n=9$) – атрезия пищевода, атрезия двенадцатиперстной кишки, высокая кишечная непроходимость, поликистоз печени; ВПР губы и/или неба (Q35-Q37, $n=7$) - расщелина неба, расщелина верхней губы, расщелина губы и неба; пороки половой системы (Q50-Q56, $n=6$) – гипоспадия, кистозная аномалия развития яичника; множественные врожденные пороки развития ($n=41$) - сочетание 2-х, 3-х видов врожденных аномалий. Критериями исключения были диагностируемые во время беременности пороки развития у ребенка, ассоциированные с хромосомными аномалиями (синдром Дауна и т.д.), сахарный диабет и ВПР у беременной. Характеристика обследуемых женщин представлена в табл. 1. Средний возраст женщин в группе составил $26,1 \pm 4,1$ (SD) года.

В группу сравнения (контроль) были включены 267 женщин с физиологической беременностью (срок 15-30 недель). Критериями включения женщин в группу являлись отсутствие ВПР у плода, подтверж-

денное УЗИ, объективная оценка соматического и акушерского статуса (см. табл. 1). Средний возраст женщин был $27,5 \pm 5,3$ (SD) года.

Курение в семье оценивали как курение одного из супругов или обоих супругов (см. табл. 1).

Все женщины дали добровольное информированное согласие на участие в исследовании. Исследование проводили с соблюдением условий конфиденциальности.

Иммуноанализ антител. IgA и IgG АТ, специфичные к БП, E2 и ПГ, определяли с помощью неконкурентного полуколичественного иммуноферментного анализа согласно методике [9]. Сенсibilизацию иммунологических планшетов проводили с использованием конъюгатов БП, ЭС или ПГ с бычьим сывороточным альбумином. Связавшиеся с иммобилизованным конъюгатом АТ выявляли с помощью козьих антивидовых АТ против IgG человека, меченных пероксидазой хрена (Invitrogen, США), разведение конъюгата 1/10000. На последнем этапе использовали субстратный буфер, содержащий хромоген 3,3',5,5'-тетраметилбензидин, для детекции связывания конъюгата с исследуемыми АТ. Ферментативную реакцию регистрировали на приборе Multiscan FC (Thermo Scientific, Финляндия) при длине волны 450 нм. Уровни АТ к БП, E2 и ПГ выражали в относительных единицах согласно формуле [9]. Далее были рассчитаны индивидуальные соотношения уровней АТ разных классов БП/E2, БП/ПГ.

Генотипирование. Выделение ДНК из лимфоцитов периферической крови проводили с помощью метода фенол-хлороформной экстракции с последующим осаждением этанолом, образцы ДНК хранили при -20 °С.

Типирование однонуклеотидных замен в генах CYP1A1 (rs4646903), CYP1A2 (rs762551), CYP1B1 (rs1056836), CYP2D6 (rs35742686, rs3892097), GSTP1 (rs1695) и NAT2 (rs1801280, rs1799930, rs1799931) осуществляли методом TaqMan-ПЦР в режиме реального времени. Каждый образец ДНК амплифицировали с помощью пары праймеров и зондов, несущих «гаситель» на 3'-конце и флуоресцентные красители FAM либо R6G на 5'-конце. Структура праймеров и зондов представлена в работе [10] и табл. 2.

Реакцию амплификации проводили в следующих условиях: начальная денатурация (96 °С – 3 мин); затем 50 циклов, включающих денатурацию при 96 °С – 8 секунд, отжиг праймеров при 58 °С – 40 секунд и последующую элонгацию при 72 °С – 8 секунд. Общий объем реакционной смеси был 20 мкл. Смесь содержала: 650 мМ Трис-НСl (рН 8,9), 240 мМ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$; 35 мМ MgCl_2 , 0,05% Tween 20, 200 мкМ dNTP, 20-100 нг ДНК; 300 нМ каждого праймера; 100-200 нМ TaqMan-зондов; 0,5 ед. акт. термостабильной Taq-полимеразы.

Типирование генов GSTM1-0 (del) и GSTT1-0 (del) проводили методом мультиплексной ПЦР с интеркалирующим флуоресцентным красителем SYBR GreenI и анализом кривых плавления. Детальное описание реакции амплификации приведено в работе Л.А.Гордеевой и соавт. [11].

Таблица 1

Характеристика исследуемых групп

Осложнения, исходы настоящей беременности	ВПР (n=232) абс. число (%)	Контроль (n=267) абс. число (%)
Угрожающий выкидыш	71 (30,6)	12 (4,5)
Дисфункция плаценты	99 (42,7)	65 (24,3)
ЗВУР плода	31 (13,4)	-
Половые инфекции	111 (47,8)	24 (9,0)
Бактериальный вагиноз и/или вульвовагинальный кандидоз	81 (34,9)	138 (51,7)
Курение в семье	111 (47,8)	41 (15,4)
Курение женщины	12 (5,1)	25 (9,3)
Курение мужчины	108 (46,6)	38 (14,2)
Неизвестно	39 (16,8)	131 (49,1)
Сопутствующая соматическая патология*	104 (44,8)	88 (33,0)
Выкидыши в анамнезе, бесплодие	34 (14,7)	-
Прерывание беременности по мед. показаниям	68 (29,3)	-

Примечание. ЗВУР – задержка внутриутробного развития; * - частые ОРВИ, заболевания ЛОР-органов (хронический гайморит, тонзиллит), хронический гастрит, хронический пиелонефрит, цистит, кольпит, эндоцервицит.

Таблица 2

Последовательность праймеров и зондов

Полиморфизм	Праймеры	Последовательность праймеров	Последовательность зондов
CYP2D6 rs35742686	Прямой	5'-tgccaatgtcctacgcttc-3'	5'-Fam-tgagcacAggatgacct-BHQ-3'
	Обратный	5'-ctctcaccctctccatctctgc-3'	5'-R6G-tgagcacggatgacct-BHQ-3'
CYP2D6 rs3892097	Прямой	5'-gacccttaccgcgatct-3'	5'-R6G-cccccaGgacgcccct-BHQ-3'
	Обратный	5'-gttgctcacggctttgtcca-3'	5'-Fam-cccccaAgacgcccct-BHQ-3'
NAT2 rs1801280	Прямой	5'-agcactggcatggttcac-3'	5'-R6G-caggtgaccaCtgacggcag-BHQ-3'
	Обратный	5'-gttctctttggcaggagatgag-3'	5'-Fam-caggtgaccaTtgacggcag-BHQ-3'
NAT2 rs1799930	Прямой	5'-tttctaattctcatctcctgcc-3'	5'-Fam-acgcttgaacctcAaaca-BHQ-3'
	Обратный	5'-gtggttagaatgaagatgtggag-3'	5'-R6G-acgcttgaacctcGaaca-BHQ-3'
NAT2 rs1799931	Прямой	5'-ctgaggaagaggtgagaagtg-3'	5'-Fam-ccaacctggtgatGatc-BHQ-3'
	Обратный	5'-ttgggtgatacatacagaagg-3'	5'-R6G-ccaacctggtgatGat-BHQ-3'

Аmplификацию проводили с помощью термциклера CFX-96 (Bio-Rad, США).

Статистический анализ полученных результатов проводился с помощью пакета статистических программ Statistica for Windows v.8.0, («StatSoft, Inc.») и GenABEL, Genetics программного обеспечения R-project (www.r-project.org). Характер распределения изучаемых признаков оценивали с помощью W-критерия Шапиро-Уилка. Так как тип распределения признаков имел ненормальный характер, в дальнейшем различия между группами оценивали с помощью непараметрических критериев. В этом случае и при использовании других критериев нулевую гипотезу отвергали при $P\text{-value} \leq 0,05$. Взаимосвязи между IgA и IgG AT к БП, ЭС и ПГ оценивали с помощью коэффициента корреляции рангов Спирмена. Соответствие частот генотипов изучаемых генов ферментов биотрансформации равновесию Харди-Вайнберга (HWE) рассчитывали с помощью критерия χ^2 Пирсона. Для выявления прогностической значимости уровней AT использовали ROC (Receiver Operator Characteristic) – анализ с построением ROC-кривой. Оценку значений отношения шансов (OR) и его дове-

рительный интервал (95 CI%) оценивали с помощью логистического регрессионного анализа (функция «glm» программы R). В качестве базовой модели исследовали аддитивную модель наследования признака, при которой гомозигота по аллелю риска была закодирована как «2», гетерозигота – «1», а гомозигота по референсному аллелю – «0».

Результаты. Изучали ассоциации следующих материнских факторов с риском развития ВПР у плода: уровни сывороточных AT классов А и G к БП и стероидным гормонам (Е2 и ПГ) и полиморфизм в генах ферментов биотрансформации ксенобиотиков.

Проверка на мультиколлинеарность иммунологических маркеров - IgA и IgG AT к БП, Е2 и ПГ в обследуемых группах женщин в целом показала значимые положительные корреляции между изучаемыми AT в двух группах женщин (табл. 3). Обнаружили, что у женщин в двух группах наблюдались сильные корреляционные зависимости AT к БП, Е2 и ПГ как класса А, так и класса G. Данные представлены в таблице 3. Слабо коррелирующими друг с другом оказались сывороточные IgA и IgG AT к БП у женщин в обеих исследуемых группах ($r_s=0,09$; $p=0,34$ и $r_s=0,23$; $p=0,001$, соответственно).

Взаимосвязь между уровнями IgA и IgG AT к бензо[а]пирену и стероидным гормонам у беременных женщин исследуемых групп

Класс и специфичность AT		Группа ВПР	Контроль
x	y		
IgA-БП	IgA-E2	$r_s=0,68; p<0,001$	$r_s=0,73; p<0,001$
	IgA-ПГ	$r_s=0,59; p<0,001$	$r_s=0,68; p<0,001$
	IgG-БП	$r_s=0,09; p=0,34$	$r_s=0,23; p=0,001$
IgA-E2	IgA-ПГ	$r_s=0,83; p<0,001$	$r_s=0,85; p<0,001$
	IgG-E2	$r_s=0,46; p<0,001$	$r_s=0,44; p<0,001$
IgA-ПГ	IgG-ПГ	$r_s=0,76; p<0,001$	$r_s=0,54; p<0,001$
IgG-БП	IgG-E2	$r_s=0,72; p<0,001$	$r_s=0,76; p<0,001$
	IgG-ПГ	$r_s=0,72; p<0,001$	$r_s=0,73; p<0,001$
IgG-E2	IgG-ПГ	$r_s=0,91; p<0,001$	$r_s=0,79; p<0,001$

Примечание. Здесь и в табл. 4-6: БП – бенз[а]пирен; ЭС – эстрадиол; ПГ – прогестерон; r_s - коэффициент корреляции Спирмена.

Поскольку у обследуемых женщин AT к БП и стероидным гормонам класса А и G коррелировали между собой, то для дальнейшего анализа требовалось выбрать один коррелирующий маркер и исключить остальные. С этой целью провели сравнительный анализ уровней IgA и IgG к БП, E2 и ПГ и их соотношений у женщин с ВПР и в контрольной группе, а также оценили их возможную диагностическую эффективность при помощи ROC-анализа (табл. 4).

Сравнительный анализ уровней сывороточных AT класса А и G к БП, E2 и ПГ и соотношения у женщин исследуемых групп показал, что в большинстве случаев уровни IgA и IgG AT к ксено- и эндобиотикам, а также соотношения их уровней оказались сопоставимыми у женщин с ВПР и в контрольной группе (таблица 4). У женщин групп ВПР и контроль обнаружены значимые отличия в значениях уровней IgA AT к ПГ (0,90

[0,60-2,20] против 1,60 [1,00-2,90] UE, $p=0,02$). Такая же картина наблюдалась при сравнении соотношения уровней IgA-БП/IgA-E2 (1,50 [0,90-2,70] против 1,20 [0,80-1,90] UE, $p=0,03$) и IgA-БП/IgA-ПГ (2,60 [1,20-4,60] против 1,30 [0,90- 1,80] UE, $p<0,001$).

Среди обозначенных маркеров наилучшую диагностическую эффективность имел маркер соотношение уровней IgA-БП/IgA-ПГ (AUC=0,70, 95%CI: 0,61-0,75, $p=0,001$), чувствительность и специфичность теста составили 0,65 и 0,62, соответственно. Для данного объема выборки величиной порога отсечения было значение 1,5 UE, то есть более высокое (> 1,5 UE) значение соотношения уровней IgA-БП/IgA-ПГ значимо чаще имели женщины группы ВПР, тогда как более низкое ($\leq 1,5$ UE) значение соотношения уровней IgA-БП/IgA-ПГ – женщины группы контроль ($\chi^2=25,64$, $d(f)=1$, $p<0,0001$, см. рисунок).

