

ООО Издательская группа
«Медиа Сфера»

Акционерное общество
"ЭКОлаб"

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

Д КЛИНИЧЕСКАЯ ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА

Том 69
12 • 2024

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

ДЕКАБРЬ

Журнал основан в январе 1955 г.

Учредители:

ООО Издательская группа
«Медиа Сфера» (печатное издание)
127238, г. Москва, Дмитровское ш., 46
кор. 2;

Акционерное общество "ЭКОлаб"
(электронное издание)

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

Издатель:

Акционерное общество "ЭКОлаб"

Телефон редакции:
8-916-201-80-47

Зав. редакцией:

Л.А.Шанкина

E-mail: clin.lab@yandex.ru

Технический редактор:

Ч.А.Сафаров

E-mail: klinlab@internet.ru

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

Сдано в набор 15.11.2024.

Подписано в печать 20.11.2024

Формат 60 × 88%

Печать офсетная

Печ. л. 8,00

Уч.-изд. л. 8,95

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

ПИ № ФС77-37760 от 07.10.2009 г.

ЭЛ № ФС77-80929 от 21.04.2021 г.

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

Журнал представлен в базе данных Российско-
го индекса научного цитирования (РИНЦ) и в
следующих международных информационно-
справочных изданиях: Abstracts of Micrology,
Adis International Ltd Reactions Weekly, Chemical
Abstracts (Print), Chemical Titles, EBCOhost Biologi-
cal 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 Reu-
ters 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.pressa-rf.ru/cat/1/edition/e81645/Под->

писка на электронную версию:

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

<https://www.pressa-rf.ru/rucont/edition/331548/>

ISSN: 0869-2084 (Print)

ISSN: 2412-1320 (Online)

Клин. лаб. диагностика. 2024. Том 69. № 12.
637-706

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);

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

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

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

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ:

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

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

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

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

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

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

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

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

Осман Халил Ареф, к.б.н. (Хомс, Сирия)

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

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

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

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

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

LLC Publishing Group
"Media Sphera"

Joint Stock Company
"EKOLab"

D KLINICHESKAYA LABORATORNAYA iagnostika

Volume 69
12 • 2024

Russian Clinical Laboratory Diagnostics

SCIENTIFIC PRACTICAL MONTHLY JOURNAL

DECEMBER

The Journal is founded in 1955

Founders:

LLC "Publishing Group "Media Sphera"
(print edition)

127238, Moscow, Dmitrovskoe sh., 46 k.
b. 2;

Joint Stock Company "EKOLab"
(electronic edition)

142530, Moscow region, Elektrogorsk,
St. Budyonnogo, 1

Publisher:

Joint Stock Company "EKOLab"

Editorial office phone:
8-916-201-80-47,

Managing editor:

L.A. Shankina
E-mail: clin.lab@yandex.ru

Technical editor:

Ch.A. Safarov
E-mail: klinlab@internet.ru

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

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

E-mail: klinlab@internet.ru

PI No. FS77-37760 dated 10/07/2009

EL No. FS77-80929 dated 04/21/2021

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 Rus-
sian index of scientific quotation (RiNZ) and in fol-
lowing I&R editions: Abstracts of Micology, Adis
International Ltd Reactions Weekly, Chemical
Abstracts (print), Chemical Titles, EBCOhost Bio-
logical Abstracts (Online), Elsevier BV EMBASE,
Elsevier BV Scopus, Excerpta Medica, Abstract
Journals, Index Medicus, Index to Dental Litera-
ture, OCLC Article First, Reactions Weekly (Print),
Thomson Reuters Biological Abstracts (Online),
Thomson Reuters BIOSIS Previews, VINITI RAN
Referativnyi Zhurnal, Ulrich's International Periodi-
cals Directory

ISSN: 0869-2084 (Print)
ISSN: 2412-1320 (Online)

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*);

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

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

Areg A. Totolian, 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*);

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

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

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

Osman Khalil Aref, Cand. Sci. (Biol.), (*Homs, Syria*)

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

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

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

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

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

СОДЕРЖАНИЕ

БИОХИМИЯ

Даренская М.А., Юзвак Н.А., Рычкова Л.В., Семенова Н.В., Прохорова Ж.В., Митюкова Т.А., Басалай А.А., Полулях О.Е., Колесникова Л.И.
Показатели окислительного стресса и факторы воспаления у подростков с экзогенно-конституциональным ожирением 641

Степанова Е.М., Луговая Е.А.
Возрастные особенности тиреоидного статуса мужчин, проживающих в условиях зубной эндемии. 650

Типисова Е.В., Аликина В.А., Елфимова А.Э., Молодовская И.Н., Зябишева В.Н.
Реактивность дофаминергической и гипоталамо-гипофизарно-гонадной систем на изменение фотопериода года у мужчин арктических территорий 658

ИММУНОЛОГИЯ

Буянова Н.М., Алпатов С.П., Кочетов А.Г., Троянов К.В., Парастаев С.А.
Сравнительный анализ концентрации сывороточного иммуноглобулина А по олимпийской классификации и уровню спортивных достижений у спортсменов высокого класса 665

Образцова О.А., Арбузова Н.В., Лагун К.М., Носов Н.Ю.
Лабораторная диагностика сифилиса: перспективы применения расширенной антигенной панели в ИФА (обзор литературы) 672

МИКРОБИОЛОГИЯ

Григорьевская З.В., Петухова И.Н., Багирова Н.С., Агинова В.В., Халилова А.М., Терещенко И.В., Халилова Т.М., Ключникова И.А.
Синергизм антибиотиков *in vitro*. Пилотное исследование с использованием метода градиентной диффузии (кросс-тест) 677

Ильин И.И., Марданлы С.Г., Марданлы А.Г., Романов С.В.
Технология прямой ПЦР при выявлении *Gardnerella vaginalis* 686

Чеснокова М.Г., Чесноков В.А., Жеребцов В.В., Миронов А.Ю.
Анализ состояния слизистой оболочки полости рта пациентов с кандидозным стоматитом и микробиома поверхности съемных зубных протезов при ортопедической реабилитации 693

Аркатова Е.А., Летяева О.И., Сидоренко О.А.
Сравнительный анализ видового и количественного состава микробиоты кожи лица у здоровых женщин 700

ВНИМАНИЮ АВТОРОВ И ЧИТАТЕЛЕЙ!

Журнал «Клиническая лабораторная диагностика» входит в Перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы результаты диссертаций на соискание учёной степени доктора и кандидата наук

CONTENTS

BIOCHEMISTRY

- Darenskaya M.A., Yuzvak N.A., Rychkova L.V., Semenova N.V., Prokhorova Zh.V., Mityukova T.A., Basalai A.A., Polulyakh O.E., Kolesnikova L.I.*
Parameters of oxidative stress and inflammation factors in adolescents with exogenous constitutional obesity 641
- Stepanova E.M., Lugovaya E.A.*
Age-related aspects of thyroid status of men living in goiter-endemic conditions. 650
- Tipisova E.V., Alikina V.A., Elfimova A.E., Molodovskaya I.N., Zyabisheva V.N.*
Reactions of the dopaminergic and hypothalamic-pituitary-gonadal systems to photoperiod changes during the year in males of the arctic territories. 658

IMMUNOLOGY

- Buyanova N.M., Alpatov S.P., Kochetov A.G., Troyanov K.V., Parastaev S.A.*
Comparative analysis of serum immunoglobulin A concentrations by Olympic classification and level of athletic achievement in elite athletes. 665
- Obraztsova O.A., Arbuzova N.V., Lagun K.M., Nosov N.Yu.*
Laboratory diagnostics of syphilis: perspectives of application of extended antigen panel in elisa (review of literature) 672

MICROBIOLOGY

- Grigoryevskaya Z.V., Petukhova I.N., Bagirova N.S., Aginova V.V., Khalilova A.M., Tereshchenko I.V., Khalilova T.M., Klyuchnikova I.A.*
Synergism of antimicrobials *in vitro*. pilot study using the method of gradient diffusion of antimicrobials (cross-test) 677
- Ilyin I.I., Mardanly S.G., Mardanly A.G., Rotanov S.V.*
Direct PCR technology for the detection of *Gardnerella vaginalis* 686
- Chesnokova M.G., Chesnokov V.A., Zherebtsov V.V., Mironov A.Yu.*
Analysis of the state of the oral mucosa of patients with candidal stomatitis and the microbiome of the surface of removable dentures during orthopedic rehabilitation 693
- Arkatova E.A., Letyaeva O.I., Sidorenko O.A.*
Comparative analysis of the qualitative and quantitative composition of facial skin microbiota in healthy women 700



© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2024

Даренская М.А.¹, Юзвак Н.А.¹, Рычкова Л.В.¹, Семенова Н.В.¹, Прохорова Ж.В.¹, Митюкова Т.А.², Басалай А.А.², Полулях О.Е.², Колесникова Л.И.¹

ПОКАЗАТЕЛИ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА И ФАКТОРЫ ВОСПАЛЕНИЯ У ПОДРОСТКОВ С ЭКЗОГЕННО-КОНСТИТУЦИОНАЛЬНЫМ ОЖИРЕНИЕМ

¹ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», 664003, Иркутск, Россия;

²ГНУ «Институт физиологии Национальной академии наук Беларуси», 220000, Минск, Республика Беларусь

Экзогенно-конституциональное ожирение (ЭКОЖ) — распространенное хроническое заболевание, связанное с избыточным потреблением калорий и недостаточным их расходом. Окислительный стресс играет ключевую роль в развитии ожирения и его осложнений, отражая дисбаланс между образованием свободных радикалов и антиоксидантной защитой. Ожирение, в свою очередь, провоцирует системный окислительный стресс, который вызывает повреждение клеточных структур, ДНК, липидов и белков. Хроническое воспаление, характерное для ожирения, нарушает липидный обмен и усиливает окислительный стресс. Раннее выявление показателей окислительного стресса и воспалительных факторов у подростков с ЭКОЖ может способствовать предотвращению развития хронических заболеваний. В связи с этим, целью нашей работы являлась оценка показателей окислительного повреждения биосубстратов, факторов воспаления и их взаимосвязей у подростков с ЭКОЖ. В исследовании приняли участие 114 подростков в возрасте 12-17 лет. Группа подростков с ожирением состояла из 52 человек, из них 28 юношей и 24 девушки. В качестве контрольной группы использовали данные 62 подростков: 29 юношей и 33 девушки соответствующего возраста и пола. Применялись иммуноферментные и статистические методы исследования. Отмечено увеличение уровня маркеров повреждения ДНК (8-OHdG), белков (КПОБ), а также снижение уровня антиоксидантных ферментов (ГПО) в крови у подростков с ЭКОЖ. Кроме того, у пациентов основной группы наблюдались изменения в цитокиновом профиле, характерные для хронического воспаления: увеличенные уровни СРБ и IL-6, сниженные уровни IL-4. Анализ корреляций подтвердил связь между различными показателями воспаления и параметрами окислительного повреждения в исследуемых группах. Понимание механизмов развития ожирения еще в подростковом возрасте будет способствовать разработке эффективных стратегий по предупреждению и терапии ожирения.