Таблица 4

Сравнительная характеристика продукции сывороточных AT класса А и G к бензо[а]пирену (БП), эстрадиолу (E2) и прогестерону (ПГ) и соотношения их уровней у беременных женщин исследуемых групп

Класс и специфичность AT	Группа ВПР	Контроль	β (SE), p^a	AUC (95 CI%), p	Se/Sp
	Me [Q25-Q75]	Me [Q25-Q75]			
IgA-БП, UE	2,40 [1,40-3,90]	2,20 [1,40-3,60]	0,001 (0,042), 0,97	-	-
IgA-E2, UE	1,30 [0,60-2,90]	1,80 [0,90-3,50]	-0,089 (0,048), 0,06	-	-
IgA-ПГ, UE	0,90 [0,60-2,20]	1,60 [1,00-2,90]	-0,169 (0,074), 0,02	0,37 (0,30-0,44), <0,001	0,24/0,58
IgA-БП/IgA-E2, UE	1,50 [0,90-2,70]	1,20 [0,80-1,90]	0,160 (0,073), 0,03	0,59 (0,52-0,66), 0,009	0,24/0,59
IgA-БП/IgA-ПГ, UE	2,60 [1,20-4,60]	1,30 [0,90-1,80]	0,246 (0,062), <0,001	0,70 (0,61-0,75), <0,001	0,65/0,62
IgG-БП, UE	1,70 [0,90-2,70]	1,70 [1,00-3,00]	0,032 (0,030), 0,29	-	-
IgG-E2, UE	1,20 [0,50-3,00]	1,80 [0,80-3,80]	-0,069 (0,045), 0,06	-	-
IgG-ПГ, UE	0,90 [0,30-1,80]	1,00 [0,50-1,90]	0,025 (0,040), 0,53	-	-
IgG-БП/IgG-E2, UE	1,30 [0,80-2,30]	1,00 [0,70-1,40]	0,118 (0,072), 0,10	-	-
IgG-БП/IgG-ПГ, UE	1,90 [1,30-3,70]	1,80 [1,10-2,70]	0,090 (0,049), 0,07	-	-

Примечание. Me – медиана, [Q25-Q75] – квартильный размах; β – коэффициент регрессии; SE – ошибка; a – критерий сравнения – логистическая регрессия; UE – условные единицы; AUC – значение площади под кривой; 95 CI%- доверительный интервал; Se – чувствительность; Sp - специфичность. Жирным шрифтом выделен маркер с наилучшей диагностической эффективностью.

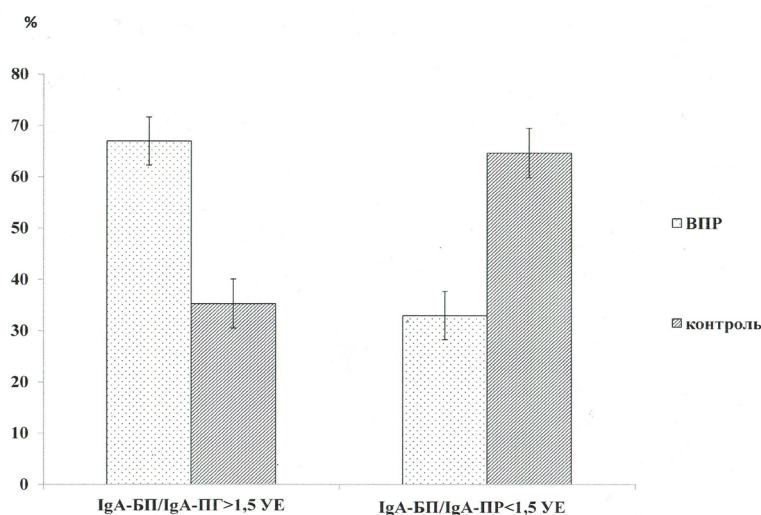


Рисунок 1. Доля (%) женщин с высоким (>1,5 UE) и низким ($\leq 1,5$ UE) соотношением уровней IgA АТ к БП/АТ к ПГ (IgA-БП/IgA-ПГ) в группах ВВП и контроль.

Доля женщин (в %) с высоким (>1,5 UE) и низким ($\leq 1,5$ UE) соотношением уровней IgA АТ к БП/АТ к ПГ (IgA-БП/IgA-ПГ) в группах ВВП и контроле.

Это означало, что в анализируемой выборке при определении порога отсечения 1,5 UE величины соотношения IgA-БП/IgA-ПГ идентифицировали 65% женщин с ВВП у плода с соотношением уровней АТ выше 1,5 UE и 62% женщин с физиологической беременностью с соотношением уровней АТ ниже 1,5 UE.

На следующем этапе оценили связь материнских полиморфных локусов генов ферментов биотрансформации ксенобиотиков с риском ВВП у плода. Распределение частот аллелей и генотипов для полиморфных локусов генов *CYP1-2*, *GST* и *NAT2* у женщин с ВВП у плода и в контрольной группе соответствовало равновесию Харди-Вайнберга ($p > 0,05$, табл. 5). Распределение частот аллелей и генотипов изучаемых генов у женщин двух групп было сопоставимым. Выявлена единственная значимая ассоциация материнского генотипа *GSTT1* «0/0» с риском ВВП у плода (OR=2,12, 95 CI%: 1,41-3,21, $p = 0,0003$, табл. 5).

Далее изучали возможную связь между соотношением уровней IgA-БП/ IgA-ПГ, полиморфными локусами генов *CYP1-2*, *GST* и *NAT2* у женщин и риском ВВП у плода. С помощью пошаговой логистической регрессии обнаружили значимые ассоциации высокого соотношения уровней IgA-БП/IgA-ПГ (>1,5 UE) и генотипа *GSTT1* «0/0» у женщин с риском ВВП у плода (табл. 6).

Также оценили возможную связь соотношения уровней IgA-БП/IgA-ПГ (>1,5 UE) и генотипа *GSTT1* «0/0» у женщин с риском ВВП у плода при курении в семье. Полная информация по курению в семье имела не у всех, поэтому такой анализ провели у женщин с известными данными. Курение в семье было значимо ассоциировано с риском ВВП у плода (43/74 в группе ВВП против 23/106 в группе контроль, OR=7,39, 95 CI%: 2,99-18,23, $p < 0,0001$). Оказалось,

что при курении в семье оба маркера у женщин были ассоциированы с еще большим риском ВВП у плода, чем обнаружено во всей выборке. Для соотношения уровней IgA-БП/IgA-ПГ значение OR было 24,87 (95 CI%: 9,99-64,69, $p < 0,0001$), для генотипа *GSTT1* «0/0» - OR=6,79 (95 CI%: 2,43-18,93, $p < 0,0002$).

Обсуждение. Изучали связь между IgA и IgG АТ к БП и стероидным гормонам (E2 и ПГ) в сыворотке крови и полиморфизмом в генах ферментов биотрансформации ксенобиотиков у женщин во время беременности с риском развития ВВП у плода.

Выявлены прямые значимые корреляционные связи между уровнями IgA и IgG АТ к БП и стероидными гормонами (E2 и ПГ), с одной стороны, а также между IgA и IgG АТ к E2 и ПГ, с другой стороны, у женщин с ВВП у плода и в контрольной группе. Перекрестная реактивность БП, E2 и ПГ, обеспечивающая их связывание с одним и тем же АТ, может объясняться сходством их химической структуры, а также способностью БП имитировать действие стероидов [2, 12]. Наши результаты согласуются с данными литературы, подобные корреляции были выявлены у женщин с репродуктивной патологией [13] и раком молочной железы (РМЖ) [14]. Поэтому для проведения дальнейшего исследования среди коррелирующих друг с другом IgA и IgG АТ к БП, E2 и ПГ нам потребовалось выбрать какой-то один маркер.

Сравнительный анализ показал, что наилучшим маркером было соотношение уровней IgA-БП/IgA-ПГ (см. табл. 4). Данный маркер имел хорошую диагностическую эффективность (AUC=0,70), чувствительность и специфичность теста составили 0,65 и 0,62, соответственно. В нашей выборке пороговым значением для соотношения уровней IgA-БП/IgA-ПГ в сыворотке крови у женщин было 1,5 UE. 65% беременных женщин с ВВП у плода имели соотношение уровней IgA-БП/IgA-ПГ выше 1,5 UE. Соотношение уровней IgA-БП/IgA-ПГ в сыворотке крови женщи-

Таблица 5

Ассоциации полиморфных локусов генов ферментов детоксикации ксенобиотиков у женщин с риском ВПП у плода (аддитивная модель наследования)

Фактор	Группа		OR [95 CI%], <i>p</i>
	ВПП N (%)	Контроль N (%)	
<i>CYP1A1</i> *2A rs4646903 T/T T/C C/C Аллель риска C <i>P</i> (HWE)	199 (87,3) 28 (12,3) 1 (0,4) 30 (6,6) 0,98	222 (85,0) 37 (14,2) 2 (0,8) 41 (7,8) 0,73	0,51
<i>CYP1A2</i> *1F rs762551 A/A A/C C/C Аллель риска C <i>P</i> (HWE)	134 (57,8) 87 (37,5) 11 (4,7) 109 (23,5) 0,51	147 (55,5) 101 (38,1) 17 (6,4) 135 (25,5) 0,95	0,52
<i>CYP1B1</i> rs1056836 G/G C/G C/C Аллель риска C <i>P</i> (HWE)	72 (32,0) 120 (53,3) 33 (14,7) 186 (41,3) 0,13	90 (34,4) 132 (50,6) 39 (15,0) 210 (40,2) 0,40	0,64
<i>CYP2D6</i> *3 rs35742686 A/A A/del del/del Аллель риска del <i>P</i> (HWE)	220 (97,8) 5 (2,2) - 5 (1,1) 0,86	256 (98,1) 5 (1,9) - 5 (0,9) 0,87	0,84
<i>CYP2D6</i> *4 rs3892097 G/G A/G A/A Аллель риска A <i>P</i> (HWE)	161 (71,6) 55 (24,4) 9 (4,0) 73 (16,2) 0,13	187 (71,6) 72 (27,6) 2 (0,8) 76 (14,6) 0,07	0,86
<i>GSTM1</i> (del) rs366631 «+» «0/0»	124 (53,7) 107 (46,3)	138 (52,1) 127 (47,9)	0,89
<i>GSTT1</i> (del) rs17856199 «+» «0/0»	150 (64,9) 81 (35,1)	211 (79,6) 54 (20,4)	2,12 [1,41-3,21], 0,0003
<i>GSTP1</i> rs1695 A/A A/G G/G Аллель риска G <i>P</i> (HWE)	108 (46,9) 100 (43,5) 22 (9,6) 144 (31,3) 0,86	124 (47,9) 107 (41,3) 28 (10,8) 163 (31,5) 0,49	0,33
<i>NAT2</i> *05 rs1801280 T/T T/C C/C Аллель риска C <i>P</i> (HWE)	83 (36,7) 106 (46,9) 37 (16,4) 180 (9,8) 0,74	99 (38,2) 115 (44,4) 45 (17,4) 205 (39,6) 0,24	0,43
<i>NAT2</i> *06 rs1799930 G/G G/A A/A Аллель риска A <i>P</i> (HWE)	102 (45,7) 99 (44,4) 22 (9,9) 143 (32,1) 0,77	135 (51,9) 103 (39,6) 22 (8,5) 147 (28,3) 0,70	0,17
<i>NAT2</i> *07 rs1799931 G/G G/A A/A Аллель риска A <i>P</i> (HWE)	197 (87,9) 27 (12,1) - 27 (6,0) 0,33	222 (85,1) 37 (14,2) 2 (0,7) 41 (7,9) 0,73	0,98

Примечание. *P*(HWE) – уровень статистической значимости для равновесия по Харди-Вайнбергу; ОШ – отношение шансов; 95% ДИ- доверительный интервал; критерий сравнения – пошаговая логистическая регрессия. Жирным шрифтом выделен статистически значимый маркер.

ны может отражать состояние иммунохимического гомеостаза низкомолекулярных ксено- и эндобиотиков. Гормоноподобные ксенобиотики уступают в активности эндогенным стероидным гормонам. В то же время их длительное воздействие вместе с другими ксенобиотиками может способствовать эндокринным нарушениям у женщины за счет конкуренции с половыми гормонами, взаимодействия с рецепторами эстрогенов и изменения скорости продукции половых гормонов [2, 6]. По данным литературы БП может влиять на метаболизм эстрогенов, изменяя их концентрации и концентрации их метаболитов в органах-мишенях [15]. Ранее у обследуемых нами женщин были

обнаружены корреляции АТ к Е2 и ПГ и АТ к БП с увеличенной концентрацией Е2, с одной стороны, и сниженной концентрацией ПГ в сыворотке крови, с другой стороны [16].

Как и многие ПАУ, БП может активировать экспрессию целого ряда генов ферментов биотрансформации ксенобиотиков, эти гены также отвечают за механизм окисления стероидов в организме человека [15]. Для анализа ассоциаций с риском ВПП у плода были выбраны полиморфные локусы в генах *CYP1-2*, *GST* и *NAT2* у матери, исходя из их функциональной значимости (ассоциация с продукцией фермента, влияние на уровень экспрессии гена и т.д., табл. 7).

Таблица 6

Ассоциации соотношения уровней IgA-БП/IgA-ПГ и полиморфизма в генах ферментов детоксикации ксенобиотиков у женщин с риском ВПП у плода

Предиктор (показатель риска)	OR	95 CI%	p
Уровень IgA-БП/IgA-ПГ (>1,5 UE)	4,70	2,67-8,26	<0,0001
rs17856199 <i>GSTT1</i> (генотип «0/0»)	3,32	1,79-6,13	0,0001

Примечание. OR – отношение шансов; 95 CI% - доверительный интервал; приведены только значимые показатели; критерий сравнения - пошаговая логрегессия.

Таблица 7

Функциональная значимость полиморфных локусов генов ферментов биотрансформации

Стадия биотрансформации	Полиморфные локусы	Функциональный эффект
I	rs4646903 (T3801C, MspI, *2A) в экзоне 7 гена <i>CYP1A1</i> , хромосома 15q24.1	Высокая индуцибельность фермента [17]
	rs762551 (-163C>A, *1F) в интроне 1 гена <i>CYP1A2</i> , хромосома 15q22	Высокая индуцибельность и активность фермента [17]
	rs1056836 (4326 C>G, Leu432Val, *3) в экзоне 3 гена <i>CYP1B1</i> , хромосома 2p22-p21	Увеличение каталитической активности фермента [17]
	rs35742686 (A2549del, *3) в экзоне 5 гена <i>CYP2D6</i> rs3892097 (G1846A, *4) <i>CYP2D6</i> , хромосома 22q13.1	Функционально неактивные ферменты, «медленные» метаболизеры [7]
II	rs366631 ген <i>GSTM1-0(del)</i> , хромосома 1p13.3	Отсутствие мРНК и белкового продукта [17]
	rs17856199 ген <i>GSTT1-0(del)</i> , хромосома 22q11.2	Отсутствие активности фермента [17]
	rs1695 (c.313 A>G, Ile105Val) в экзоне 5 гена <i>GSTP1</i> , хромосома 11q13	Повышенная каталитическая активность фермента [17]
	rs1801280 (c.341T>C, *05)	Медленный тип ацетилирования [17]
	rs1799930 (c.590G>A, *06)	
	rs1799931 (c.857G>A, *07)	
	ген <i>NAT2</i> , хромосома 8p23	

Обнаружены ассоциации изучаемых полиморфных локусов генов *CYP1-2*, *GST* и *NAT2* с риском патологии у людей [18], в том числе с патологией беременности [19]. В нашем исследовании изучаемые материнские полиморфные локусы генов *CYP1-2*, *GST* (*M1,P1*) и *NAT2* самостоятельно не вносили значимого эффекта в предрасположенность к ВПП у плода. Вероятно, в зависимости от специфичности субстрата может меняться степень риска, связанная с геном и его продуктом [20]. В то же время полиморф-

ный локус *GSTT1-0* (del, rs17856199) у женщин влиял на предрасположенность к ВПП у плода. Обнаружена ассоциация материнского генотипа *GSTT1* «0/0» с риском ВПП у плода (таблица 5).

Экспрессия гена *GSTT1* у людей является тканеспецифичной, кодируемые им ферменты выявлены в эритроцитах, более низкая их продукция была найдена в печени и легких [21, 22]. В плаценте они не обнаружены в течение всей беременности [23]. Ферменты *GSTT1* отвечают за детоксикацию более опасных

для клетки химических канцерогенов (1,3-бутадиен, дигалоалкены, стирен-7,8-оксид, оксид этилена), связываясь с глутатионом, а также обеспечивают глутатионзависимую антиоксидантную защиту от перекисного окисления липидов и активных форм кислорода [21, 22]. Делеция в структурной части гена у носителей генотипа *GSTT1* «0/0» связана с отсутствием активности ферментов *GSTT1* и ассоциирована со многими болезнями [18]. Выявленная нами ассоциация материнского генотипа *GSTT1* «0/0» с риском ВПР у плода согласуется с данными популяционно-эпидемиологических исследований относительно его связи с патологией беременности [24].

Мы предположили, что контролируемый генами дисбаланс в системе ферментов детоксикации может опосредованно влиять на иммунохимический гомеостаз низкомолекулярных ксено- и эндобиотиков у женщин, вынашивающих плод с ВПР. С помощью модели пошаговой логрегрессии оценили взаимное влияние материнского соотношения уровней IgA-БП/IgA-ПГ и полиморфных локусов генов ферментов биотрансформации на риск ВПР у плода. Оказалось, что основными значимыми предикторами, ассоциированными с высоким риском ВПР у плода, были соотношение материнских уровней IgA-БП/IgA-ПГ >1,5УЕ и генотип *GSTT1* «0/0» (таблица 6), причем при курении в семье риск значительно увеличивался.

Как показали клинические исследования, гормонзависимые заболевания органов репродуктивной системы, сопровождающиеся повышенной продукцией эстрогенов, пролактина и дефицитом ПГ связаны с накоплением первичных и промежуточных продуктов липопероксидации, активности супероксиддисмутазы и дисбалансом в системе глутатиона [25]. По данным молекулярно-эпидемиологических исследований у женщин генотип *GSTT1* «0/0» ассоциирован с высокой предрасположенностью к синдрому поликистозных яичников [26] и эндометриозу [24]. Снижение функции глутатионзависимого восстановления, сопровождаемое компенсаторным повышением общей окислительной активности сыворотки крови, может стимулировать образование трофобластных белков (хорионического гонадотропина и эстрогенов) [25, 27], способствовать нарушению плацентации, эндотелиальной дисфункции и системному воспалению [28].

Во время беременности E2 способен самостоятельно влиять на уровень сывороточных АТ, модулируя активность антителообразующих клеток, и уровень секреторного IgA репродуктивного тракта [4]. В некоторых случаях сывороточные АТ могут активировать систему комплемента, что приводит к сборке мембрано-атакующего комплекса, порообразованию, и комплемент-опосредованному лизису [29]. Обнаружена связь АТ к гонадотропным и стероидным гормонам у женщин с неблагоприятным исходом в циклах ЭКО [30], преждевременным разрывом плодных оболочек [13]. Поэтому наши результаты и данные литературы позволяют полагать, что дисбаланс в активности ферментов детоксикации и иммунохимическом гомеостазе ксено- и эндобиотиков могут быть одним из патогенетических звеньев нарушений в системе мать-плод, ве-

дущих к формированию ВПР у эмбриона/плода.

Компоненты сигаретного дыма могут действовать как эстрогены и усиливать активность эстрогенового рецептора, даже если он насыщен E2. Синергическое агонистическое действие компонентов сигаретного дыма на эстрогеновый рецептор даже при уровнях ниже пороговых несет потенциальный риск нарушений эндокринной системы, связанных с пассивным курением [12]. Мета-анализ у семейных пар с активным и пассивным курением во время беременности (125 исследований, 8 870 837 участников) показал, что при активном курении матери риск врожденных дефектов сердца у детей увеличивался на 25%, при пассивном курении матери - на 124% и при активном курении отца - на 74% по сравнению с некурящими семьями [20].

Заключение. Таким образом, наши результаты позволяют полагать, что дисбаланс в иммунохимическом гомеостазе низкомолекулярных ксено- и эндобиотиков и функционально ослабленный генотип *GSTT1* «0/0» у матери могут быть синергичными факторами риска ВПР у плода, действие которых усугубляется курением в семье. У женщин группы ВПР наблюдаются повышенные уровни соотношения IgA-БП/IgA-ПГ, при этом обнаружены прямые корреляционные связи между уровнями IgA и IgG АТ к БП и стероидным гормонам. Вероятным следствием образования АТ к БП и стероидным гормонам может быть нарушенная гормональная регуляция у женщин во время эмбриогенеза. Снижение функции глутатионзависимого восстановления может увеличивать риск развития патологии беременности. Полученные нами результаты могут быть полезными для ранней диагностики ВПР у плода в комплексе с известными инструментальными и лабораторными методами.

ЛИТЕРАТУРА

1. Нагорнева С.В., Прохорова В.С., Шелаева Е.В., Худовекова А.М. Анализ частоты выявления врожденных пороков развития у плодов за последние 5 лет (2013–2017). *Журнал акушерства и женских болезней*. 2018; 67(3): 44–8.
2. Червов В.О., Артымук Н.В., Данилова Л.Н. Гормоноподобные ксенобиотики и гинекологические проблемы. Обзор литературы. *Мать и дитя в Кузбассе*. 2018; 73(2): 20–6.
3. Pavanello S., Campisi M., Mastrangelo G., Hoxha M., Bollati V. The effects of everyday-life exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons on biological age indicators. *Environ Health*. 2020; 19(1):128. Doi: 10.1186/s12940-020-00669-9.
4. Ширишев С.В. Механизмы иммуноэндокринного контроля процессов репродукции. Том 2. Екатеринбург: УрО РАН; 2002.
5. Siemieniowicz K.J., Wang Yi., Marečková M., Nio-Kobayashi J., Fowler P.A., Rae M.T. et al. Early pregnancy maternal progesterone administration alters pituitary and testis function and steroid profile in male fetuses. *Sci. Rep.* 2020; 10(1): 21920. DOI: 10.1038/s41598-020-78976-x.
6. Куценко С.А. Основы токсикологии. СПб: Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова; 2002.
7. Табиханова Л.Э., Осипова Л.П., Чуркина Т.В., Воронина Е.Н., Филипенко М.Л. Полиморфизм генов *CYP1A1* и *CYP2D6* в популяциях бурят, телеутов и у русских Восточной Сибири. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2018; 22(2): 205-11. DOI: 10.18699/VJ18.348
8. Менжинская И.В., Ванько Л.В. Характеристика аутоантител к прогестерону у женщин с ранней потерей беременности. *Рос-*