Ключевые слова: подростки; ожирение; окислительный стресс; антиоксидантная защита

Для цитирования: Даренская М.А., Юзвак Н.А., Рычкова Л.В., Семенова Н.В., Прохорова Ж.В., Митюкова Т.А., Басалай А.А., Полулях О.Е., Колесникова Л.И. Показатели окислительного стресса и факторы воспаления у подростков с экзогенно-конституциональным ожирением. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2024; 69 (12): 641-649.
DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2024-69-12-641-649>
EDN: ALAYOD

Для корреспонденции: Даренская Марина Александровна, д-р биол. наук, профессор РАН, гл. науч. сотр. лаб. патофизиологии; e-mail: marina_darenskaya@inbox.ru

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Благодарность. Исследование выполнялось с использованием оборудования ЦКП «Центр разработки прогрессивных персонализированных технологий здоровья» ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ, Иркутск.

Поступила 02.09.2024

Принята к печати 12.09.2024

Опубликовано 20.11.2024

Darenskaya M.A.¹, Yuzvak N.A.¹, Rychkova L.V.¹, Semenova N.V.¹, Prokhorova Zh.V.¹, Mityukova T.A.², Basalai A.A.², Polulyakh O.E.², Kolesnikova L.I.¹

PARAMETERS OF OXIDATIVE STRESS AND INFLAMMATION FACTORS IN ADOLESCENTS WITH EXOGENOUS CONSTITUTIONAL OBESITY

¹Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, 664003, Irkutsk, Russia;

²Institute of physiology National Academy of Sciences of Belarus, 220000, Minsk, Belarus

Exogenous constitutional obesity (ECOG) is a common chronic disease associated with excessive calorie intake and insufficient expenditure. Oxidative stress plays a key role in the development of obesity and its complications, disrupting the balance between free radical formation and antioxidant protection. Obesity provokes systemic oxidative stress, which causes damage to cellular structures, DNA, lipids and proteins. Chronic inflammation, characteristic of obesity, disrupts lipid metabolism and increases oxidative stress. Early detection of indicators of oxidative stress and inflammatory factors in adolescents with ECOG can help prevent the development of chronic diseases. The aim of our work was to assess the indicators of oxidative damage and inflammatory factors in adolescents with ECOG. The study involved 114 adolescents aged 12-17 years. The group of obese adolescents consisted of 52 people, 28 of them boys and 24 girls. Data from 62 adolescents were used as a control group: 29 boys and 33 girls. Enzyme immunoassay and statistical research methods were used. The study revealed an increase in the level of DNA damage markers (8-OHdG), proteins (AOPP), as well as a decrease in the level of antioxidant enzymes (GPX) in the blood of adolescents with ECOG. In addition, changes in the

cytokine profile characteristic of chronic inflammation were observed in patients of the main group: increased levels of CRP and IL-6, decreased levels of IL-4. Correlation analysis confirmed the relationship between various indicators of inflammation and parameters of oxidative damage in the study groups. Thus, the results of the study confirm the data on the relationship between ECOG and chronic inflammation, as well as oxidative stress.

Key words: adolescents; obesity; oxidative stress; antioxidant defense

For citation: Darenskaya M.A., Yuzvak N.A., Rychkova L.V., Semenova N.V., Prokhorova Zh.V., Mityukova T.A., Basalai A.A., Polulyakh O.E., Kolesnikova L.I. Parameters of oxidative stress and inflammation factors in adolescents with exogenous constitutional obesity. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2024; 69 (12): 641-649 (in Russ.).

DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2024-69-12-641-649>

EDN: ALAYOD

For correspondence: *Darenskaya Marina Alexandrovna*, Doctor of Biological Sciences, Professor of the RAS, Leading researcher of the Laboratory of Pathophysiology; e-mail: marina_darenskaya@inbox.ru

Information about authors:

Darenskaya M.A., <https://orcid.org/0000-0003-3255-2013>;

Yuzvak N.A., <https://orcid.org/0009-0007-9812-8836>;

Rychkova L.V., <https://orcid.org/0000-0002-0117-2563>;

Semenova N.V., <https://orcid.org/0000-0002-6512-1335>;

Prokhorova Zh.V., <https://orcid.org/0000-0001-8236-1747>;

Mityukova T.A., <https://orcid.org/0009-0009-7503-6634>;

Basalai A.A., <https://orcid.org/0000-0002-1878-9623>;

Polulyakh O.E., <https://orcid.org/0000-0002-4582-5378>;

Kolesnikova L.I., <https://orcid.org/0000-0003-3354-2992>.

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

Funding. *The study had no sponsor support.*

Acknowledgment. *This work was carried out using the equipment of the Center for the Development of Progressive Personalized Health Technologies of the Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, Irkutsk.*

Received 02.09.2024

Accepted 12.09.2024

Published 20.11.2024

Введение. Экзогенно-конституциональное ожирение (ЭКОЖ) — комплексное хроническое заболевание, основанное на избыточном потреблении калорий и недостаточном их расходе [1]. ЭКОЖ является наиболее распространенным (до 95% всех наблюдений) видом ожирения, тогда как вторичное ожирение, связанное с эндокринными болезнями, поражением ЦНС и других систем, встречается значительно реже [2,3]. Ожирение относится к сложным метаболическим нарушениям многофакторного происхождения. Известно, что окислительный стресс (ОС) играет роль решающего фактора, объединяющего ожирение и связанные с ним осложнения [4]. Стабильность гомеостаза организма зависит от окислительно-восстановительных процессов и нарушение этого баланса приводит к накоплению токсичных продуктов, активации деструктивных процессов и ОС, вызванному дисбалансом между образованием свободных радикалов и антиоксидантной защитой (АОЗ) [5]. Ожирение само по себе может вызывать системный ОС посредством различных биохимических механизмов, таких как образование супероксида из НАДФН-оксидаз, окислительное фосфорилирование, аутоокисление глицеральдегида, активация протеинкиназы C, а также полиольные и гексозаминовые пути [6]. Другие факторы, которые также способствуют ОС при ожирении, включают гиперлептемию, низкую активность АОЗ, хроническое воспаление, выработку свободных радикалов, нарушение функции митохондрий, дисбаланс антиоксидантной системы и другие метаболические нарушения [7].

Прогрессирование реакций ОС приводит к интен-

сивному накоплению в организме продуктов, выступающих в качестве маркеров повреждения различных клеточных компонентов. Избыток свободных радикалов, образующихся в результате метаболизма, наносит повреждения клеточным структурам, ДНК, липидам и белкам, усугубляя ОС. Продукты пероксидации являются ключевыми в механизмах развития деструктивных процессов в клеточных мембранах [8]. Окисленные липиды и белки могут быть цитотоксическими, вызывать повреждение мембран и мембранно-связанных рецепторов, провоцировать ферментативную дисфункцию, нарушать сигнальные каскады, активировать провоспалительные процессы [9].

Известно, что ожирение тесно связано с хроническим воспалением, что приводит к повышенной выработке провоспалительных цитокинов и, как следствие, к усилению ОС [10]. Изменение цитокинового профиля при ожирении характеризуется увеличением в организме уровня провоспалительных и снижением содержания противовоспалительных цитокинов, что позволяет рассматривать ожирение как субклинический хронический воспалительный процесс с развитием локального воспаления в жировой ткани [11]. Изменения в цитокиновом профиле при ожирении (преобладание провоспалительных цитокинов) подтверждают субклинический характер хронического воспаления при этом заболевании. Локальное воспаление в жировой ткани становится основой для повышенной продукции активных форм кислорода (АФК) и развития ОС. ОС и воспаление присутствуют у детей без сопутствующих

заболеваний в начале ожирения [11]. Снижение уровня хронического воспаления и ОС в детстве может предотвратить последующие метаболические нарушения [12]. Раннее выявление ОС и воспалительных факторов у детей с избыточным весом позволит профилактировать развитие хронических заболеваний.

Актуальными представляются исследования по выявлению связи между ожирением, хроническим воспалительным состоянием и ОС, что требует дальнейших исследований по изучению ОС различных клеточных биосубстратов и воспалительных факторов у детей и подростков данной когорты.

Целью работы явилась оценка реакций окислительного повреждения биосубстратов, факторов воспаления и их взаимосвязей у подростков с экзогенно-конституциональным ожирением.

Материал и методы. В исследовании приняли участие 114 подростков в возрасте 12-17 лет. Группа подростков с ожирением состояла из 52 человек, из них 28 юношей и 24 девушки. Контрольную группу составили 62 подростка: 29 юношей и 33 девушки соответствующего возраста и пола. Набор субъектов в группы производился на территории Иркутской области методом сплошной выборки в рамках ежегодного профилактического осмотра. Верификация диагнозов и разделение на группы проведены согласно «Рекомендациям по диагностике, лечению и профилактике ожирения у детей и подростков» (2015 г.).

Критерии включения в группы с экзогенно-конституциональным ожирением: возраст 12-17 лет; избыток массы тела более 95 перцентиля для данного роста, возраста и пола; постоянное, с момента рождения, проживание ребенка на территории данного поселения; отсутствие на момент включения в исследование и, по меньшей мере, за один месяц до него острых или обострения хронических заболеваний; подписание родителями/законными представителями подростков, а также подростками старше 15 лет информированного добровольного согласия.

Критерии исключения: симптоматические, генетические, нейроэндокринные формы ожирения; прием лекарственных препаратов, которые могли бы оказать влияние на массу тела и оцениваемые метаболические параметры; задержка физического развития (SDS роста менее -2 для данного возраста и пола по референсным таблицам ВОЗ); дефицит веса (SDS веса менее -2 для данного возраста и пола по референсным таблицам ВОЗ)

Критерии включения в контрольные группы: возраст 12-17 лет; нормальная масса тела; принадлежность к 1-й группе здоровья; подписание родителями/законными представителями подростков, а также подростками старше 15 лет информированного добровольного согласия.

Взятие крови из периферического кровотока осуществляли утром натощак из локтевой вены с помощью одноразовых вакуумных систем с 8 до 9 часов утра, у девушек – с учетом фаз менструального цикла (на 3-9-й день менструального цикла).