- сийский аллергологический журнал. 2017; 14(1S): 90-3. DOI: 10.36691/RJA228.
9. Глушков А.Н., Поленок Е.Г., Мун С.А., Гордеева Л.А., Костянко М.В., Колпинский Г.И. и др. Антитела к химическим канцерогенам и половым стероидам и содержание эстрадиола и прогестерона в сыворотке крови женщин больных раком молочной железы и мужчин больных раком лёгкого. *Российский иммунологический журнал*. 2020; 23(1): 69–78. DOI: 10.15789/1028-7221-008-AST.
 10. Глушков А.Н., Поленок Е.Г., Гордеева Л.А., Мун С.А., Костянко М.В., Антонов А.В. и др. Иммунологический дисбаланс, генетический полиморфизм ферментов биотрансформации и рецепторы стероидных гормонов в опухоли у больных раком молочной железы. *Медицинская иммунология*. 2022; 24(4): 765-78. DOI: 10.15789/1563-0625-IIG-2493.
 11. Gordeeva L.A., Voronina E.N., Sokolova E.A., Ermolenko N.A., Gareeva Ju.V., Sutulina I.M. et al. Association *GSTT1*, *GSTM1*, and *GSTP1* (Ile105Val) genetic polymorphisms in mothers with risk of congenital malformations in their children in Western Siberia: a case-control study. *Prenatal Diagnosis*. 2013; 33(11): 1095-1101. DOI: 10.1002/pd.4204.
 12. Lin C.-Ju, Li L.-A. Estrogenicity of Major Organic Chemicals in Cigarette Sidestream Smoke Particulate Matter. *Atmosphere*. 2023; 14(4): 647. DOI: 10.3390/atmos14040647.
 13. Артымук Н.В., Елизарова Н.Н., Поленок Е.Г. Роль стероидных гормонов и химического канцерогена бензо(а)пирена в преждевременном разрыве плодных оболочек при недоношенной беременности. *Гинекология*. 2017; 19 (2): 55–8.
 14. Глушков А.Н. Иммуно-гормональный дисбаланс при химическом канцерогенезе. *Российский иммунологический журнал*. 2022; 25(1): 23–36. DOI: 10.46235/1028-7221-1091-ИИ.
 15. Lin S., Lin C-Ju, Hsieh D.P. H., Li L.-A. ER α phenotype, estrogen level, and benzo[a]pyrene exposure modulate tumor growth and metabolism of lung adenocarcinoma cells. *Lung Cancer*. 2012; 75(3): 285-92. DOI: 10.1016/j.lungcan.2011.08.010.
 16. Глушков А.Н., Красильникова К.С., Поленок Е.Г., Костянко М.В. Влияние антител к низкомолекулярным ксено- и эндобиотикам на содержание эстрадиола и прогестерона в сыворотке крови беременных женщин. *Известия Самарского научного центра Российской академии наук*. 2014; 16(2): 682-6.
 17. Ensembl [Internet]. EMBL-EBI: European Molecular Biology Laboratory (EU) and The Wellcome Trust Sanger Institute (GB); 2023. - Human (GRCh38.p13) [Cited 2023 Jun 6]; Available from: https://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Info/Index.
 18. Кучер А.Н. Ген-средовые взаимодействия как основа формирования здоровья. *Экологическая генетика*. 2017; 15(4): 19–32. DOI: 10.17816/ecogen15419-32.
 19. Kobayashi S., Sata F., Kishi R. Gene-environment interactions related to maternal exposure to environmental and lifestyle-related chemicals during pregnancy and the resulting adverse fetal growth: a review. *Environ. Health Prev. Med*. 2022; 27(0): 24. DOI: 10.1265/ehpm.21-00033.
 20. Гуляева Л.Ф., Вавилин В.А., Ляхович В.В. Ферменты биотрансформации ксенобиотиков в химическом канцерогенезе. Серия «Экология». Новосибирск: ГПНТБ СО РАН, Институт молекулярной биологии и биофизики СО РАН; 2000.
 21. Landi S. Mammalian class theta GST and differential susceptibility to carcinogens: a review. *Mutat. Res*. 2000; 463(3): 247-83. DOI: 10.1016/S1383-5742(00)00050-8.
 22. Кутлина Т.Г., Валова Я.В., Каримов Д.О., Мухаммадиева Г.Ф., Хуснутдинова Н.Ю., Смолянкин Д.А., и др. Анализ экспрессии генов *GSTT1* и *GSTM1* при токсическом гепатите в условиях эксперимента. *Известия Уфимского научного центра РАН*. 2018; 4(3): 70-4. DOI: 10.31040/2222-8349-2018-4-3-70-74.
 23. Сокова Е.А. Особенности системы биотрансформации лекарственных средств в фетоплацентарном комплексе. *Биомедицина*. 2008;(1): 14-25.
 24. Nakanishi G., Pita-Oliveira M., Bertagnolli L.S., Torres-Loureiro S., Scudeler M.M., Cirino H.S. Worldwide Systematic Review of *GSTM1* and *GSTT1* Null Genotypes by Continent, Ethnicity, and Therapeutic Area. *OMICS*. 2022; 26(10): 528-41. DOI: 10.1089/omi.2022.0090.
 25. Колесникова Л.И., Гребенкина Л.А., Даренская М.А., Власов Б.Я. Окислительный стресс как неспецифическое патогенетическое звено репродуктивных нарушений (обзор). *Бюллетень СО РАМН*. 2012; 32(1): 58-66.
 26. Alves M.M.C., Almeida M., Oliani António Hélio, Breitenfeld L., Ramalhinho A.C. Women with polycystic ovary syndrome and other causes of infertility have a higher prevalence of *GSTT1* deletion. *Reprod. Biomed. Online*. 2020; 41(5): 892-901. DOI: 10.1016/j.rbmo.2020.06.010.
 27. Jauniaux E., Poston L., Burton G.J. Placental-related diseases of pregnancy: involvement of oxidative stress and implications in human evolution. *Hum. Reprod. Update*. 2006; 12(6): 747–55. DOI: 10.1093/humupd/dml016.
 28. Жук Т.В., Яворская С.В., Востриков В.В. Ожирение, репродукция и окислительный стресс (обзор литературы). *Ожирение и метаболизм*. 2017; 14(4): 16-22. DOI: 10.14341/OMET2017416-22.
 29. Madki P., Tejasvi M.L.A., Paramkusam G., Ruheena K. Evaluation of serum immunoglobulins (IgG, IgA, IgM) and circulating immune complexes in oral precancer and cancer patients. *Glob. Med. Genet*. 2021; 8(3): 95-9. DOI: 10.1055/s-0041-1725157.
 30. Менжинская И.В., Безнощенко О.С., Сароян Т.Т., Корнеева И.Е., Ванько Л.В., Сухих Г.Т. Антитела к гормонам репродуктивной системы как возможный фактор риска неблагоприятного исхода в циклах экстракорпорального оплодотворения. *Акушерство и гинекология*. 2012; (2): 42-5.
 31. Zhao L., Chen L., Yang T., Wang L., Wang T., Zhang S., et al. Parental smoking and the risk of congenital heart defects in offspring: An updated meta-analysis of observational studies. *Eur. J. Prev. Cardiol*. 2020; 27(12): 1284-1293. DOI: 10.1177/2047487319831367.
-
- ## REFERENCES
1. Nagorneva S.V., Prokhorova V.S., Shelaeva E.V., Khudovceva A.M. The prevalence of congenital fetal anomalies for the past 5 years (2013–2017). *Zhurnal akusherstva i ginekologii*. 2018; 67(3): 44-48. DOI: 10.17816/JOWD67344-48. (in Russian)
 2. Artyumuk N.V., Chervov V.O., Danilova L.N. Hormon-like xenobiotics and gynecological problem. Literature review. *Mat' i ditya v Kuzbasse*. 2018; 73(2): 20-6. (in Russian)
 3. Pavanello S., Campisi M., Mastrangelo G., Hoxha M., Bollati V. The effects of everyday-life exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons on biological age indicators. *Environ Health*. 2020; 19(1):128. DOI: 10.1186/s12940-020-00669-9.
 4. Shirshov S.V. Mechanisms of immunoendocrine control of reproductive processes [Mekhanizmy immunoendokrinnogo kontrolya protsessov reproduktivnoy. Tom 2]. Ekaterinburg: UrO RAN; 2002. (in Russian)
 5. Siemieniowicz K.J., Wang Yi., Marečková M., Nio-Kobayashi J., Fowler P.A., Rae M.T., et al. Early pregnancy maternal progesterone administration alters pituitary and testis function and steroid profile in male fetuses. *Sci. Rep*. 2020; 10(1): 21920. DOI: 10.1038/s41598-020-78976-x.
 6. Kutsenko S.A. Fundamentals of toxicology [Osnovy toksikologii]. St. Petersburg: Voenno-meditsinskaya akademiya im. S.M. Kirov; 2002. (in Russian)
 7. Tabikhanova L.E., Osipova L.P., Churkina T.V., Voronina E.N., Filipenko M.L. Genetic polymorphism of CYP1A1 and CYP2D6 in populations of Buryats, Teleuts and Russians of Eastern Siberia. *Vavilovskiy zhurnal genetiki i selektsii*. 2018; 22(2):205-11. DOI: 10.18699/VJ18.348. (in Russian)
 8. Menzhinskaya I.V., Vanko L.V. Characteristics of autoantibodies to progesterone in women with early pregnancy loss. *Rossiyskiy allergologicheskiy zhurnal*. 2017; 14(1S): 90-93. DOI: 10.36691/RJA228. (in Russian)
 9. Glushkov A.N., Polenok E.G., Mun S.A., Gordeeva L.A., Kostyanko M.V., Kolpinsky G.I., et al. Antibodies specific to chemical carcinogens and sex steroids as well as serum estradiol and progesterone levels in females with breast cancer and lung cancer males. *Rossiyskiy immunologicheskiy zhurnal*. 2020; 23(1): 69–78. DOI: 10.15789/1028-7221-008-AST. (in Russian)
 10. Glushkov A.N., Polenok E.G., Gordeeva L.A., Mun S.A., Kostyanko M.V., Antonov A.V. et al. Immunological imbalance, gene polymorphism of biotransformation enzymes, and steroid hormone receptors in tumors in breast cancer patients. *Meditsinskaya Immunologiya*. 2022; 24(4): 765-78. DOI: 10.15789/1563-0625-IIG-2493. (in Russian)

11. Gordeeva L.A., Voronina E.N., Sokolova E.A., Ermolenko N.A., Gareeva Yu.V., Sutulina I.M. et al. Association *GSTT1*, *GSTM1*, and *GSTP1* (Ile105Val) genetic polymorphisms in mothers with risk of congenital malformations in their children in Western Siberia: a case-control study. *Prenatal Diagnosis*. 2013; 33(11): 1095-1101. DOI: 10.1002/pd.4204.
12. Lin C.-Ju, Li L.-A. Estrogenicity of Major Organic Chemicals in Cigarette Sidestream Smoke Particulate Matter. *Atmosphere*. 2023; 14(4): 647. DOI: 10.3390/atmos14040647.
13. Artimuk N.V., Elizarova N.N., Polenok E.G. The role of steroid hormones and chemical carcinogen benzo(a)pyrene in premature rupture of membranes in preterm pregnancy. *Ginekologiya*. 2017; 19(2): 55–8. (in Russian)
14. Glushkov A.N. Immune-hormonal imbalance in chemical carcinogenesis. *Rossiyskiy Immunologicheskiy Zhurnal*. 2022; 25(1): 23-36. DOI: 10.46235/1028-7221-1091-IHI. (in Russian)
15. Lin S., Lin C.-Ju, Hsieh D.P. H., Li L.-A. ER α phenotype, estrogen level, and benzo[a]pyrene exposure modulate tumor growth and metabolism of lung adenocarcinoma cells. *Lung Cancer*. 2012; 75(3): 285-92. DOI: 10.1016/j.lungcan.2011.08.010.
16. Glushkov A.N., Krasilnikova K.S., Polenok E.G., Kostyanko M.V. Influence of antibodies to low-molecular xeno- and endobiotics on estradiol and progesterone maintenance in blood serum of pregnant women. *Izvestiya Samarskogo nauchnogo tsentra Rossiyskoy akademii nauk*. 2014; 16(2): 682-6. (in Russian)
17. Ensembl [Internet]. EMBL-EBI: European Molecular Biology Laboratory (EU) and The Wellcome Trust Sanger Institute (GB). 2023; Human (GRCh38.p13) [Cited 2023 Jun 6]; Available from: https://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Info/Index.
18. Kucher A.N. Gene-environment interactions as the basis of health formation. *Ekologicheskaya genetika*. 2017; 15(4):19-32. DOI: 10.17816/ecogen15419-32. (in Russian)
19. Kobayashi S., Sata F., Kishi R. Gene-environment interactions related to maternal exposure to environmental and lifestyle-related chemicals during pregnancy and the resulting adverse fetal growth: a review. *Environ. Health Prev. Med*. 2022; 27(0): 24. DOI: 10.1265/ehpm.21-00033.
20. Gulyaeva L.F., Vavilin V.A., Lyakhovich V.V. Xenobiotic biotransformation enzymes in chemical carcinogenesis [Fermenty biotransformatsii ksenobiotikov v khimicheskom kantserogeneze]. Series «Ecology». Novosibirsk: GPNTB SO RAN, Institut molekulyarnoy biologii i biofiziki SO RAMN; 2000. (in Russian)
21. Landi S. Mammalian class theta GST and differential susceptibility to carcinogens: a review. *Mutat. Res*. 2000; 463(3): 247-83. DOI: 10.1016/s1383-5742(00)00050-8.
22. Kutlina T.G., Valova Ya.V., Karimov D.O., Mukhammadiyeva G.F., Khusnutdinova N.Yu., Smolyankin D.A. et al. Analysis of expression of GSTT and GSTM genes in toxic hepatitis in experimental conditions. *Izvestiya Ufimskogo nauchnogo tsentra RAN*. 2018; 4(3): 70–4. DOI: 10.31040/2222-8349-2018-4-3-70-74. (in Russian)
23. Sokova E.A. Particularities of human grud-metabolizing system in fetoplacental complex. *Biomeditsina*. 2008; (1): 14-25. (in Russian)
24. Nakanishi G., Pita-Oliveira M., Bertagnolli L.S., Torres-Loureiro S., Scudeler M.M., Cirino H.S. Worldwide Systematic Review of *GSTM1* and *GSTT1* Null Genotypes by Continent, Ethnicity, and Therapeutic Area. *OMICS*. 2022; 26(10): 528-541. DOI: 10.1089/omi.2022.0090.
25. Kolesnikova L.I., Grebenkina L.A., Darenskaya M.A., Vlasov B.Ya. Oxidative stress as nonspecific pathogenetic link of reproductive disorders (systematic review). *Byulleten' SO RAMN*. 2012; 32(1): 58-66. (in Russia)
26. Alves M.M.C., Almeida M., Oliani António Hélio, Breitenfeld L., Ramalhinho A.C. Women with polycystic ovary syndrome and other causes of infertility have a higher prevalence of *GSTT1* deletion. *Reprod. Biomed. Online*. 2020; 41(5): 892-901. DOI: 10.1016/j.rbmo.2020.06.010.
27. Jauniaux E., Poston L., Burton G.J. Placental-related diseases of pregnancy: involvement of oxidative stress and implications in human evolution. *Hum. Reprod. Update*. 2006; 12(6): 747–55. DOI:10.1093/humupd/dml016.
28. Zhuk T.V., Yavorskaya S.D., Vostrikov V.V. Obesity, reproduction and oxidative stress (literature review). *Ozhirenie i metabolizm*. 2017; 14(4):16-22. DOI: 10.14341/OMET2017416-22. (in Russian)
29. Madki P., Tejasvi M.L.A., Paramkusam G., Ruheena K. Evaluation of serum immunoglobulins (IgG, IgA, IgM) and circulating immune complexes in oral precancer and cancer patients. *Glob. Med. Genet*. 2021; 8(3): 95-9. DOI: 10.1055/s-0041-1725157.
30. Menzhinskaya I.V., Beznoshchenko O.S., Saroyan T.T., Korneyeva I.E., Vanko L.V., Sukhikh G.T. Antibodies to reproductive hormones as a possible risk factor for poor outcome of in vitro fertilization cycles. *Akusherstvo i ginekologiya*. 2012; (2): 42-5. (in Russian)
31. Zhao L., Chen L., Yang T., Wang L., Wang T., Zhang S., et al. Parental smoking and the risk of congenital heart defects in offspring: An updated meta-analysis of observational studies. *Eur. J. Prev Cardiol*. 2020; 27(12): 1284-93. DOI: 10.1177/2047487319831367.