Для диагностики экзогенно-конституционального ожирения определяли показатель SDS (standard deviation score – стандартное отклонение) ИМТ с помощью программы ВОЗ Antro Plus, 2009. Избыточная масса тела устанавливалась при SDS ИМТ от +1,0 до

+2,0 (85–95-й перцентили), ожирение – более +2,0 (выше 95-го перцентиля) (I степень: SDS ИМТ 2,0 – 2,5; II степень: SDS ИМТ 2,6 – 3,0) [13]. У всех подростков проводился анализ истории развития, осмотр, измерение длины и массы тела, уровня артериального давления (систолическое артериальное давление (САД, мм. рт. ст.), диастолическое артериальное давление (ДАД, мм. рт. ст.)), оценивался уровень гликемии натощак. При выявлении ожирения проводилось анкетирование с целью оценки наследственной отягощенности, пищевого статуса и физической активности, для исключения вторичных форм ожирения – исследование гормонального статуса, осмотр эндокринолога, невролога.

Интенсивность процессов окислительного повреждения ДНК оценивали по уровню 8-гидрокси-2'-дезоксигуанозина (8-OHdG). 8-OHdG определяли в сыворотке крови с использованием коммерческих тест-систем Cloud-Clone Corp. (США) при $\lambda=450$ нм. Конечные продукты окисления белков (КПОБ) определяли в плазме крови с помощью коммерческих тест-систем «Immundiagnostik» (Германия) при $\lambda=340$ нм. Измерения проводили на иммуноферментном анализаторе MultiSkan ELX808 (Biotek, США). Конечные продукты гликозилирования (КПГ) определяли в сыворотке крови с использованием коммерческих тест-систем Cloud-Clone Corp. (США) при $\lambda=450$ нм. Оксид азота (NO) определяли в сыворотке крови с использованием коммерческих тест-систем Cloud-Clone Corp. (США) при $\lambda=540$ нм на спектрофотометре BTS-350 BioSystems (Испания). Активность ферментов глутатионпероксидазы (ГПО) и глутатион-S-трансферазы (Г-S-T). Содержание ГПО и Г-S-T измеряли с помощью набора реагентов Cloud-Clone Corp. (США) на иммуноферментном анализаторе MultiSkan ELX808 (Biotek, США).

Концентрацию С-реактивного белка (СРБ), Th1-провоспалительных цитокинов (TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8) и Th2-противовоспалительных интерлейкинов (IL-4, IL-10) оценивали иммуноферментным методом используя панели моноклональных антител (АО «Вектор-Бест», Россия, Новосибирск). Измерения проводили на микропланшетном фотометре (Multiskan EX, Финляндия).

В работе с больными соблюдались этические принципы, предъявляемые Хельсинкской декларацией всемирной медицинской ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki, 1964; последний пересмотр – Форталеза, Бразилия, октябрь 2013). Данное исследование одобрено Комитетом по биомедицинской этике ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (Выписка № 9 от 08.10.2014.). Получение информированного согласия на участие в проводимом исследовании являлось обязательной процедурой.

Статистическая обработка данных осуществлялась с помощью интегрированной системы для комплексного статистического анализа и обработки данных в программе STATISTICA 10.0 Stat-Soft.Inc., США. Для определения близости к нормальному закону распределения количественных признаков использовали визуально-графический метод и критерий согласия Колмогорова-Смирнова с поправкой Лиллиефорса и Шапиро-Уилка. Вследствие неправильности распре-

деления данных оценку различий количественных показателей между исследуемыми группами проводили с использованием критерия Манна–Уитни (Mann–Whitney (U-test)). Различия сравниваемых показателей считали значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. Результаты исследования показали наличие статистически значимых различий в уровнях показателя деструкции ДНК — 8-ОНдГ, показателя окисления белков — КПОБ, а также уровня фермента антиоксидантной защиты — ГПО (табл. 1).

Таблица 1

Уровень компонентов окислительного повреждения ДНК, белков, КПП и глутатионного статуса у подростков с ЭКОЖ (Ме [Q1;Q3]).

| Группы/Показатели | 8-ОНдГ, нг/мл | КПОБ, нмоль/л | КПП, нг/мл | NO, мкмоль/л | ГПО, нг/мл | Г-S-T, нг/мл |
|------------------------------|--------------------|-----------------------|----------------------------|------------------------|----------------------|----------------------|
| Контрольная группа (юноши) | 1,47 [1,09; 2,04] | 9,86 [8,11; 13,69] | 2387,28 [1889,11; 2825,90] | 131,87 [59,58; 239,07] | 23,53 [11,04; 63,98] | 12,69 [9,25; 14,15] |
| Группа с ЭКОЖ (юноши) | 2,16 [1,59; 2,68]* | 12,57 [11,10; 15,65]* | 2686,90 [2458,40; 3548,53] | 149,76 [30,11; 346,50] | 12,70 [5,99; 26,89]* | 13,66 [11,63; 14,47] |
| Контрольная группа (девушки) | 1,59 [0,93; 1,93] | 10,76 [9,70; 12,09] | 2829,06 [1763,56; 3599,48] | 107,85 [54,12; 683,98] | 11,73 [4,42; 36,44] | 11,95 [10,16; 13,66] |
| Группа с ЭКОЖ (девушки) | 2,20 [1,78; 2,53]* | 11,60 [10,86; 12,45]* | 2311,20 [1897,33; 3289,76] | 238,32 [82,26; 911,17] | 10,65 [1,84; 14,75] | 12,83 [10,31; 14,05] |

Примечание. * – Статистически значимые различия с контрольной группой ($p < 0,05$).

Так, уровень показателя деструкции ДНК обнаруживал повышенные значения в группах юношей ($p = 0,025$) и девушек ($p = 0,001$) с ожирением относительно соответствующих контрольных групп (табл. 1). Известно, что повышенное содержание свободных жирных кислот в крови стимулирует выработку супероксид-анионных радикалов. Эти радикалы, повреждая клетки, могут запускать апоптоз и мутационные процессы, включая ингибирование синтеза ДНК [14]. Взаимодействие свободных радикалов с ДНК вызывает одно- и двухцепочечные разрывы, неправильное спаривание и модификацию оснований, разрывы цепей. Образование 8-ОНдГ происходит в результате модификации гуанина в ДНК. Повреждение ДНК может провоцировать воспаление в висцеральной жировой ткани, приводить к нарушению липидного обмена и ускорению развития патологических состояний у пациентов с ожирением.

Считается, что ожирение связано с более высокой степенью повреждения ДНК [15]. В исследованиях подтверждается повышенный уровень приобретенных повреждений ДНК при детском ожирении, наличие более высоких уровней окислительного повреждения ДНК у подростков с ожирением [16].

Показатель окисления белков — КПОБ показал наличие статистически значимого роста значений у юношей ($p = 0,006$) и девушек ($p = 0,029$) с ЭКОЖ в сравнении с контрольными группами (см. табл. 1). КПОБ представляют собой модифицированные белки, такие как битирозинозные шивки, продукты нитрования, карбонильные группы и другие соединения. Образование остатков дитирозина приводит к сшиванию белков, их последующей агрегации и осаждению. Помимо того, что КПОБ являются продуктами окислительного дисбаланса, они сами участвуют в развитии окислительного стресса и воспаления. Таким образом, повреждение белковых субстратов происходит не только от прямого воздействия свободных радикалов, но и от вторичной атаки конечными продуктами перекисного окисления липидов (ПОЛ), которые известны как ТБК-активные

продукты. Такая двусторонняя атака белковых молекул делает этот показатель более чувствительным к изменениям уровня свободных радикалов и позволяет более точно оценивать интенсивность свободно-радикального окисления в организме [17].

Рост значений 8-ОНдГ и КПОБ, вероятно, может быть обусловлен определёнными сдвигами в системе АОЗ у лиц с ЭКОЖ.

В нашем исследовании отмечались сниженные уровни ГПО у юношей с ЭКОЖ в сравнении с контролем ($p = 0,044$) (см. табл. 1). Считается, что ГПО является ключевым ферментом системы АОЗ, который защищает клеточные белки и мембраны от окислительного повреждения [17]. Снижение уровня ГПО приводит к повышению уязвимости клеток к деструктивному действию ОС. Возможно также, что увеличенный расход антиоксидантного фермента у подростков-юношей с ожирением обусловлен его активной ролью в угнетении процессов ПОЛ [18].

Уровни КПП, NO и Г-S-T в исследуемых группах не имели значимых различий ($p > 0,05$).

Таким образом, проведенное исследование показало существенное увеличение параметров окислительного повреждения ДНК, белков и дисбаланс в тиол-дисульфидной системе у пациентов с ЭКОЖ.

Далее был проведен анализ про- и противовоспалительных факторов в исследуемых группах подростков (табл. 2).

В группах пациентов с ЭКОЖ отмечались статистически значимо более высокие значения СРБ (юноши - $p < 0,0001$, девушки - $p < 0,0001$), IL-6 (юноши - $p = 0,017$, девушки - $p = 0,042$), сниженные уровни TNF- α (девушки - $p = 0,025$), IL-4 (девушки - $p = 0,024$) в сравнении с соответствующими контрольными группами (см. табл. 2).

Нами было установлено увеличение уровня С-реактивного белка в группах подростков с ЭКОЖ вне зависимости от пола. Известно, что у детей ожирение ассоциировано с более высокими уровнями СРБ [19, 20]. Принято считать, что уровень СРБ зависит от

концентрации такого провоспалительного цитокина как IL-6, который индуцируется другими провоспалительными

цитокинами, повышенная экспрессия которых характерна для ожирения [21].

Таблица 2

Содержание про-и противовоспалительных факторов у подростков с ЭКОЖ (Ме [Q1;Q3])

| Группы/Показатели | СРБ, мг/л | TNF- α , пг/мл | IL-1 β , пг/мл | IL-6, пг/мл | IL-8, пг/мл | IL-4, пг/мл | IL-10, пг/мл |
|------------------------------|------------------------|-------------------------|-------------------------|-----------------------|-----------------------|-------------------------|-----------------------|
| Контрольная группа (юноши) | 0,38 [0,16; 1,44] | 1,99 [0,89; 3,39] | 1,15 [0,001; 3,49] | 1,69 [0,05; 3,26] | 7,86 [6,37; 35,24] | 0,29 [0,01; 0,63] | 4,51 [2,69; 10,91] |
| Группа с ЭКОЖ (юноши) | 2,92 [1,58; 3,34]* | 2,34 [1,07; 3,12] | 0,17 [0,001; 2,16] | 3,14 [1,46; 4,86]* | 7,00 [5,17; 14,57] | 0,23 [0,001; 0,49] | 4,38 [2,50; 5,76] |
| Контрольная группа (девушки) | 0,37 [0,22; 0,92] | 0,55 [0,001; 1,71] | 0,001 [0,001; 1,54] | 2,18 [0,68; 3,82] | 4,25 [2,75; 8,14] | 0,45 [0,01; 1,06] | 2,35 [0,001; 4,96] |
| Группа с ЭКОЖ (девушки) | 6,72 [1,19; 11,24]* | 0,001 [0,001; 0,69]* | 0,001 [0,001; 0,001] | 3,48 [1,68; 5,00]* | 5,65 [3,56; 7,43] | 0,001 [0,001; 0,59]* | 1,77 [0,001; 3,40] |

Примечание. * – Статистически значимые различия с контрольной группой ($p < 0,05$).