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2023

Гимранова И.А., Хакимова Л.Р., Акмалова Г.М., Газизуллина Г.Р.

СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ ЗАБОЛЕВАНИЙ ПАРОДОНТА: ВОЗМОЖНОСТИ И ПЕРСПЕКТИВЫ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, 450000, г. Уфа, Россия

Микробиом полости рта имеет большое значение при заболеваниях пародонта. Микроорганизмы, образующие зубной налет, являются основной причиной пародонтита. Быстрая колонизация в поддесневой области может радикально изменить клиническое состояние пародонта. Идентификация состава биопленок ротовой полости и понимание сложных взаимосвязей, в которых участвуют микроорганизмы, факторы окружающей среды и состояние здоровья человека, позволяют улучшить диагностику, целенаправленную терапию пациентов с пародонтитом и прогнозирование течения заболевания. Методы молекулярной диагностики все больше отодвигают идентификацию пародонтопатогенов микробиологическими исследованиями. Так как имеют значительные преимущества такие, как быстрое и более точное получение результатов, способность обнаруживать и идентифицировать все микроорганизмы в биопленках полости рта, включая некультивируемые виды, показывая сложность микробиома полости рта и обнаруживая появление устойчивости к антибиотикам у патогенных микроорганизмов. В обзоре описаны следующие методы: культивирование пародонтопатогенов, полимеразная цепная реакция (ПЦР), полимеразная цепная реакция в реальном времени (ПЦР в реальном времени), изотермическая петлевая амплификация (LAMP), секвенирование гена 16S рРНК, секвенирование следующего поколения (NGS) и микрочипы с использованием метода гибридизации. Описаны преимущества и недостатки методов в исследовании пародонтопатогенов. Перечисленные методы позволяют быстро обнаруживать даже небольшие количества бактерий, присутствующие в диагностическом материале, и оказываются особенно полезными для обнаружения микроорганизмов, которые трудно или невозможно вырастить в бактериологических лабораториях.

Ключевые слова: пародонтит, диагностика; *Porphyromonas gingivalis*; *Treponema denticola* и *Tannerella forsythia*; ПЦР; секвенирование; NGS-секвенирование.

Для цитирования: Гимранова И.А., Хакимова Л.Р., Акмалова Г.М., Газизуллина Г.Р.

Современные методы диагностики заболеваний пародонта: возможности и перспективы (обзор литературы). *Клиническая лабораторная диагностика*. 2023; 68 (9): 570-577. DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2023-68-9-570-577>

Для корреспонденции: Гимранова Ирина Анатольевна, канд. мед. наук, и.о. зав. каф. фундаментальной и прикладной микробиологии; e-mail: mia8408@mail.ru

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Поступила 02.05.2023

Принята к печати 30.05.2023

Опубликовано 08.09.2023

Gimranova I.A., Khakimova L.R., Akmalova G.M., Gazizullina G. R.

MODERN METHODS OF DIAGNOSIS OF PERIODONTAL DISEASES: OPPORTUNITIES AND PROSPECTS (REVIEW OF LITERATURE)

Bashkir State Medical University (BSMU), 450008, Ufa, Russia

The oral microbiome is of great importance in periodontal disease. Plaque forming microorganisms are the main cause of periodontitis. Rapid colonization in the subgingival region can radically change the clinical state of the periodontium. Identify the composition of oral biofilms and understand the complex relationships that involve microorganisms, environmental factors, and human health. All this makes it possible to improve the diagnosis, targeted therapy of patients with periodontitis and the prognosis of the course of the disease. Methods of molecular diagnostics increasingly postpone the identification of periodontopathogens by microbiological studies. Since there are significant advantages such as faster and more accurate results, the ability to detect and identify all microorganisms in oral biofilms, including non-culturable species, showing the complexity of the oral microbiome and detecting the emergence of antibiotic resistance in pathogenic microorganisms. The following methods are described in the review: cultivation of periodontal pathogens, polymerase chain reaction (PCR), real-time polymerase chain reaction (real-time PCR), isothermal loop amplification (LAMP), 16S rRNA gene sequencing, next generation sequencing (NGS), and microarrays with using the hybridization method. The advantages and disadvantages of methods in the study of periodontopathogens are described. These methods allow for the rapid detection of even small amounts of bacteria present in diagnostic material and are particularly useful for the detection of microorganisms that are difficult or impossible to grow in bacteriological laboratories.

Key words: periodontitis; diagnostics; *Porphyromonas gingivalis*; *Treponema denticola* and *Tannerella forsythia*; PCR; sequencing; NGS sequencing.

For citation: Gimranova I.A., Khakimova L.R., Akmalova G.M., Gazizullina G. R.

Modern methods of diagnosis of periodontal diseases: opportunities and prospects (review of literature). *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2023; 68 (9): 570-577 (in Russ.)

DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2023-68-9-570-577>

For correspondence: Gimranova I.A., PhD. Sci. Med., head Department of Fundamental and Applied Microbiology BSMU;

e-mail: mia8408@mail.ru

Information about authors:

Gimranova I.A., <https://orcid.org/0000-0002-6024-0191>;

Khakimova L.R., <https://orcid.org/0000-0003-0979-0283>;

Akmalova G.M., <https://orcid.org/0000-0002-8487-1879>;

Gazizullina G. R., <https://orcid.org/0009-0005-2508-7901>.

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

Acknowledgment. *The study had no sponsor support.*

Received 02.05.2023

Accepted 30.05.2023

Published 08.09.2023

Пародонтит. Микроорганизмы, живущие в симбиозе с людьми, имеют большое значение для здоровья организма человека и играют важную роль в патологических состояниях организма. Изменения в микробиоме способствуют патогенезу многих заболеваний и отражают состояние здоровья или болезни человека. Таким образом, мониторинг изменений в микробиоме являются многообещающим потенциально новым критерием в диагностике и прогнозировании заболеваний [1].

Заболевания пародонта – одна из наиболее актуальных и изучаемых проблем в стоматологии. Результаты исследования, проведенного научным объединением ВОЗ, демонстрируют, что уровень заболеваний пародонта находится на высоком уровне и эволюционирует в возрастной группе от 20 до 44 лет (65-95%) и в возрасте 15-19 лет (55-89%). В России распространенность заболеваний пародонта варьирует от 48,2% среди детей в возрасте 12 лет до 86,2% к 44 годам, а среди людей в возрасте 60-65 лет она достигает 100% [2]. Пародонтит – хроническое воспалительное заболевание, связанное с изменениями в поддесневой микробиоте. Тяжелое течение заболевания может привести к потере зубов и значительному снижению качества жизни пациента. Нарушение баланса в микробиоме ротовой полости вместе с факторами окружающей среды и наследственностью являются основными причинами, влияющими на возникновение и прогрессирование данного заболевания [3]. В начальной стадии пародонтита и при его прогрессировании патогенные бактерии колонизируют пародонтальный карман, образуют поддесневые биопленки, которые прикрепляются, в основном, к поверхности корня зуба, вызывая воспаление в тканях пародонта [4]. При тяжелых формах заболевания отмечается деструкция пародонтальных тканей, что приводит к прогрессирующей потере костной ткани и, в конечном счете, к подвижности и потере зубов. Инфекционный процесс при пародонтите вызывает воспалительную реакцию иммунной системы человека и обострение других хронических заболеваний [1]. Хотя болезнь может быть купирована, состояние пародонта необходимо постоянно контролировать после первоначального лечения потому, что болезнь может повторяться и прогрессировать без явных симптомов. Этиология данного заболевания до конца не ясна, и к нему могут привести хронические заболевания, такие как сахарный диабет, ожирение, синдром

приобретенного иммунодефицита и стресс, которые способствуют развитию воспаления пародонта. К примеру, избыточный уровень глюкозы в крови вызывает провоспалительный каскад при формировании заболевания [5]. Курение приводит к значительному сужению микрососудов, маскирующему клинические признаки кровоточивости при зондировании [6]. Ранее окклюзионная травма (повреждение опорного аппарата зуба вследствие воздействия жевательных сил) считалась основным фактором, приводящим к пародонтиту, что наблюдалось на моделях животных, но не определились доказательства такого явления у человека [7, 8].

Таким образом, традиционные, используемые клинические критерии для прогнозирования течения заболевания могут быть полезны, но они не могут адекватно предсказать взаимосвязь между начальными проявлениями и прогрессированием заболевания. Без надежного способа прогнозирования прогрессирования болезни, выявление больных, нуждающихся в лечении, возникает только после очевидных разрушений тканей.

Микробиом полости рта при пародонтите. Клинический диагноз заболеваний пародонта в значительной степени зависит от признаков, таких как потеря эпителиального прикрепления зуба, глубина зондирования кармана, кровоточивость при зондировании, индекс зубного налета, подвижность зуба, поражение фуркаций и рентгенологическая оценка костных структур. Однако, эти показатели не отображают текущее состояние болезни и не дают информацию об активности или риске развития заболевания [8]. Клиническая диагностика имеет свои ограничения и не позволяет врачам-клиницистам определить причину, патогенез или прогноз заболевания в случае запущенной стадии пародонтита. Поэтому считается, что использование доступных технологий, таких как молекулярный анализ может помочь в определении качественного и количественного состава пародонтальной микробиоты. Точное определение состава микробиома пародонтальных карманов может сыграть важную роль в процессе разработки эффективной и адекватной терапии [9].

В здоровом состоянии пародонта количество бактерий ротовой полости в среднем составляет около 10^9 , тогда как в случае пародонтита это количество превышает 10^{87} [10]. Оценка состава поддесневой биопленки микробиологическими и молекулярными методами выявили связь с большим количеством

микроорганизмов, некоторые из которых способны разрушать ткани пародонта [11]. Еще в 1998 году S.S. Socransky и соавт. [12] сгруппировали бактерии на несколько подклассов, основанных на их патогенности и способности к колонизации в поддесневой области. Они предложили концепцию бактериальных комплексов, связанных с тяжестью пародонтита и разделили их на пять цветов: желтый, красный, зеленый, оранжевый и фиолетовый. Исследователи пришли к мнению, что первоначально непатогенные бактерии, принадлежащие к желтому, зеленому и фиолетовому комплексам, выступают инициаторами образования биопленок [13]. Однако было также обнаружено, что эти виды микроорганизмов придают адгезивные свойства бактериям из оранжевого комплекса, что может привести к созданию благоприятных условий для роста таких бактерий, как *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola* и *Tannerella forsythia*, которые относятся к красному комплексу и вызывают пародонтит различной степени тяжести. Кроме бактерий «красного комплекса» в пародонтальных карманах находят и *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, который отнесен к фиолетовому комплексу и связан с возникновением агрессивных форм воспаления пародонта, например, локализованный ювенильный пародонтит или резистентный к лечению пародонтит (рефрактерный пародонтит). Это грамотрицательные бактерии, серотипы А, В и С которых играют важную роль в быстром прогрессировании заболевания [14]. Другие комплексы имеют низкое или умеренное влияние на развитие пародонтита [12]. Среди многих других бактерий, участвующих в развитии болезни встречаются *Prevotella intermedia*, *Campylobacter rectus*, *Peptostreptococcus micros* и виды *Spirochetes* [15].

В отечественной классификации пародонтопатогены разделены на два порядка. Пародонтопатогены I порядка, такие как *P. gingivalis*, *A. actinomycetemcomitans* и *T. forsythia* способствуют быстрому прогрессированию заболевания, так как они обладают внутриклеточной формой жизни и содержатся в эпителии десен и тканях пародонта, а их факторы вирулентности приводят к разрушению тканей [4, 16]. С другой стороны, пародонтопатогены II порядка (*T. denticola*, *Fusobacterium nucleatum* и *Prevotella intermedia*) играют менее важную роль в процессе развития заболеваний пародонта. Однако, они могут образовывать ассоциации с *P. gingivalis* и *T. forsythia*, более патогенными видами бактерий, что способствует распространению воспаления в поддесневой области. Если у пациента обнаружена только *P. intermedia* это может указывать на начало воспалительного процесса, в то время как наличие ассоциаций с другими пародонтопатогенами свидетельствует о прогрессировании заболевания [17, 18].

Показано также, что различные вирусные агенты, такие как вирусы герпеса, принимают активное участие в процессе агрессивного пародонтита [19]. Кроме того, у лиц с первичным и приобретенным иммунодефицитом встречаются множество различных грибковых агентов, включая *Candida albicans*, которая играет немаловажную роль во взаимодействиях с

другими пародонтопатогенами, усиливающими клиническое течение заболевания [20, 21].

Методы диагностики пародонтопатогенов. Идеальный метод диагностики пародонтита должен позволять, во-первых, проводить скрининг микробиоты, во-вторых, прогнозировать течение заболевания, в-третьих, контролировать эффективность проводимой терапии [8].

В настоящее время происходит постепенный отход от анализа влияния конкретных патогенов на развитие заболеваний пародонта в сторону анализа всего микробиома. Для изучения роли бактерий в развитии пародонтита требуются новые методы диагностики, позволяющие обнаруживать все более сложные взаимосвязи микроорганизмов, факторы внешней среды и состояние здоровья человека. Большинство видов микроорганизмов невозможно культивировать в бактериологических лабораториях, так как бактерии полости рта не могут воссоздавать свои трофические взаимосвязи друг с другом, преобладающие в их естественной среде. Поэтому большинство видов не обнаруживаются стандартными микробиологическими методами [22, 23].

Культивирование микроорганизмов. Долгое время методы культивирования считались золотым стандартом в диагностике пародонтопатогенов. Как и любые способы диагностики, традиционные микробиологические методы имеют свои преимущества, но также и ряд ограничений. Большинство возбудителей, присутствующих в глубоких пародонтальных карманах, являются анаэробами и, соответственно, требуют специфические условия культивирования, условия отбора проб и транспортировки, несоблюдение строгих правил потенциально может привести к ошибочному диагностическому результату. К трудностям также относятся отбор подходящих сред для культивирования, низкая концентрация выделенных бактерий, длительные периоды роста бактерий и ожидания перед постановкой точного диагноза. Также микробиологический метод не позволяет дифференцировать до вида между близкородственными таксонами. Кроме того, данный метод не подходит для идентификации многих клинически значимых микроорганизмов, к примеру, *T. forsythia* [24]. Несмотря на большое количество недостатков, тем не менее, невозможно отказаться от данного метода, так как он применяется для определения чувствительности к антибиотикам, что имеет большую значимость в назначении антибактериальных препаратов для лечения пациентов. Таким образом, традиционные методы, основанные на культивировании, не совсем соответствуют требованиям современной стоматологии, но отказаться от них полностью не представляется возможным.

Полимеразная цепная реакция (ПЦР). Современная потребность в точности, быстрой идентификации и количественном определении пародонтальных патогенов требовали разработки других эффективных методов. Кроме микробиологического метода использовали метод проточной цитометрии, гибридизации ДНК-ДНК, иммунохимические анализы и другие. Однако данные методы имеют относитель-

но низкую специфичность и чувствительность при идентификации пародонтопатогенов [25]. Появление ПЦР привело к созданию более точного инструмента для идентификации общего количества патогенов за счет разработки видоспецифичных праймеров, которые амплифицируют только целевые последовательности [26]. Например, разработаны различные тест-системы ПЦР-диагностики для более точной и быстрой детекции множества пародонтопатогенов. Наиболее известная в нашей стране - отечественная тест-система «МультиДент-5» производства ООО «ГенЛаб» (Россия) для мультиплексной ПЦР с праймерами к пяти основным анаэробным пародонтопатогенам: *A. actinomycetemcomitans*, *T. forsythia*, *P. intermedia*, *P. gingivalis* и *T. denticola*, также используются «Комплекс Дентоскрин» и набор «ДНК Экспресс» для выделения ДНК из биологического материала и последующего анализа выделенной ДНК методом ПЦР [18, 27]. Немаловажно, что кроме способности обнаруживать анаэробные бактерии ротовой полости, ПЦР позволяет обнаружить ДНК жизнеспособных и нежизнеспособных клеток, тем самым обеспечивая более полную информацию о микробиоте рта, что дает возможность коррекции текущего состояния заболевания [8]. Однако для ПЦР тоже есть некоторые ограничения в виде ингибиторов ДНК-полимеразы, присутствующих в клинических образцах – гемоглобин, гепарин и этилендиаминтетрауксусная кислота (ЭДТА), спирты, детергенты и соли, присутствующие в процессе выделения ДНК, которые могут снижать эффективность реакции или даже тормозить её. Другим ограничением является потребность в дорогостоящем специализированном оборудовании хорошо оснащенных лабораториями [28].

За многие годы методика ПЦР претерпела множество модификаций, что позволило расширить ее возможности. Например, ОТ-ПЦР (обратная транскрипция) – метод для обнаружения молекул РНК в образце с заранее известным участком последовательности, комплементарным праймеру, ПЦР-ПДРФ (полиморфизм длины рестрикционных фрагментов) – реакция ПЦР в сочетании с рестрикционным анализом продуктов амплификации и другие. ПЦР в режиме реального времени (или количественная ПЦР, англ. *Real-time PCR*, *qPCR*, *qRT-PCR*) с видоспецифичными праймерами обеспечивает точную количественную оценку отдельных видов бактерий и их общее количество в образцах зубного налета. Этот метод позволяет определить, какие виды бактерий, образующие биопленку полости рта, являются доминирующими, что дает возможность применения эффективной противомикробной терапии. ПЦР в реальном времени используется для качественной и количественной оценки пародонтопатогенов зубного налета, содержимого пародонтальных карманов [29]. Примером применения данного метода служит использование в нашей стране набора Дентофлор (ООО «ДНК-Технология», Россия), который позволяет определить суммарное количество бактериальной 16S рДНК шести пародонтопатогенов (*A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *T. denticola*, *T. forsythia* и *C. albicans*) и

хромосомной ДНК человека [30]. Определение количества отдельных микроорганизмов позволяет получить более полное представление об экосистеме полости рта и выделить преобладание конкретных бактерий или их комплексы [23].

За счет всех вышеперечисленных преимуществ в современном мире метод ПЦР считается золотым стандартом для выявления этиологических факторов, участвующих в прогрессировании заболеваний пародонта [31, 32].

Изотермическая петлевая амплификация (LAMP). LAMP является распространенным методом для быстрой и чувствительной диагностики. Данный способ также можно считать наиболее перспективным для анализа в условиях, когда время и ресурсы ограничены, что идеально подходит для определения микробиоты пародонтальных карманов и определения эффективного лечения в стоматологических клиниках. В LAMP используются ДНК-полимеразы, отличающиеся цепь-вытесняющей активностью и 4-6 праймеров, чтобы обеспечить более специфическую реакцию. В конечном итоге в результате образуются специфические структуры из повторяющихся инвертированных последовательностей оригинальной ДНК-мишени, связанные вместе петлями одноцепочечной ДНК. Метод LAMP эффективно увеличивает количество ДНК в 10^9 - 10^{10} раз за 15-60 минут, благодаря использованию ДНК-полимераз с цепь-вытесняющей активностью, что обеспечивает высокую эффективность амплификации. В дополнение к этому, метод LAMP может использоваться для амплификации РНК, если в реакционную смесь добавляется обратная транскриптаза. Метод LAMP на микрочипе занимает от 15 минут до часа, что меньше, чем обычно требуется для ПЦР. Микросистемы для обоих методов чувствительны и специфичны, однако LAMP предпочтительнее благодаря изотермическому режиму реакций, который делает его более простым и доступным. Кроме того, разнообразие визуальных методов детектирования продуктов LAMP позволяет выбирать варианты, не требующие использования специального оборудования для детекции положительных и отрицательных результатов. Часто эти системы применяются для предварительного тестирования или быстрого мониторинга. Если необходим количественный анализ методом LAMP, требуются стандартные разведения или внутренние контроли. Однако, сложность мультиплексного анализа является ограничением метода LAMP, но благодаря иммобилизации праймеров в микроструктурах чипа, амплификация и детектирование разных фрагментов ДНК одновременно в разных камерах может быть осуществлена, используя один тот же интеркалирующий краситель [33]. В настоящее время существуют различные коммерческие наборы для идентификации *Escherichia coli* и *Listeria monocytogenes* методом LAMP [34]. Также данный метод применяется и для идентификации ДНК вирусов, таких как вирус простого герпеса человека (HSV), аденовирусы и другие, для обнаружения паразитов, например, токсоплазмы. Интересно использование данного метода для обна-

ружения генетически модифицированных продуктов путем сочетания LAMP с иммунохроматографией [8].

К преимуществам петлевой изотермической амплификации относится способность идентифицировать отдельные штаммы бактерий (по ДНК или из целых клеток) высокоспецифичным и быстрым способом посредством визуальной интерпретации результатов. Все это позволяет использовать метод LAMP в условиях стоматологических поликлиник, чтобы упростить и ускорить процессы диагностики заболеваний пародонта.

Секвенирование гена 16S рРНК. Еще одним методом молекулярной диагностики пародонтита является секвенирование консервативного гена 16S рРНК. Между последовательностями данного гена у разных бактерий существуют уникальные различия, которые позволяют идентифицировать анализируемые бактерии до рода или даже до вида [23]. Секвенирование на начальных этапах идет при помощи ПЦР с праймерами, подобранными к гену 16S рРНК. Затем продукт ПЦР секвенируется и полученные последовательности сравниваются с базами данных известных видов бактерий [22]. Первой глобальной базой данных, содержащей информацию о микроорганизмах полости рта была «HOMD» (Human Oral Microbiome Database). Там представлены данные почти о 700 видах бактерий, обитающих в ротовой полости человека. Около 49% из них имеют официальное название, 17% без названий и 34% считаются некультивируемыми фило типами, т.е. таксономическими единицами различного ранга: штаммы, виды, роды (www.homd.org). Инструменты HOMD позволяют сравнивать последовательность анализируемых бактерий с фенотипической, филогенетической и клинической информацией, доступной в базе данных. Предполагается, что если последовательность гена 16S рРНК совпадает не менее чем на 97% с известной последовательностью из базы данных, то можно отнести исследуемые бактерии к роду, а если совпадение на 99%, то можно отнести его и к определенному виду [23].

Также преимуществом секвенирования 16S рРНК является подбор узкоспецифичных праймеров для определенных групп или штаммов бактерий и возможность их амплификации из образцов материала. Это позволяет диагностировать инфекции, вызванные некультивируемыми бактериями. Недостатком метода является низкая эффективность в разделении близкородственных и сильно рекомбинируемых видов, например, виды из рода *Neisseria* и некоторые виды рода *Streptococcus*. Несмотря на это, секвенирование гена 16S рРНК позволило выявить более 300 видов бактерий, ранее не идентифицируемых стандартными методами культивирования [23].

С помощью секвенирования 16S рРНК определили частоту встречаемости *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *T. forsythia* и *T. denticola* [35]. Обнаружили бактерии, вызывающие пародонтит в других частях тела человека, где эти бактерии могут быть обнаружены в очаговых инфекциях [36]. Метод секвенирования гена, кодирующего 16S рРНК, может быть полезен и в диагностике эндопародонтальных

инфекций, так как определяет бактериальный состав в очаге поражения и позволяет определить источник инфекции [37]. Благодаря секвенированию возможно изучение состава всего микробиома полости рта с определением изменения под воздействиями различных факторов. Например, сравнить и изучить микробиом поддесневого зубного налета курильщиков и некурящих людей, связанный с воспалением вокруг зубных имплантатов [38].

Секвенирование нового поколения (NGS). В последние годы произошло значительное развитие технологий секвенирования ДНК. Массовое параллельное или глубокое секвенирование — это термины, обозначающие технологию секвенирования ДНК, которая произвела революцию в геномных исследованиях. Используя NGS, весь человеческий геном можно секвенировать в течение одного дня. Секвенирование следующего поколения нашло применение в выявлении и понимании биоразнообразия геномов вирусов, в том числе гриппа, ВИЧ и вирусного гепатита В [39]. Данный метод использовался при оценке изменений в составе микробиома поддесневой области у больных с пародонтитом после лечения, а также сравнивался с микробиомом пародонтальных карманов у курильщиков и некурящих людей [40]. NGS-секвенирование — отличный инструмент для изучения разнообразия биопленок, обнаруживаемых в ротовой полости человека [41]. Данный метод успешно используется в молекулярной диагностике воспаления пародонта, но требуется стандартизация метода [23].

Микрочипы с использованием метода гибридизации. Микрочипы с использованием метода гибридизации применяются для идентификации микроорганизмов и определения экспрессии генов. Они состоят из одноцепочечных зондов, связанных ковалентно со стеклянными или нейлоновыми поверхностями микросхемы. Для обнаружения специфичных фрагментов нуклеиновых кислот используются зонды в виде одноцепочечных фрагментов ДНК с известной последовательностью, продукты ПЦР или олигонуклеотиды. Зонды предназначены для гибридизации со специфическими последовательностями РНК или ДНК из тестируемого образца биологического материала. Последовательность зондов чаще всего выбирается из баз данных GeneBank или UniGene [23, 42].