При ожирении, вследствие усиленной продукции жировыми клетками (адипоцитами) и макрофагами провоспалительных веществ, происходит подавление продукции противовоспалительных цитокинов, а также развивается хроническое асептическое воспаление [20]. Такое воспаление усугубляет нарушение липидного обмена. Провоспалительные цитокины запускают цепь реакций, приводящих к отдаленным воспалительным эффектам, включая повышение СРБ. СРБ стимулирует синтез других цитокинов, молекул клеточной адгезии и тканевого фактора в моноцитах и эндоте-

лиальных клетках [20]. Активация тканевого фактора обеспечивает связь между воспалением и коагуляцией, активируя каскад коагуляции. Воспаление слабой степени, возникающее в результате этого процесса, приводит к дисфункциональному состоянию [20]. Как показывают исследования, выявляется повышение уровня СРБ в группах детей с ожирением, что также подтверждает роль ожирения в усилении продукции провоспалительных цитокинов [20].

В нашем исследовании также выявлен рост значений провоспалительного фактора – IL-6 во всех группах с

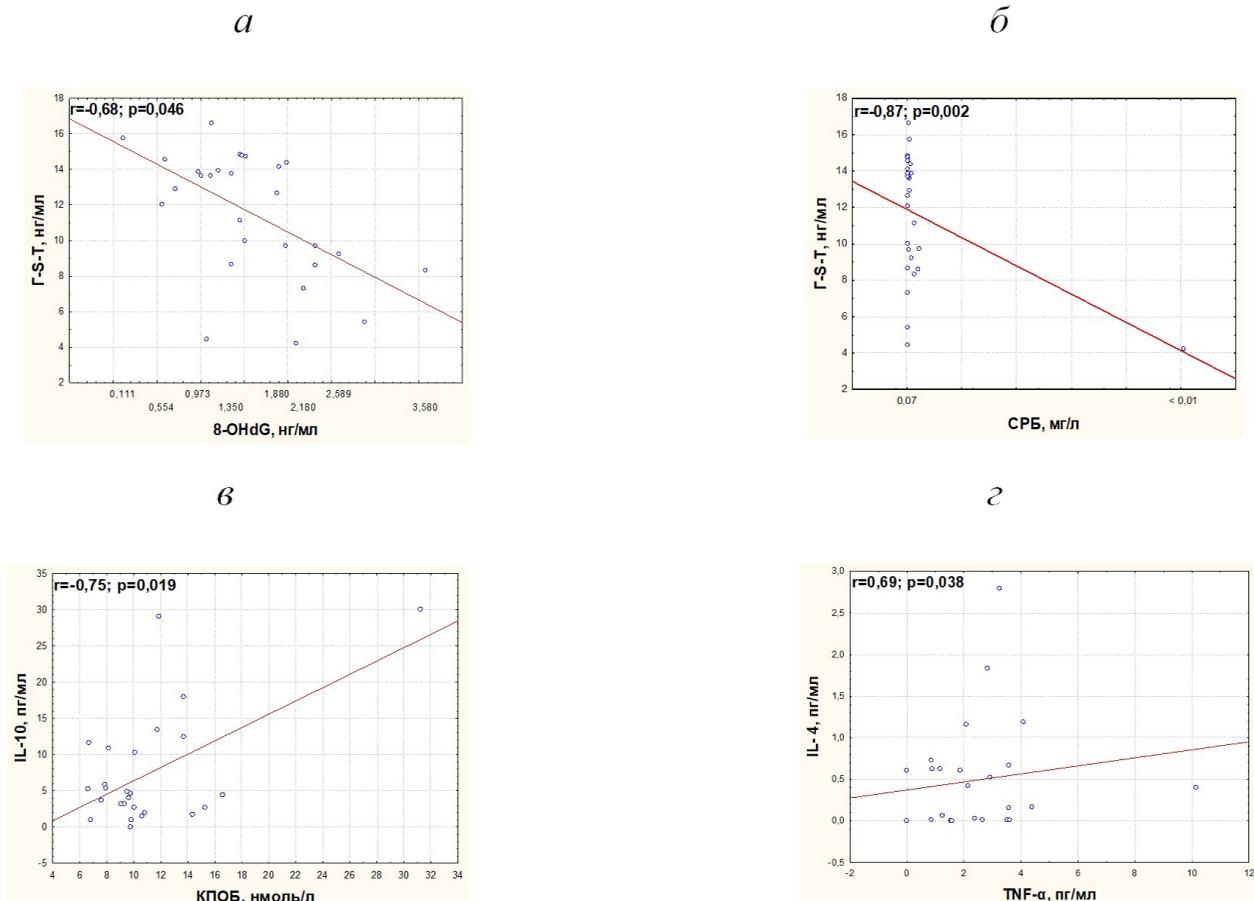


Рис. 1. Корреляционные взаимосвязи между уровнями продуктов окислительного повреждения белков, показателями глутатионового обмена и про- и противовоспалительными факторами у юношей контрольной группы (а, б, в, г).

ожирением. IL-6 активирует Т-лимфоциты и стимулирует синтез множества белков острой фазы, в том числе СРБ [22]. IL-6 регулирует энергетический гомеостаз и воспаление, влияя на переход от острых к хроническим воспалительным заболеваниям, таким как ожирение и резистентность к инсулину, путем стимулирования синтеза провоспалительных цитокинов и негативной регуляции воспалительных мишеней [23]. Более высокие уровни IL-6 в сыворотке связаны с ожирением [23]. Исследования показывают, что у лиц с ожирением уровень цитокина IL-6, являющегося маркером воспаления, был повышен по сравнению с контрольной группой [20].

Нами также были получены данные о снижении уровня IL-4 у девушек с ЭКОЖ. IL-4 относится к противовоспалительным цитокинам, подавляющим воспалительный процесс, является ингибитором лейкотриенов, может блокировать синтез или функцию одного или нескольких провоспалительных медиаторов [22].

Это может рассматриваться как один из факторов, увеличивающих степень воспалительной реакции в организме у подростков с ЭКОЖ.

Можно заключить, что во всех группах подростков с ЭКОЖ отмечается рост факторов воспаления - СРБ,

IL-6, у девушек с ЭКОЖ также снижение уровня IL-4, что может способствовать хронизации воспалительных процессов.

Далее был проведен анализ корреляционных взаимосвязей между исследуемыми параметрами. На рис. 1 показаны корреляционные связи, установленные в контрольной группе юношей.

Была обнаружена умеренная обратная корреляция между маркером повреждения ДНК и уровнем фермента Г-S-T ($r = -0,68$; $p = 0,046$), а также сильная обратная корреляция между СРБ и Г-S-T ($r = -0,87$; $p = 0,002$). По причине активного участия Г-S-T в противодействии реализации различных воспалительных процессов и клеточного стресса [24], такая связь может быть закономерной. Также маркер окисления белков — КПОБ — обнаруживал взаимосвязь с IL-10 ($r = -0,75$; $p = 0,019$). Умеренная корреляционная связь ($r = 0,69$; $p = 0,038$) получена между TNF- α и IL-4. Известно, что повышение TNF- α приводит к усилению ОС, а повышение IL-4 в свою очередь может являться частью компенсаторного механизма.

На рис. 2 показаны корреляционные связи, установленные в контрольной группе девушек.

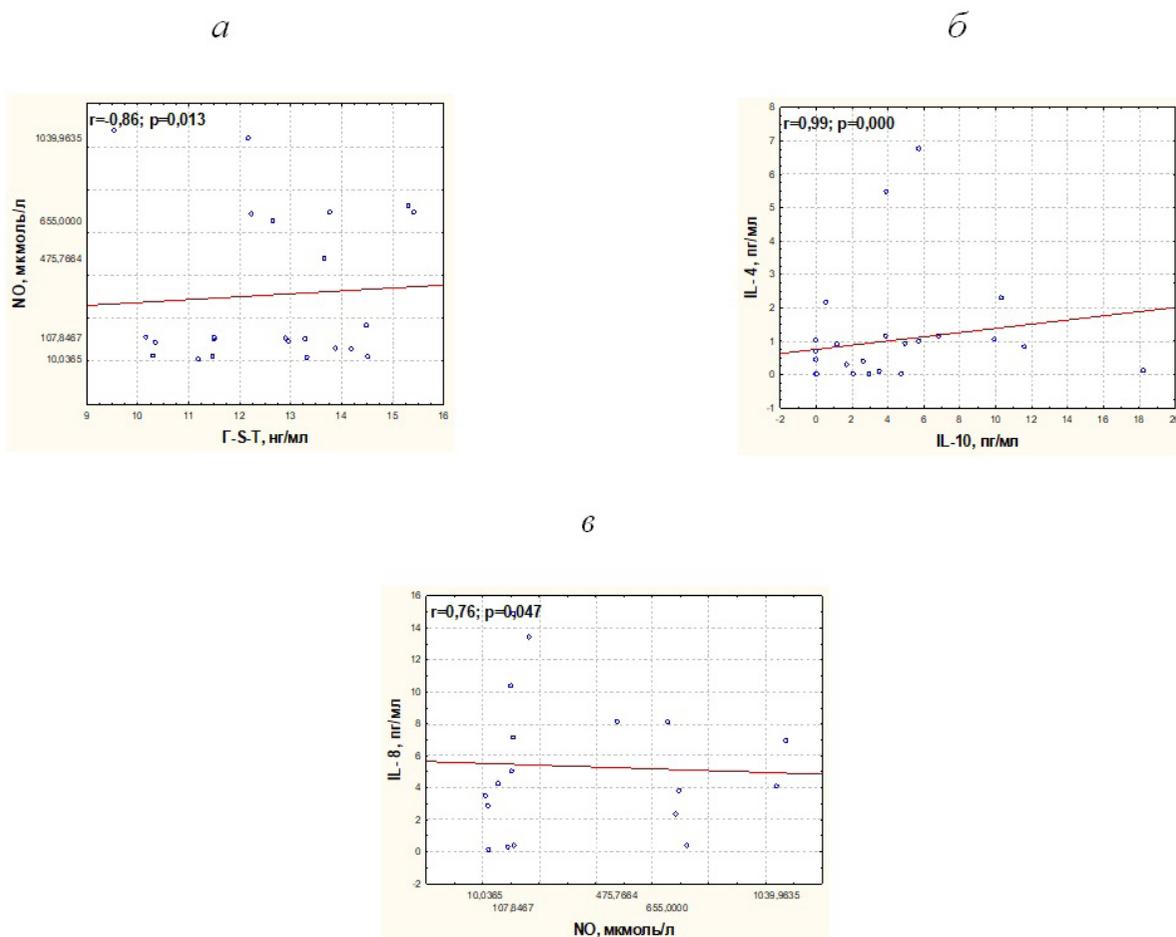


Рис. 2. Корреляционные взаимосвязи между уровнями продуктов окислительного повреждения белков, показателями глутатионового обмена и про- и противовоспалительными факторами у девушек контрольной группы (а, б, в).

Была обнаружена сильная обратная корреляция между уровнем Г-S-T и уровнем оксида азота ($r = -0,86$; $p = 0,013$). В ответ на увеличение реактивных форм оксида

азота идет активация системы АОЗ, что и было установлено в результате корреляционного анализа. Также в контрольной группе была выявлена сильная прямая

корреляция цитокинов - IL-4 и IL-10, оба являются противовоспалительными факторами, что закономерно объясняет установленные взаимосвязи. Умеренная корреляционная связь ($r = 0,76$; $p = 0,047$) получена между IL-8 и NO. IL-8, являясь провоспалительным цитокином, стимулирует выработку NO в макрофагах, нейтрофилах, эндотелиальных клетках, а NO в свою очередь может

усиливать провоспалительный эффект IL-8, способствуя активации нейтрофилов.

Анализ корреляционных взаимосвязей между исследуемыми параметрами установил в группе юношей с ЭКОЖ положительную динамику между параметрами содержания КПОБ и TNF- α , а также между TNF- α и IL-6 (рис. 3).

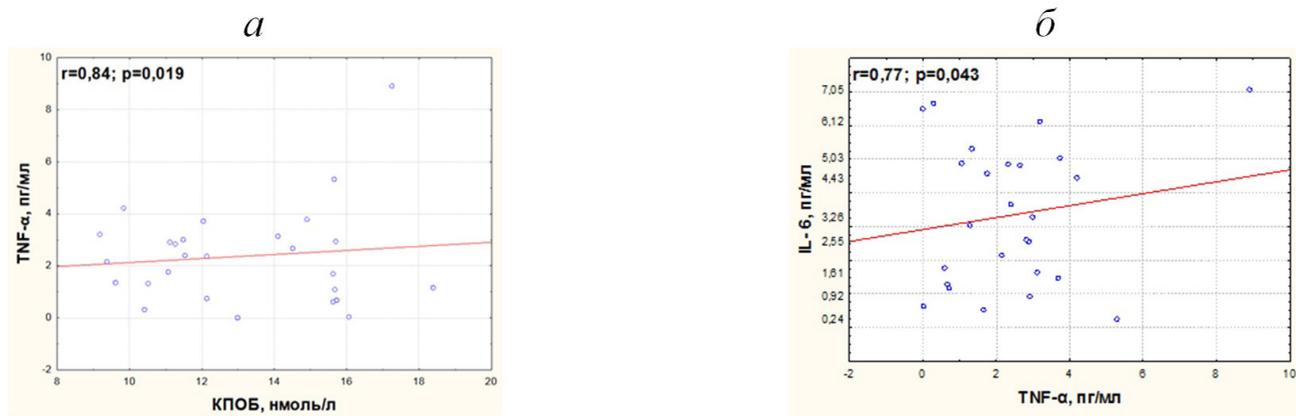


Рис. 3 Корреляционные взаимосвязи между уровнями продуктов окислительного повреждения белков, фактором некроза опухоли альфа, а также IL-6 у юношей с экзогенно-конституциональным ожирением (а,б).

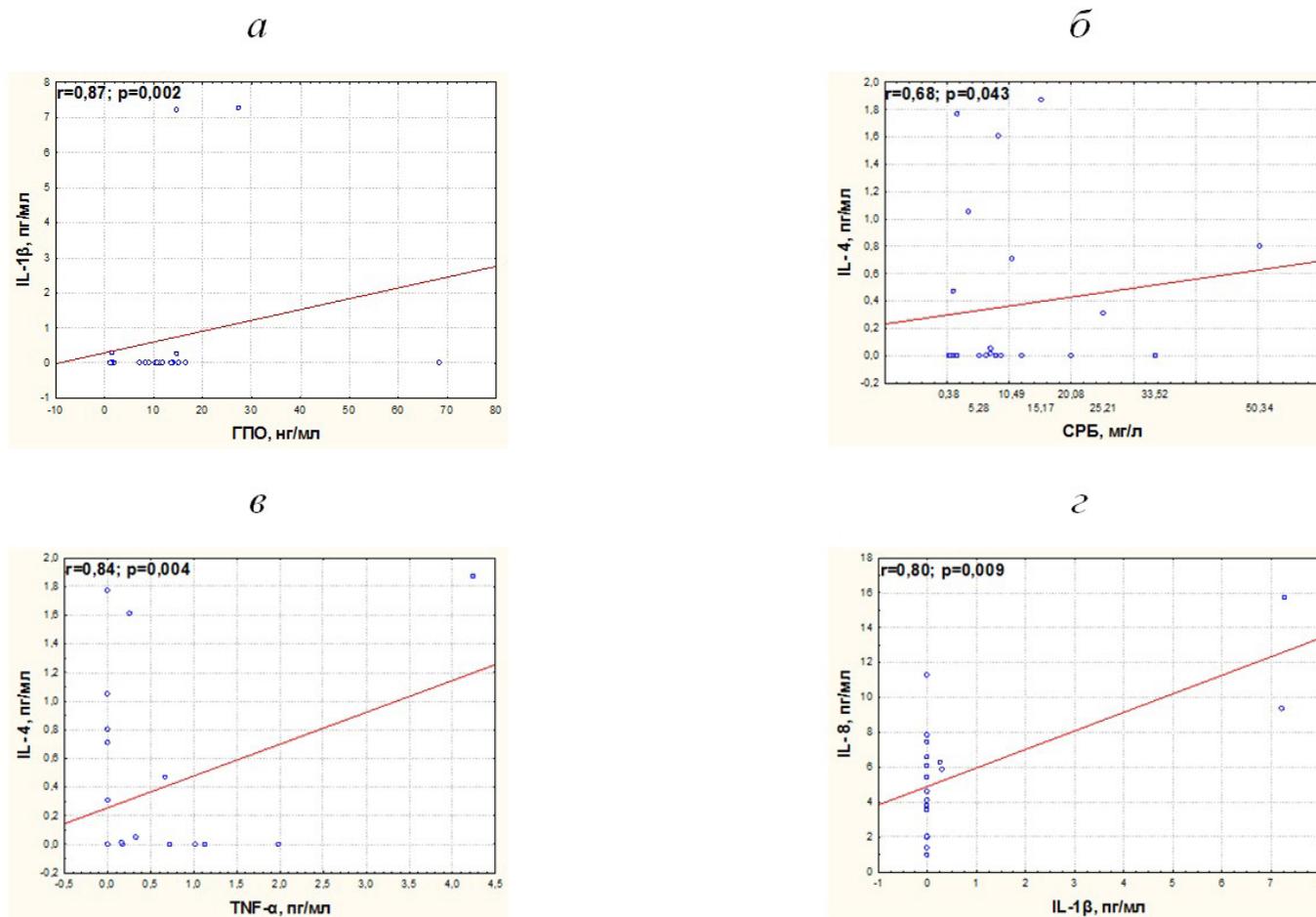


Рис. 4 Корреляционные взаимосвязи в группе девушек с экзогенно-конституциональным ожирением (а – е).

Была обнаружена сильная прямая корреляция между уровнем КПОБ и уровнем TNF- α ($r = 0,84$; $p = 0,019$). КПОБ образуются в результате повреждения белковых субстратов АФК. Активацию АФК может вызывать TNF- α , увеличение TNF- α в системах способствует ускорению процесса образования КПОБ. Отмечается повышение уровня растворимых рецепторов TNF- α у детей с ожирением [25]. Умеренная корреляционная связь ($r = 0,77$; $p = 0,043$) получена между TNF- α и IL-6. Наши данные согласуются с результатами исследований, где также обнаруживали положительную корреляцию между концентрациями IL-6 и TNF в группах пациентов с избыточной массой тела [26]. В исследовании P. Manna [27] у пациентов с ожирением были получены результаты с положительной корреляцией между циркулирующим TNF- α и ИЛ-6. Ожирение увеличивает уровень TNF- α в сыворотке, последний, в свою очередь, способствует усилению липолиза и стимуляции в адипоцитах секреции IL-6, что приводит к высвобождению IL-6 из иммунных клеток и адипоцитов и снижению уровня системных противовоспалительных цитокинов, способствуя системному воспалению [27]. Считается, что возможной причиной провоспалительного состояния, вызванного ожирением, основанного на возникновении ОС, является высокая концентрация провоспалительных цитокинов в сыворотке крови у этих пациентов. TNF- α и IL-6 играют решающую роль в развитии воспалительного состояния, связанного с ожирением. Было обнаружено, что их концентрация связана с количеством и распределением жировой ткани в организме [28, 29].

При проведении корреляционного анализа в группе девушек-подростков с ЭКОЖ выявлено большее количество связей (рис.4, а, б, в, г, д, е).

Выявлены связи между ГПО и IL-1 β ($r = 0,87$; $p = 0,002$), СРБ и IL-4 ($r = 0,68$; $p = 0,043$), TNF- α и IL-4 ($r = 0,84$; $p = 0,04$), IL-1 β и IL-8 ($r = 0,80$; $p = 0,009$), ГПО и IL-8 ($r = 0,84$; $p = 0,05$), КПОБ и IL-8 ($r = - 0,67$; $p = 0,047$). Значительное увеличение зависимостей между провоспалительными цитокинами и продуктами окисления, а также ГПО говорит о том, что хроническое воспаление и ОС взаимосвязаны и взаимно усиливают друг друга в условиях ожирения. Образование СРБ связано с воздействием цитокинов IL-6, TNF- α на гепатоциты при воспалительных процессах, повреждении и некрозе тканей, и увеличение объёма висцеральной жировой ткани является пусковым механизмом воспаления.