Все коммерческие доступные наборы микрочипов имеют один механизм действия. После нанесения образца на поверхность чипа искомым одноцепочечным фрагментом нуклеиновой кислоты гибридизируется с комплементарным зондом. Образуются двухцепочечные фрагменты, которые регистрируются флуоресцентным, хемилюминесцентным или масс-спектрометрическими методами. Интенсивность сигнала, полученного от анализируемого образца, позволяет определить количество связанной нуклеиновой кислоты, и, таким образом, оценить количество микроорганизмов или уровень экспрессии генов в тестируемом материале [43]. Таким способом возможно определить агенты, связанные с вирулентностью микроорганизмов, например, гены устойчивости к антибиотикам. Микрочипы ДНК имеют неограни-

ченные возможности для обнаружения различных последовательностей ДНК. Они могут содержать от сотен до тысяч зондов на своей поверхности, а микрочипы с высокой плотностью содержат от тысяч до миллионов молекулярных зондов [43]. Коммерческие ДНК-чипы идентифицируют микроорганизмы биопленок при пародонтите. Микрочип для клинической пародонтальной диагностики ParoCheck® позволяет обнаруживать 10 видов ассоциированных бактерий с пародонтитом [44].

Заключение. Таким образом, биопленки в полости рта представляют собой сложные взаимодействия между сообществами микроорганизмов, и их состав имеет большое значение на течение заболеваний пародонта, что указывает на необходимость наиболее чувствительных, специфичных, быстрых методов диагностики. Современные методы молекулярной диагностики, применяемые в настоящее время, позволяют успешно исследовать микробиом полости рта, быстро обнаруживать пародонтопатогены, присутствующие в диагностическом биоматериале даже в небольших количествах, а также идентифицировать клинически значимые некультивируемые и труднокультивируемые виды микроорганизмов. Учитывая вышперечисленное, на сегодняшний день наиболее оптимальным является комбинация различных методов для каждого конкретного случая. Такой подход при этиологической диагностике больных пародонтитом позволяет успешно подбирать наиболее эффективные методы лечения, но необходимы дополнительные исследования по усовершенствованию, стандартизации и снижению стоимости описанных методов.

ЛИТЕРАТУРА

- Shi B., Chang M., Martin J., Mitreva M., Lux R., Klokkevold P., Sodergren E., Weinstock G.M., Naake S.K., Li H. Dynamic changes in the subgingival microbiome and their potential for diagnosis and prognosis of periodontitis. *mBio*. 2015; 6(1):e01926-14. DOI: 10.1128/mBio.01926-14.
- Корж В. И., Корж Д. В., Артеменко М. В. Ортопедическое лечение в системной концепции пародонтита. *Актуальные вопросы стоматологии: Сборник научных трудов, посвященный основателю кафедры ортопедической стоматологии КГМУ профессору Исааку Михайловичу Окману*. Казань: Казанский государственный медицинский университет; 2021: 620-4.
- Lamont R.J., Koo H., Hajishengallis G. The Oral Microbiota: Dynamic Communities and Host Interactions. *Nat. Rev. Microbiol.* 2018; 16:745–59.
- Царёв В.Н., Арутюнов С.Д., Балмасова И.П., Бабаев Э.А., Николаева Е.Н., Ипполитов Е.В., Ильина Е.Н., Габибов А.Г. Молекулярная диагностика пародонтита и метагеномный анализ микробиоты пародонта у пациентов с сахарным диабетом II типа. *Бактериология*. 2018; 3(2): 30–7. DOI: 10.20953/2500-1027-2018-2-30-37.
- Chapple I.L.C., Genco R. Diabetes and Periodontal Diseases: Consensus Report of the Joint EFP/AAP Workshop on Periodontitis and Systemic Diseases. *J. Periodontol.* 2013; 84: 106–12.
- Zhang Y., He J., He B., Huang R., Li M. Effect of Tobacco on Periodontal Disease and Oral Cancer. *Tob. Induc. Dis.* 2019; 17. DOI: 10.18332/tid/1061878.
- Fan J., Caton J.G. Occlusal Trauma and Excessive Occlusal Forces: Narrative Review, Case Definitions, and Diagnostic Considerations: Occlusal Trauma and Excessive Occlusal Forces. *J. Periodontol.* 2018; 89: 214–22.
- Lenkowski M., Nijakowski K., Kaczmarek M., Surdacka A. The Loop-Mediated Isothermal Amplification Technique in Periodontal Diagnostics: A Systematic Review. *J. Clin. Med.* 2021; 10: 1189. DOI: 10.3390/jcm10061189.
- Wolf D.L., Lamster I.B. Contemporary Concepts in the Diagnosis of Periodontal Disease. *Dental Clinics*. 2011; 55: 47–61.
- Chen C., Hemme C., Beleno J., Shi Z.J., Ning D., Qin Y., Tu Q., Jorgensen M., He Z., Wu L. et al. Oral Microbiota of Periodontal Health and Disease and Their Changes after Nonsurgical Periodontal Therapy. *ISME J.* 2018; 12: 1210–24.
- Deo P.N., Deshmukh R. Oral Microbiome: Unveiling the Fundamentals. *J. Oral Maxillofac. Pathol. JOMFP* 2019; 23: 122–8.
- Socransky S.S., Haffajee A.D., Cugini M.A., Smith C., Kent R.L. Microbial Complexes in Subgingival Plaque. *J. Clin. Periodontol.* 1998; 25: 134–44.
- Aruni, A.W., Dou, Y., Mishra, A., Fletcher H.M. The Biofilm Community: Rebels with a Cause. *Curr. Oral Health Rep.* 2015; 2: 48–56.
- Nørskov-Lauritsen N., Claesson R., Birkeholm J.A., Åberg C.H., Haubek D. Aggregatibacter Actinomycetemcomitans: Clinical Significance of a Pathobiont Subjected to Ample Changes in Classification and Nomenclature. *Pathogens*. 2019; 8: 243.
- Dahlen G., Basic A., Bylund J. Importance of Virulence Factors for the Persistence of Oral Bacteria in the Inflamed Gingival Crevice and in the Pathogenesis of Periodontal Disease. *J. Clin. Med.* 2019; 8: 1339.
- Балмасова И.П., Царёв В.Н., Янушевич О.О., Маев И.В., Мкртымян А.М., Арутюнов С.Д. Микроэкология пародонта. Взаимосвязь локальных и системных эффектов. М.: Практическая медицина; 2021.
- Царев В.Н., Николаева Е.Н., Ипполитов Е.В. Пародонтопатогенные бактерии – основной фактор возникновения и развития пародонтита. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. 2017; 5: 101-12. DOI: 10.36233/0372-9311-2017-5-101-112.
- Чуйкин С.В., Мавзютов А.Р., Чуйкин О.С., Акатьева Г.Г., Кучук К.Н. Исследование пародонтопатогенной микрофлоры методом полимеразной цепной реакции у детей с врожденной расщелиной неба и дефектом после уранопластики. *Стоматология детского возраста и профилактика*. 2022; 22(1): 19-28. DOI: 10.33925/1683-3031-2021-22-1-19-28.
- Slots J., Slots H. Periodontal Herpesvirus Morbidity and Treatment. *Periodontol.* 2000. 2019; 79: 210–20.
- Sztukowska M.N., Dutton L.C., Delaney C., Ramsdale M., Ramage G., Jenkinson H.F., Nobbs A.H., Lamont R.J. Community Development between Porphyromonas Gingivalis and Candida Albicans Mediated by InlJ and Als3. *MBio*. 2018; 9:e00202-18.
- Lourenço A.G., Ribeiro A.E.R.A., Nakao C., Motta A.C.F., Antonio L.G.L., Machado A.A., Komesu M.C. Oral Candida Spp Carriage and Periodontal Diseases in HIV-Infected Patients in Ribeirão Preto, Brazil. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*. 2017; 59:e29. DOI: 10.1590/S1678-9946201759029.
- Tomita S., Komiya-Ito A., Imamura K., Kita D., Ota K., Takayama S., Makino-Oi A., Kinumatsu T., Ota M., Saito A.: Prevalence of Aggregatibacter actinomycetemcomitans, Porphyromonas gingivalis and Tannerella forsythia in Japanese patients with generalized chronic and aggressive periodontitis. *Microb. Pathog.* 2013; 61-62: 11-5.
- Korona-Główniak I., Siwiec R., Berger M., Malm A., Szymańska J. Molecular diagnostics of periodontitis. *Postępy Hig Med Dosw (Online)*. 2017; 71(0):47-56. DOI: 10.5604/17322693.1229820. PMID: 28181911.
- Hiranmayi K.V., Sirisha K., Ramoji R.M., Sudhakar P. Novel Pathogens in Periodontal Microbiology. *J. Pharm. Bioallied Sci.* 2017; 9:155–63.
- Danišová O., Halánová M., Valenčáková A., Luptáková L. Sensitivity, Specificity and Comparison of Three Commercially Available Immunological Tests in the Diagnosis of Cryptosporidium Species in Animals. *Braz. J. Microbiol.* 2018; 49: 177–83.
- Kumawat R., Ganvir S., Hazarey V., Qureshi A., Purohit H. Detection of Porphyromonas Gingivalis and Treponema Denticola in Chronic and Aggressive Periodontitis Patients: A Comparative Polymerase Chain Reaction Study. *Contemp. Clin. Dent.* 2016; 7: 481.
- Царев В.Н., Николаева Е. Н., Ягодина Е. В., Трефилова Ю.А., Ипполитов Е.В. Молекулярные методы диагностики гингивита