Выводы. Полученные нами результаты согласуются с данными о связи ЭКОЖ с хроническим воспалением и окислительным стрессом. Это подтверждается увеличением уровня компонентов, свидетельствующих о повреждении ДНК, белков, снижением содержания антиоксидантных ферментов в крови подростков с ЭКОЖ. Также у пациентов с ЭКОЖ наблюдались изменения в цитокиновом профиле, характерные для хронического воспаления. Анализ корреляционных взаимосвязей показал наличие зависимостей между различными показателями воспаления и параметрами окислительного повреждения. Ввиду многофакторной природы ожирения ЭКОЖ, для успешной профилактики и лечения этого заболевания необходим комплексный подход. Понимание механизмов развития ожирения еще в подростковом возрасте будет способствовать

разработке эффективных стратегий по предупреждению и терапии ожирения. Целесообразной является разработка программы физической реабилитации для детей и подростков с избыточной массой тела и ожирением, которые включали бы в себя физические факторы и физические нагрузки, и оптимально сочетались с диетотерапией и коррекционными мероприятиями противовоспалительного характера.

ЛИТЕРАТУРА (П.П. 3, 6-10; 12, 14-16, 19, 21, 23-28, СМ. REFERENCES)

1. Карпова О.Б., Щепин В.О., Загоруйченко А.А. Распространённость ожирения подростков в мире и Российской Федерации в 2012–2018 гг. *Гигиена и санитария*. 2021; 100(4): 365-72. DOI: 10.47470/0016-9900-2021-100-4-365-372.
2. Баланова Ю.А., Шальнова С.А., Деев А.Д., Имаева А.Э., Концевая А.В., Муромцева Г.А. и др. Ожирение в Российской популяции — распространённость и ассоциации с факторами риска хронических неинфекционных заболеваний. *Российский кардиологический журнал*. 2018; 4: 123–30. DOI: 10.15829/1560-4071-2018-6-123-130.
4. Поварова О.В., Городецкая Е.А., Каленикова Е.И., Медведев О.С. Метаболические маркеры и окислительный стресс в патогенезе ожирения у детей. *Российский вестник перинатологии и педиатрии*. 2020; 65(1): 22-9. DOI: 10.21508/1027-4065-2020-65-1-22-29.
5. Колесникова Л.И., Рычкова Л.В., Колесников С.И., Даренская М.А., Гаврилова О.А., Кравцова О.В. и др. Оценка системы липопероксидации и антиоксидантной защиты у мальчиков-подростков с экзогенно-конституциональным ожирением с использованием коэффициента окислительного стресса. *Вопросы питания*. 2018; 87(1): 28-34. DOI: 10.24411/0042-8833-2018-10003.
11. Романцова Т.И., Сыч Ю.П. Иммунометаболизм и метавоспаление при ожирении. *Ожирение и метаболизм*. 2019; 16(4): 3-17. DOI: 10.14341/omet12218.
13. Бородин С.В., Гаппарова К.М., Зайнудинов З.М., Григорьян О.Н. Генетические предикторы развития ожирения. *Ожирение и метаболизм*. 2016; 13(2): 7-13. DOI: 10.14341/omet201627-13.
17. Лесная А.С., Семенова Н.В., Даренская М.А., Рычкова Л.В., Балжирова Д.В., Колесникова Л.И. К вопросу о нитрозативном стрессе у подростков с экзогенно-конституциональным ожирением. *Вопросы детской диетологии*. 2023; 21(6): 85-90. DOI: 10.20953/1727-5784-2023-6-85-90.
18. Колесникова Л.И., Рычкова Л.В., Даренская М.А., Гаврилова О.А., Аюрова Ж.Г., Гребенкина Л.А. и др. Особенности про- и антиоксидантного статуса у подростков - представителей двух этносов с экзогенно-конституциональным ожирением I степени. *Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского*. 2020; 99(5): 201-6. DOI: 10.24110/0031-403X-2020-99-5-201-206.
20. Алиева Н.Р., Турдиева Д.Э., Аборорова Б.Т.К., Арипджанова Ш.С. Роль маркеров воспаления в формировании пневмонии на фоне избыточного веса и ожирения у детей. *Журнал кардиореспираторных исследований*. 2021; 2 (1): 47-50. DOI: 10.26739/2181.
22. Казанцева Е.Д., Петрова А.Г., Рычкова Л.В., Даренская М.А. Цитокины при гриппе у детей (обзор литературы). *Сибирский научный медицинский журнал*. 2024; 44 (1): 124-38. DOI: 10.18699/SSMJ20240113.
29. Даренская М.А., Рычкова Л.В., Колесников С.И., Кравцова О.В., Семенова Н.В., Бричагина А.С. и др. Изменения в системе липопероксидации при базовой терапии экзогенно-конституционального ожирения у подростков разного пола. *Вопросы детской диетологии*. 2022; 20(1): 5-11. DOI: 10.20953/1727-5784-2022-1-5-11.

REFERENCES

1. Karpova O.B., Shchepin V.O., Zagoruychenko A.A. The prevalence of adolescent obesity in the world and the Russian Federation in 2012–2018. *Gigiena i Sanitariya*. 2021; 100(4): 365-72. DOI:10.47470/0016-9900-2021-100-4-365-372. (in Russian)
2. Balanova Yu.A., Shal'nova S.A., Deev A.D., Imaeva A.E., Kontsevaya

- A.V., Muromtseva G.A. et al. Obesity in the Russian population is the prevalence and association with risk factors for chronic non-communicable diseases. *Rossiyskiy kardiologicheskii zhurnal*. 2018; 4: 123-30. DOI: 10.15829/1560-4071-2018-6-123-130. (in Russian)
3. Spinelli A., Buoncristiano M., Kovacs V.A., Yngve A., Spiroski I., Obreja G. et al. Prevalence of severe obesity among primary school children in 21 European countries. *Obesity facts*. 2019; 12(2): 244-58. DOI: 10.1159/000500436.
 4. Povarova O.V., Gorodetskaya E.A., Kalenikova E.I., Medvedev O.S. Metabolic markers and oxidative stress in children's obesity pathogenesis. *Rossiyskiy vestnik perinatologii i pediatrii*. 2020; 65(1): 22-9. DOI: 10.21508/1027-4065-2020-65-1-22-29. (in Russian)
 5. Kolesnikova L.I., Rychkova L.V., Kolesnikov S.I., Darenskaya M.A., Gavrilova O.A., Kravtsova O.V. et al. The evaluation of the lipid peroxidation system and antioxidant defense in adolescent boys with exogenously constitutive obesity with using the coefficient of oxidative stress. *Voprosy pitaniya*. 2018; 87(1): 28-34. DOI: 10.24411/0042-8833-2018-10003. (in Russian)
 6. Marseglia L., Manti S., D'Angelo G., Nicotera A., Parisi E., Di Rosa G. et al. Oxidative Stress in Obesity: A Critical Component in Human Diseases. *International Journal of Molecular Science*. 2015; 16: 378-400. DOI: 10.3390/ijms16010378.
 7. Balan A.I., Halațiu V.B., Scridon A. Oxidative Stress, Inflammation, and Mitochondrial Dysfunction: A Link between Obesity and Atrial Fibrillation. *Antioxidants (Basel)*. 2024; 13(1):117. DOI: 10.3390/ANTIOX13010117.
 8. Darenskaya M.A., Kolesnikova L.I., Rychkova L.V., Kravtsova O.V., Semenova N.V., Kolesnikov S.I. Relationship between lipid metabolism state, lipid peroxidation and antioxidant defense system in girls with constitutional obesity. *AIMS Molecular Science*. 2021; 8(2): 117-26. DOI: 10.3934/MOLSCI.2021009.
 9. Raut S.K., Khullar M. Oxidative stress in metabolic diseases: Current scenario and therapeutic relevance. *Molecular and cellular biochemistry*. 2023; 478(1): 185-96. DOI: 10.1007/S11010-022-04496-Z.
 10. Zuo L., Prather E.R., Stetskiy M., Garrison D.E., Meade J.R., Peace T.I. et al. Inflammation and oxidative stress in human diseases: from molecular mechanisms to novel treatments. *International Journal of Molecular Sciences*. 2019; 20(18): 4472. DOI: 10.3390/IJMS12053117.
 11. Romantsova T.R., Sych Yu.P. Immunometabolism and metainflammation in obesity. *Ozhirenie I metabolism*. 2019; 16(4): 3-17. DOI: 10.14341/omet12218. (in Russian)
 12. Codoñer-Franch P., Valls-Bellés V., Arilla-Codoñer A., Alonso-Iglesias E. Oxidant mechanisms in childhood obesity: the link between inflammation and oxidative stress. *Translational Research*. 2011; 158(6): 369-84. DOI: 10.1016/J.TRSL.2011.08.004.
 13. Borodina S.V., Gapparova K.M., Zainudiniv Z.M., Grigorian O.N. Genetic predictors of obesity development. *Ozhirenie I metabolism*. 2016; 13(2): 7-13. DOI: 10.14341/OMET201627-13. (in Russian)
 14. Darenskaya M.A., Rychkova L.V., Balzhirova D.B., Semenova N.V., Nikitina O.A., Lesnaya A. et al. The Level of Lipid Peroxidation Products and Medium-Molecular-Weight Peptides in Adolescents with Obesity. *International Journal of Biomedicine*. 2023; 13(2): 292-5. DOI 10.21103/article13(2) OA17.
 15. Chiaramonte A., Testi S., Pelosini C., Micheli C., Falaschi A., Caccarini G. et al. Oxidative and DNA damage in obese patients undergoing bariatric surgery: A one-year follow-up study. *Mutation Research*. 2023; 827: 111827. DOI: 10.1016/J.MRFMMM.2023.111827.
 16. Usman M., Woloshynowych M., Britto J.C., Bilkevic I., Glassar B., Chapman S. et al. Obesity, oxidative DNA damage and vitamin D as predictors of genomic instability in children and adolescents. *International journal of obesity*. 2021; 45(9): 2095-2107. DOI: 10.1038/S41366-021-00879-2.
 17. Lesnaya A.S., Semenova N.V., Darenskaya M.A., Rychkova L.V., Balzhirova D.V., Kolesnikova L.I. Nitrosative stress in adolescents with exogenous constitutional obesity. *Voprosy detskoj dietologii*. 2023; 21(6): 85-90. DOI: 10.20953/1727-5784-2023-6-85-90. (in Russian)
 18. Kolesnikova L.I., Rychkova L.V., Darenskaya M.A., Gavrilova O.A., Ayurova Zh.G., Grebenkina L.A. et al. Peculiarities of pro- and antioxidant status in adolescents, representatives of two ethnic groups with exogenous-constitutional 1st-degree obesity. *Pediatrica. Zhurnal im G.N. Speranskogo*. 2020; 99(5): 201-6. (in Russian)
 19. Yang S.P., Gong C.X., Cao B.Y., Yan C. Relationship between serum high-sensitivity C-reactive protein and obesity and impaired glucose metabolism in children and adolescents. *Zhonghua er ke za zhi. Chinese journal of pediatrics*. 2006; 44(12): 933-6.
 20. Alieva N.R., Turdieva D.E., Abrorova B.T., Aripdjanova Sh.S. Role of inflammation markers in the formation of pneumonia in the background of overweight and obesity in children. *Zhurnal kardiopulmonarnykh issledovaniy*. 2021; 2(1): 47-50. DOI: 10.26739/2181. (in Russian)
 21. Salamt N., Muhajir M., Aminuddin A., Ugusman A. The effects of exercise on vascular markers and C-reactive protein among obese children and adolescents: An evidence-based review. *Bosnian journal of basic medical sciences*. 2020; 20(2): 149-56. DOI: 10.17305/BJBMS.2019.4345.
 22. Kazantseva E.D., Petrova A.G., Rychkova L.V., Darenskaya M.A. Cytokines in influenza in children (literature review). *Sibirskij nauchnyj medicinskiy zhurnal*. 2024; 44 (1): 124-38. DOI: 10.18699/SSMJ20240113. (in Russian)
 23. Masenga S.K., Kabwe L.S., Chakulya M., Kirabo A. Mechanisms of Oxidative Stress in Metabolic Syndrome. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023; 24(9): 7898. DOI: 10.3390/IJMS24097898.
 24. Matoba K., Dohi E., Choi E.Y., Kano S.I. Glutathione S-transferases Control astrocyte activation and neuronal health during neuroinflammation. *Frontiers in Molecular Biosciences*. 2023; 9: 1080140. DOI: 10.3389/FMOLB.2022.1080140.
 25. Mantovani R.M., Rocha N.P., Magalhães D.M., Barbosa I.G., Teixeira A.L., Simoes E.S. Early changes in adipokines from overweight to obesity in children and adolescents. *Jornal de Pediatria*. 2016; 92(6): 624-30. DOI: 10.1016/J.JPED.2016.02.015.
 26. Popko K., Gorska E., Stelmaszczyk-Emmel A., Plywaczewski R., Stokłosa A., Gorecka D. et al. Proinflammatory cytokines Il-6 and TNF- α and the development of inflammation in obese subjects. *European Journal of Medical Research*. 2010; 15(2): 120-2. DOI: 10.1186/2047-783X-15-S2-120.
 27. Manna P., Jain S.K. Obesity, Oxidative Stress, Adipose Tissue Dysfunction, and the Associated Health Risks: Causes and Therapeutic Strategies. *Metabolic syndrome and related disorders*. 2015; 13(10): 423-44. DOI: 10.1089/MET.2015.0095.
 28. Monserrat-Mesquida M., Quetglas-Llabrés M., Bouzas C., Capó X., Mateos D., Ugarriza L. et al. Peripheral Blood Mononuclear Cells Oxidative Stress and Plasma Inflammatory Biomarkers in Adults with Normal Weight, Overweight and Obesity. *Antioxidants (Basel)*. 2021; 10(5): 813. DOI: 10.3390/ANTIOX10050813.
 29. Darenskaya M.A., Rychkova L.V., Kolesnikov S.I., Kravtsova O.V., Semenova N.V., Brichagina A.S. et al. Changes in lipid peroxidation system during standard therapy for exogenous constitutional obesity in adolescents of different sex. *Voprosy Detskoj Dietologii*. 2022; 20(1): 5-11. DOI: 10.20953/1727-5784-2022-1-5-11. (in Russian)

© СТЕПАНОВА Е.М., ЛУГОВАЯ Е.А., 2024

Степанова Е.М., Луговая Е.А.

ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ТИРЕОИДНОГО СТАТУСА МУЖЧИН, ПРОЖИВАЮЩИХ В УСЛОВИЯХ ЗОБНОЙ ЭНДЕМИИ



ФГБУН Научно-исследовательский центр «Арктика» Дальневосточного отделения Российской академии наук (НИЦ «Арктика» ДВО РАН), 685000, Магадан, Россия

Цель работы – комплексная возрастная оценка тиреоидного статуса юношей и мужчин зобноэндемичного региона России (на примере г. Магадана).

Материал и методы. Иммунохемилюминесцентным методом определены сывороточные концентрации маркеров функциональной активности щитовидной железы: тиреотропного гормона – ТТГ, антител к тиреопероксидазе – антиТПО, тироксина свободного – свТ4, трийодтиронина свободного – свТ3. Рассчитаны интегральный тиреоидный индекс (ИТИ) и индекс периферической конверсии (ИПК).

Результаты. Выявлены возрастные различия концентрации тиреоидных гормонов. Наивысший медианный уровень ТТГ, свТ3, свТ4, антиТПО выявлен у юношей, более высокое значение ИПК – также в юношеском возрасте. При этом наибольшее число как положительных, так и отрицательных корреляционных связей между функциональными параметрами гипофизарно-тиреоидной системы обнаружено у мужчин. В обеих возрастных группах отмечается значительный разброс уровня ТТГ. На фоне высоко-нормального уровня ТТГ несколько снижен интегральный тиреоидный индекс (ИТИ) и повышена концентрация антиТПО.

Обсуждение. У юношей по сравнению с взрослыми мужчинами несколько повышены уровни свТ3 и свТ4, что, вероятно, является возрастной особенностью обмена йодтиронинов. Более высокое значение ИПК у юношей показывает, что увеличение концентрации периферических гормонов гипофизарно-тиреоидной системы происходит за счет свТ3, что обусловлено возрастным компенсаторным механизмом в условиях региональной зобной эндемии для обеспечения достаточного уровня обмена веществ и терморегуляции.

Заключение. Полученные данные позволили оценить особенности тиреоидного статуса юношей и взрослых мужчин, проживающих в одном из зобноэндемичных регионов России.

Ключевые слова: мужчины; зобная эндемия; тиреоидные гормоны

Для цитирования: Степанова Е.М., Луговая Е.А. Возрастные особенности тиреоидного статуса мужчин, проживающих в условиях зобной эндемии. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2024; 69 (12): 650-657.

DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2024-69-12-650-657>

EDN: AMKMRL

Для корреспонденции: Степанова Евгения Михайловна, науч. сотр. лаборатории биоэлементологии и функциональной морфологии, e-mail: at-evgenia@mail.ru

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Поступила 21.07.2024

Принята к печати 18.10.2024

Опубликована 20.11.2024

Stepanova E.M., Lugovaya E.A.

AGE-RELATED ASPECTS OF THYROID STATUS OF MEN LIVING IN GOITER-ENDEMIC CONDITIONS

Scientific Research Center "Arktika", Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences (SRC "Arktika" FEB RAS), 685000, Magadan, Russia

Objective. The study assessed age-specific thyroid status of early adult and mature male residents of a goiter-endemic region of Russia (the case of Magadan city).

Material and methods. Serum concentrations of thyroid functional activity markers were determined by immunochemiluminescent method: thyroid-stimulating hormone (TSH), antibodies to thyroperoxidase (anti-TPO), free thyroxine freeT4, free triiodothyronine freeT3. We also calculated the integral thyroid index (ITI) and peripheral conversion index (PCI).

Results. The study revealed age-related differences in thyroid hormone concentrations. The highest median value of TSH, freeT3, freeT4, and anti-TPO as well as elevated PCI values were found in early adult men. The greatest number of positive and negative correlations among the functional parameters of the pituitary-thyroid system (PTS) was observed in mature men. Both age groups reported a wide range of TSG values. Along with highly normal levels of TSG, we could see a certain fall in subjective ITI and raised anti-TPO index.

Discussion. In addition, early adult men exhibited a higher median of freeT3 and freeT4, probably owing to age-related features of iodothyronine metabolism, which might have kept thyroid function from its decompensation. The higher value of PCI demonstrated by the early adulthood subjects showed that the growth in the concentration of peripheral hormones of PTS developed at the expense of freeT3 resulted from the age compensatory mechanism of saving endocrine responses under the regional goiter-endemic conditions to ensure a sufficient level of metabolism and thermoregulation.

Conclusion. The assessment study allowed us to analyze the performance of pituitary-thyroid system of residents of Magadan city as one of the goiter-endemic regions of Russia and identify age-specific characteristics of thyroid metabolism.

Key words: men; goiter endemia; thyroid hormones

For citation: Stepanova E.M., Lugovaya E.A. Age-related aspects of thyroid status of men living in goiter-endemic conditions. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2024; 69 (12): 650-657 (in Russ.). DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2024-69-12-650-657>
EDN: AMKMRL

For correspondence: Stepanova E.M., Researcher, Bioelementology and Functional Morphology Laboratory; e-mail: at-evgenia@mail.ru

Information about authors:

Stepanova E.M., <https://orcid.org/0000-0002-2223-1358>;

Lugovaya E.A., <https://orcid.org/0000-0002-6583-4175>.

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

Acknowledgment. The study had no sponsor support.

Received 21.07.2024

Accepted 18.10.2024

Published 20.11.2024

На сегодняшний день практически вся территория Российской Федерации является геохимической провинцией с разной степенью дефицита йода [1-6].

Исходя из аналитического отчета за период 2009-2018 гг. о динамике эпидемиологических показателей тиреоидной патологии у населения Российской Федерации, представленного в работе Е.А. Трошиной и соавт. [6], наблюдается статистически значимый рост распространенности различных форм зоба, тиреотоксикоза, синдрома йодной недостаточности. При этом географическая близость проживания человека к морю (наличие морских продуктов, богатых йодом и насыщенность биосферы йодом) не является гарантией йодного благополучия. По данным И.И. Дедова и соавт. [7], у населения некоторых островных и прибрежных территорий отмечены нарушение функции щитовидной железы и проявления йододефицитных заболеваний, что справедливо и для приморских районов Магаданской области, следствием чего является снижение функциональных и компенсаторных возможностей щитовидной железы и формирование гипотиреоидного статуса у населения^{1,2}. В работе И.В. Аверьяновой и соавт. [4] проведен сравнительный анализ макро- и микронутриентного профиля рациона питания юношей прибрежных зон Магаданской области и Чукотского автономного округа (ЧАО), который показал выраженный дефицит поступления с пищей йода (в рационе у 95% магаданцев и 55% европеоидов ЧАО), что связано, по предположению авторов, с уменьшением в рационе питания доли морепродуктов, прежде всего рыбы, а также выраженным дефицитом в рационе питания селена (у 98% магаданцев и 100% жителей ЧАО) – одного из кофакторов усвоения йода, играющего важную роль в оптимальном функционировании щитовидной железы. В структуре заболеваемости населения г. Магадана³, связанной с микронутриентной недостаточностью с впервые в жизни

установленным диагнозом в 2022 году, первое место занимают другие формы нетоксического зоба, второе – субклинический гипотиреоз вследствие йодной недостаточности и другие формы гипотиреоза. При этом темп прироста показателя заболеваемости в 2022 г. в % к 2021 г. другими формами нетоксического зоба составил 53,5%, тиреоидитом – 29,1%, субклиническим гипотиреозом вследствие йодной недостаточности и другими формами гипотиреоза – 14,3%, тиреотоксикозом (гипертиреозом) – в 3,7 раз.