- и пародонтита у ВИЧ-инфицированных пациентов. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2016; 61(1): 54-9.
28. Sidstedt M., Rådström P., Hedman J. PCR Inhibition in QPCR, DPCR and MPS—Mechanisms and Solutions. *Anal. Bioanal. Chem.* 2020; 412: 2009–23.
29. Gatto M.R., Montevicchi M., Paolucci M., Landini M.P., Checchi L.: Prevalence of six periodontal pathogens in subgingival samples of Italian patients with chronic periodontitis. *New Microbiol.* 2014; 37: 517-24.
30. Зорина О.А., Венедиктова В.А., Прокопьев В.В., Амхадова М.А. Изучение влияния пародонтопротекторов на состоянии пародонта в норме и при хроническом пародонтите. *Стоматология для всех*. 2016; 3: 34-9.
31. Choi H., Kim E., Kang J., Kim H.-J., Lee J.-Y., Choi J., Joo J.-Y. Real-Time PCR Quantification of 9 Periodontal Pathogens in Saliva Samples from Periodontally Healthy Korean Young Adults. *J. Periodontal Implant Sci.* 2018; 48: 261.
32. Arenas R.V.A., de Avila E.D., Nakano V., Avila-Campos M.J. Qualitative, Quantitative and Genotypic Evaluation of Aggregatibacter Actinomycetemcomitans and Fusobacterium Nucleatum Isolated from Individuals with Different Periodontal Clinical Conditions. *Anaerobe*. 2018; 52: 50–8.
33. Зубик А.Н., Рудницкая Г.Е., Евстапов А.А. Изотермическая петлевая амплификация LAMP в формате микроустройств (обзор). *Научное приборостроение*. 2021; 31(1): 3–43.
34. Lim H.S.Y., Zheng Q., Miks-Krajnik M., Turner M., Yu, H.-G. Evaluation of Commercial Kit Based on Loop-Mediated Isothermal Amplification for Rapid Detection of Low Levels of Uninjured and Injured Salmonella on Duck Meat, Bean Sprouts, and Fishballs in Singapore. *J. Food Prot.* 2015; 78: 1203–7.
35. Ramich T., Schacher B., Scharf S., Röhlke L., Arndt R., Eickholz P., Nickles K. Subgingival plaque sampling after combined mechanical and antibiotic nonsurgical periodontal therapy. *Clin. Oral Investig.* 2015; 19: 27-34.
36. Ding F., Lyu Y., Han X., Zhang H., Liu D., Hei W., Liu Y. Detection of periodontal pathogens in the patients with aortic aneurysm. *Chin. Med. J.* 2014; 127: 4114-8.
37. Fujii R., Muramatsu T., Yamaguchi Y., Asai T., Aida N., Suehara M., Moringa K., Furusawa M. An endodontic-periodontal lesion with primary periodontal disease: a case report on its bacterial profile. *Bull. Tokyo Dent. Coll.* 2014; 55: 33-7.
38. Moon J.H., Lee J.H., Lee J.Y. Subgingival microbiome in smokers and non-smokers in Korean chronic periodontitis patients. *Mol. Oral Microbiol.* 2015; 30: 227-41.
39. Radford A.D., Chapman D., Dixon L., Chantrey J., Darby A.C., Hall N. Application of next-generation sequencing technologies in virology. *J. Gen. Virol.* 2012; 93: 1853-68.
40. Schwarzberg K., Le R., Bharti B., Lindsay S., Casaburi G., Salvatore F., Saber M.H., Alonazian F., Slots J., Gottlieb R.A., Caporaso J.G., Kelley S.T. The personal human oral microbiome obscures the effects of treatment on periodontal disease. *PLoS One*. 2014; 9: e86708.
41. Shokralla S., Spall J.L., Gibson J.F., Hajibabaei M. Next-generation sequencing technologies for environmental DNA research. *Mol. Ecol.* 2012; 21: 1794-1805.
42. Столповский Ю.А., Кузнецов С.Б., Солоднева Е.В., Шумов И.Д. Новая система генотипирования крупного рогатого скота на основе технологии ДНК-микрочипов. *Генетика*. 2022; 58(8): 857-71. DOI: 10.31857/S0016675822080094.
43. Pozhitkov A.E., Beikler T., Flemmig T., Noble P.A. High-throughput methods for analysis of the human oral microbiome. *Periodontol. 2000*. 2011; 55: 70-86.
44. Topcuoglu N., Kulekci G. 16S rRNA based microarray analysis of ten periodontal bacteria in patients with different forms of periodontitis. *Anaerobe*. 2015; 35: 35-40.
- es in the subgingival microbiome and their potential for diagnosis and prognosis of periodontitis. *mBio*. 2015; 6(1):e01926-14. DOI: 10.1128/mBio.01926-14.
2. Korzh V. I., Korzh D. V., Artemenko M. V. Orthopedic treatment in the systemic concept of periodontitis. Actual issues of dentistry: Collection of scientific papers dedicated to the founder of the Department of Orthopedic Dentistry of KSMU, Professor Isaak Mikhailovich Oksman. Kazan': Kazanskiy gosudarstvennyi meditsinskiy universitet; 2021: 620-4. (in Russian)
3. Lamont R.J., Koo H., Hajishengallis G. The Oral Microbiota: Dynamic Communities and Host Interactions. *Nat. Rev. Microbiol.* 2018; 16: 745–59.
4. Tsarev V.N., Arutunov S.D., Balmasova I.P., Babaev E.A., Nikolaeva E.N., Ippolitov E.V., Ilina E.N., Gabibov A.G. Molecular diagnostic of periodontitis and metagenomic analysis of the periodontal microbiota in patients by type II diabetes mellitus. *Bakteriologiya*. 2018; 3(2): 30–7. DOI: 10.20953/2500-1027-2018-2-30-37. (in Russian)
5. Chapple I.L.C., Genco R. Diabetes and Periodontal Diseases: Consensus Report of the Joint EFP/AAP Workshop on Periodontitis and Systemic Diseases. *J. Periodontol.* 2013; 84: 106–12.
6. Zhang Y., He J., He B., Huang R., Li M. Effect of Tobacco on Periodontal Disease and Oral Cancer. *Tob. Induc. Dis.* 2019; 17. <http://dx.doi.org/10.18332/tid/1061878>. Kolenbrander P.E., Palmer R.J. Jr, Periasamy S., Jakubovics N.S. Oral multispecies biofilm development and the key role of cell-cell distance. *Nat. Rev. Microbiol.* 2010. 8: 471-80. DOI: 10.1038/nrmicro2381.
7. Fan J., Caton J.G. Occlusal Trauma and Excessive Occlusal Forces: Narrative Review, Case Definitions, and Diagnostic Considerations: Occlusal Trauma and Excessive Occlusal Forces. *J. Periodontol.* 2018; 89: 214–22.
8. Lenkowski M., Nijakowski K., Kaczmarek M., Surdacka A. The Loop-Mediated Isothermal Amplification Technique in Periodontal Diagnostics: A Systematic Review. *J. Clin. Med.* 2021; 10: 1189. DOI: 10.3390/jcm10061189.
9. Wolf D.L., Lamster I.B. Contemporary Concepts in the Diagnosis of Periodontal Disease. *Dental Clinics*. 2011; 55: 47–61.
10. Chen C., Hemme C., Beleno J., Shi Z.J., Ning D., Qin Y., Tu Q., Jorgensen M., He Z., Wu L. et al. Oral Microbiota of Periodontal Health and Disease and Their Changes after Nonsurgical Periodontal Therapy. *ISME J.* 2018; 12: 1210–24.
11. Deo P.N., Deshmukh R. Oral Microbiome: Unveiling the Fundamentals. *J. Oral Maxillofac. Pathol. JOMFP*. 2019; 23: 122–8.
12. Socransky S.S., Haffajee A.D., Cugini M.A., Smith C., Kent R.L. Microbial Complexes in Subgingival Plaque. *J. Clin. Periodontol.* 1998; 25: 134–44.
13. Aruni A.W., Dou Y., Mishra A., Fletcher H.M. The Biofilm Community: Rebels with a Cause. *Curr. Oral Health Rep.* 2015; 2: 48–56.
14. Nørskov-Lauritsen N., Claesson R., Birkeholm J.A., Åberg C.H., Haubek D. Aggregatibacter Actinomycetemcomitans: Clinical Significance of a Pathobiont Subjected to Ample Changes in Classification and Nomenclature. *Pathogens*. 2019; 8: 243.
15. Dahlen G., Basic A., Bylund J. Importance of Virulence Factors for the Persistence of Oral Bacteria in the Inflamed Gingival Crevice and in the Pathogenesis of Periodontal Disease. *J. Clin. Med.* 2019; 8: 1339.
16. Balmasova I.P., Tsarev V.N., Yanushevich O.O., Maev I.V., Mkrtyunyan A.M., Arutyunov S.D. Microecology of the periodontium. The relationship of occurrence and systemic effects. Moscow: Prakticheskaya meditsina; 2021. (in Russian)
17. Tsarev V.N., Nikolaeva E.N., Ippolitov E.V. Periodontopathogenic bacteria are the main factor in the occurrence and development of periodontitis. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2017; 5: 101-12. DOI: 10.36233/0372-9311-2017-5-101-112. (in Russian)
18. Chuykin S.V., Mavzyutov A.R., Chuykin O.S., Akat'yeva G.G., Kuchuk K.N. Study of periodontal pathogens by polymerase chain reaction in children with congenital cleft palate and a postoperative defect. *Stomatologiya detskogo vozrasta i profilaktika*. 2022; 22(1): 19-28. DOI: 10.33925/1683-3031-2021-22-1-19-28. (in Russian)
19. Slots J., Slots H. Periodontal Herpesvirus Morbidity and Treatment. *Periodontol. 2000*. 2019; 79: 210–20.
20. Sztukowska M.N., Dutton L.C., Delaney C., Ramsdale M., Ramage

REFERENCES

1. Shi B., Chang M., Martin J., Mitreva M., Lux R., Klokkevold P., Sodergren E., Weinstock G.M., Haake S.K., Li H. Dynamic chang-

- G., Jenkinson H.F., Nobbs A.H., Lamont R.J. Community Development between *Porphyromonas Gingivalis* and *Candida Albicans* Mediated by InJ and Als3. *MBio*. 2018; 9: e00202-18.
21. Lourenço A.G., Ribeiro A.E.R.A., Nakao C., Motta A.C.F., Antonio L.G.L., Machado A.A., Komesu M.C. Oral *Candida* Spp Carriage and Periodontal Diseases in HIV-Infected Patients in Ribeirão Preto, Brazil. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*. 2017; 59:e29. DOI: 10.1590/S1678-9946201759029.
22. Tomita S., Komiya-Ito A., Imamura K., Kita D., Ota K., Takayama S., Makino-Oi A., Kinumatsu T., Ota M., Saito A.: Prevalence of Aggregatibacter actinomycetemcomitans, Porphyromonas gingivalis and Tannerella forsythia in Japanese patients with generalized chronic and aggressive periodontitis. *Microb.Pathog*. 2013; 61-62: 11-5.
23. Korona-Główniak I., Siwiec R., Berger M., Malm A., Szymańska J. Molecular diagnostics of periodontitis. *Postepy Hig Med. Dosw* (Online). 2017; 71(0): 47-56. DOI: 10.5604/17322693.1229820. PMID: 28181911.
24. Hiranmayi K.V., Sirisha K., Ramoji R.M., Sudhakar P. Novel Pathogens in Periodontal Microbiology. *J. Pharm. Bioallied Sci*. 2017; 9:155-63.
25. Danišová O., Halánová M., Valenčáková A., Luptáková L. Sensitivity, Specificity and Comparison of Three Commercially Available Immunological Tests in the Diagnosis of *Cryptosporidium* Species in Animals. *Braz. J. Microbiol*. 2018; 49: 177-83.
26. Kumawat R., Ganvir S., Hazarey V., Qureshi A., Purohit H. Detection of *Porphyromonas Gingivalis* and *Treponema Denticola* in Chronic and Aggressive Periodontitis Patients: A Comparative Polymerase Chain Reaction Study. *Contemp. Clin. Dent*. 2016; 7: 481.
27. Tsarev V.N., Nikolaeva E.N., Yagodina E.V., Trefilova Yu.A., Ippolitov E.V. The molecular techniques of diagnostic of gingivitis and periodontitis in HIV-infected patients. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2016; 61(1): 54-9. (in Russian)
28. Sidstedt M., Rådström P., Hedman J. PCR Inhibition in QPCR, DPCR and MPS—Mechanisms and Solutions. *Anal. Bioanal. Chem*. 2020; 412: 2009-23.
29. Gatto M.R., Montevecchi M., Paolucci M., Landini M.P., Checchi, L.: Prevalence of six periodontal pathogens in subgingival samples of Italian patients with chronic periodontitis. *New Microbiol*. 2014; 37: 517-24.
30. Zorina O.A., Venediktova V.A., Prokop'ev V.V., Amkhadova M.A. Study of the influence of periodontal protectors on the state of periodontium in normal and chronic periodontitis. *Stomatologiya dlya vseh*. 2016; 3: 34-9. (in Russian)
31. Choi H., Kim E., Kang J., Kim H.-J., Lee J.-Y., Choi J., Joo J.-Y. Real-Time PCR Quantification of 9 Periodontal Pathogens in Saliva Samples from Periodontally Healthy Korean Young Adults. *J. Periodontal Implant Sci*. 2018; 48: 261.
32. Arenas R.V.A., de Avila E.D., Nakano V., Avila-Campos M.J. Qualitative, Quantitative and Genotypic Evaluation of Aggregatibacter Actinomycetemcomitans and Fusobacterium Nucleatum Isolated from Individuals with Different Periodontal Clinical Conditions. *Anaerobe*. 2018; 52: 50-8.
33. Zubik A. N., Rudnitskaya G. E., Evstrapov A. A. Isothermal loop amplification of LAMP in microdevice format (review). *Nauchnoye priborostroyeniye*. 2021; 31(1): 3-43. (in Russian)
34. Lim H.S.Y., Zheng Q., Miks-Krajnik M., Turner M., Yu, H.-G. Evaluation of Commercial Kit Based on Loop-Mediated Isothermal Amplification for Rapid Detection of Low Levels of Uninjured and Impured Salmonella on Duck Meat, Bean Sprouts, and Fishballs in Singapore. *J. Food Prot*. 2015; 78: 1203-7.
35. Ramich T., Schacher B., Scharf S., Röllke L., Arndt R., Eickholz P., Nickles K. Subgingival plaque sampling after combined mechanical and antibiotic nonsurgical periodontal therapy. *Clin. Oral Investig*. 2015; 19: 27-34.
36. Ding F., Lyu Y., Han X., Zhang H., Liu D., Hei W., Liu Y. Detection of periodontal pathogens in the patients with aortic aneurysm. *Chin. Med. J*. 2014; 127: 4114-8.
37. Fujii R., Muramatsu T., Yamaguchi Y., Asai T., Aida N., Suehara M., Morinaga K., Furusawa M. An endodontic-periodontal lesion with primary periodontal disease: a case report on its bacterial profile. *Bull. Tokyo Dent. Coll*. 2014; 55: 33-7.
38. Moon J.H., Lee J.H., Lee J.Y. Subgingival microbiome in smokers and non-smokers in Korean chronic periodontitis patients. *Mol. Oral Microbiol*. 2015; 30: 227-41.
39. Radford A.D., Chapman D., Dixon L., Chantrey J., Darby A.C., Hall N. Application of next-generation sequencing technologies in virology. *J. Gen. Virol*. 2012; 93: 1853-68.
40. Schwarzbach K., Le R., Bharti B., Lindsay S., Casaburi G., Salvatore F., Saber M.H., Alonaizan F., Slots J., Gottlieb R.A., Caporaso J.G., Kelley S.T. The personal human oral microbiome obscures the effects of treatment on periodontal disease. *PLoS One*. 2014; 9: e86708.
41. Shokralla S., Spall J.L., Gibson J.F., Hajibabaei M. Next-generation sequencing technologies for environmental DNA research. *Mol. Ecol*, 2012; 21: 1794-1805.
42. Stolpovsky Yu. A., Kuznetsov S.B., Solodneva E.V., Shumov I.D. New cattle genotyping system based on DNA microarray technology. *Genetika*. 2022; 58(8): 857-71. DOI 10.31857/S0016675822080094. (in Russian)
43. Pozhitkov A.E., Beikler T., Flemmig T., Noble P.A. High-throughput methods for analysis of the human oral microbiome. *Periodontol*. 2000. 2011; 55: 70-86.
44. Topcuoglu N., Kulekci G. 16S rRNA based microarray analysis of ten periodontal bacteria in patients with different forms of periodontitis. *Anaerobe*. 2015; 35: 35-40.