Имеются существенные доказательства того, что тиреоидный статус организма изменяется на разных стадиях жизненного цикла человека [13-15]. В настоящем исследовании проведена комплексная возрастная оценка тиреоидного статуса юношей и мужчин зобно-эндемичного региона России (на примере г. Магадана).

Материал и методы. Проведено перекрестное неконтролируемое исследование, в котором приняли участие клинически здоровые жители г. Магадана мужского пола юношеского ($n=45$, средний возраст $16,84\pm 0,12$ лет), и зрелого возраста ($n=64$, средний возраст $42,02\pm 0,87$ лет).

Критерии включения в исследование: соматически здоровые лица, проживающие на территории г. Магадана не менее 5 лет; полученное добровольное согласие респондентов на участие в исследовании; соблюдение правил подготовки к проведению лабораторных исследований.

Критерии исключения: наличие эндокринной и другой хронической патологии, прием гормональных препаратов, биологически активных веществ и микронутриентов, влияющих на функцию щитовидной железы, наличие вредных привычек (курение и употребление психоактивных веществ), повышенные физические нагрузки накануне взятия биологического материала.

Исследование проведено в соответствии с общепринятыми этическими принципами, нормами и правилами проведения научных исследований⁴.

Взятие крови проводили с соблюдением правил асептики и антисептики путем венепункции, утром во временном промежутке 7:00-10:00, после 8 часов голодания, в процедурном кабинете независимой ла-

¹Горбачев А.Л., Ефимова А.В., Луговая Е.А. Эндемический зоб у детей г. Магадана. Эпидемиология, экологические факторы. Магадан: Изд-во СМУ; 2004.

²Максимов А.Л., Горбачев А.Л., Ефимова А.В., Курьянов А.В. Инварианты морфометрической нормы щитовидной железы у взрослого населения Магаданского региона. Научно-практические рекомендации. Магадан: МНИЦ «Арктика» СВНЦ ДВО РАН; 2000.

³О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в городе Магадане в 2023 году: Доклад. Управление Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Магаданской области; 2024.

⁴Хельсинкская декларация Всемирной медицинской ассоциации 1964 г. с изменениями и дополнениями 2013 г.; ФЗ № 323 «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации» от 21.11.2011 г.; ФЗ № 152 «О персональных данных» от 27.07.2006 г.

боратории ООО «Юнилаб-Хабаровск». В сыворотке крови иммунохемилюминесцентным методом с использованием парамагнитных частиц на анализаторе Beckman Coulter UniCel DxI 800 Access Immunoassay System определяли маркеры функционального состояния тиреоидной системы: тиреотропный гормон - ТТГ, антитела к тиреопероксидазе - антиТПО, тироксин свободный - свТ4, трийодтиронин свободный - свТ3. Референсные пределы тиреоидных показателей приведены согласно инструкциям к наборам для иммунохемилюминесцентного анализа. Помимо абсолютных сывороточных концентраций тиреоидных гормонов, функцию тиреоидной системы оценивали на основе расчетных индексов: интегрального тиреоидного индекса (ИТИ), индекса периферической конверсии (ИПК) [16,17].

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием программы IBM SPSS Statistics 21.0. Характер распределения полученных значений определяли методом Колмогорова–Смирнова.

В связи с тем, что большинство полученных значений не имели нормального распределения, для установления различий между двумя независимыми выборками по количественным показателям применяли непараметрический критерий Манна–Уитни (U). Параметры описательной статистики для количественных показателей приведены в виде медианы (Me) и интерквартильного интервала (25-й; 75-й процентиль). Критическое значение уровня статистической значимости при проверке нулевых гипотез составляло $p < 0,05$. Анализ вероятностной связи между функциональными маркерами тиреоидной системы проводили с использованием коэффициента ранговой корреляции Спирмена: менее 0,3 – слабая связь, от 0,3 до 0,5 – умеренная, от 0,5 до 0,7 – значительная, от 0,7 до 0,9 – сильная и более 0,9 – очень сильная.

Результаты. Показатели информативных маркеров состояния гипотазарно-тиреоидной системы существенно различались у лиц мужского пола в юношеском и зрелом возрасте (табл. 1).

Таблица 1

Уровни маркеров состояния тиреоидной системы у лиц мужского пола г. Магадана (Me (p25; p75))

| Показатели | Юноши | Мужчины | p-уровень |
|----------------------------|---|----------------------|-----------|
| ТТГ, мкМЕ/мл | 2,11 (1,44; 2,72) | 1,86 (1,36; 2,32) | <0,001 |
| свТ3, пмоль/л | 5,66 (5,42; 6,00) | 5,22 (4,85; 5,58) | <0,001 |
| свТ4, пмоль/л | 12,81 (11,42; 13,94) | 12,67 (11,35; 14,15) | <0,001 |
| антиТПО, МЕ/л | 2,85 (2,58; 3,85) | 2,52 (2,14; 3,36) | 0,001 |
| ИТИ | 8,90 (6,47; 12,63) | 9,48 (7,54; 13,76) | 0,352 |
| ИПК | 0,45 (0,41; 0,49) | 0,41 (0,38; 0,44) | 0,001 |
| Референсные пределы | | | |
| ТТГ, мкМЕ/мл | 17 лет: 0,95-3,0 18-19 лет: 0,92-3,1 | 0,4-4,0 | |
| свТ3, пмоль/л | 2,76-6,45 | 2,76-6,45 | |
| свТ4, пмоль/л | 3-19 лет: 7,85-13,64 | 7,73-16,16 | |
| антиТПО, МЕ/л | < 30 | < 30 | |

Медианы уровня гормонов тиреоидной системы укладывались в референсные пределы показателей в обеих исследуемых группах. Однако полученные данные позволяют проследить ряд возрастных различий показателей функционального состояния оси «гипофиз-щитовидная железа».

Статистически значимо большее медианное значение уровня сывороточного ТТГ, свободных фракций йодтиронинов и антител к тиреопероксидазе выявлено у юношей ($p \leq 0,001$). Показатель тканевого превращения тироксина в его биологически более активный метаболит трийодтиронин (ИПК) был значимо выше также у юношей, а величина ИТИ не имела статистически значимых возрастных различий.

В обеих возрастных группах отмечался значительный разброс значений сывороточного ТТГ (коэффициент вариации $CV=0,47\%$), в связи с этим мы условно выделили в каждой возрастной группе подгруппы лиц с низко-нормальным (0,92-2,0 мкМЕ/мл для юношей и 0,4-2,0 мкМЕ/мл для мужчин), высоко-нормальным уровнем (2,0-3,1 мкМЕ/мл для юношей и 2,0-4,0

мкМЕ/мл для мужчин), и тех, значение сывороточного ТТГ у которых было выше верхнего референсного предела (табл. 2).

И у юношей, и у мужчин с увеличенным уровнем ТТГ статистически значимо снижается медиана ИТИ ($p < 0,001$). При низко-нормальном уровне ТТГ у юношей по сравнению со взрослыми мужчинами значимо выше содержание свТ3 ($p=0,002$) и ИПК йодтиронинов ($p=0,002$), как и при высоко-нормальных показателях ТТГ – выше содержание свТ3 ($p=0,002$) и ИПК ($p=0,013$). В группе лиц, уровень ТТГ у которых был выше верхнего референсного предела, у мужчин был статистически значимо выше медианный уровень ТТГ ($p=0,005$), ниже – уровни свТ4 ($p=0,014$) и свТ3 ($p=0,002$).

Анализ корреляционных отношений функциональных маркеров гипотазарно-тиреоидной системы позволил выявить как общие корреляционные пары маркеров тиреоидной функции у лиц мужского пола, так и те пары, которые были обнаружены только в корреляционной плеяде в группе юношей или мужчин (табл. 3).

Таблица 2

Содержание тиреоидных гормонов и их соотношений в зависимости от уровня тиреотропного гормона у лиц мужского пола г. Магадана (Ме (p25; p75))

| Юноши | | | |
|---------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| Уровень ТТГ | 0,92-2,0 | 2,0-3,1 | >3,1 |
| Число обследованных | 21 | 16 | 8 |
| ТТГ, мкМЕ/мл | 1,42 (1,07; 1,73) | 2,48 (2,29; 2,72) | 3,76 (3,39; 4,78) |
| свТ3, пмоль/л | 5,66 (5,37; 5,95) | 5,80 (5,45; 6,04) | 5,64 (5,30; 5,92) |
| свТ4, пмоль/л | 13,07 (11,22; 14,07) | 12,83 (11,46; 13,83) | 11,96 (11,24; 14,17) |
| антиТПО, МЕ/л | 2,78 (2,53; 3,38) | 3,33 (2,38; 4,38) | 3,62 (2,50; 6,03) |
| ИТИ | 12,80 (10,72; 17,10) | 7,34 (6,52; 8,09) | 4,80 (3,42; 5,62) |
| ИПК | 0,45 (0,40; 0,49) | 0,45 (0,41; 0,50) | 0,45 (0,40; 0,48) |
| Мужчины | | | |
| Уровень ТТГ | 0,4-2,0 | 2,0-4,0 | >4,0 |
| Число обследованных | 39 | 19 | 6 |
| ТТГ, мкМЕ/мл | 1,48 (1,12; 1,82) | 2,32 (2,25; 2,68) | 4,19 (3,72; 5,04) |
| свТ3, пмоль/л | 5,32 (4,84; 5,59) | 5,26 (4,93; 5,73) | 4,65 (4,55; 5,13) |
| свТ4, пмоль/л | 12,58 (11,35; 14,17) | 12,88 (12,14; 14,70) | 11,51 (9,83; 12,62) |
| антиТПО, МЕ/л | 2,53 (2,00; 3,49) | 2,45 (2,10; 2,70) | 3,12 (2,43; 4,15) |
| ИТИ | 12,86 (9,89; 16,16) | 7,62 (6,73; 8,57) | 3,94 (3,19; 4,60) |
| ИПК | 0,41 (0,37; 0,45) | 0,40 (0,36; 0,43) | 0,45 (0,39; 0,49) |

Таблица 3

Корреляционные связи маркеров тиреоидной функции у лиц мужского пола г. Магадана

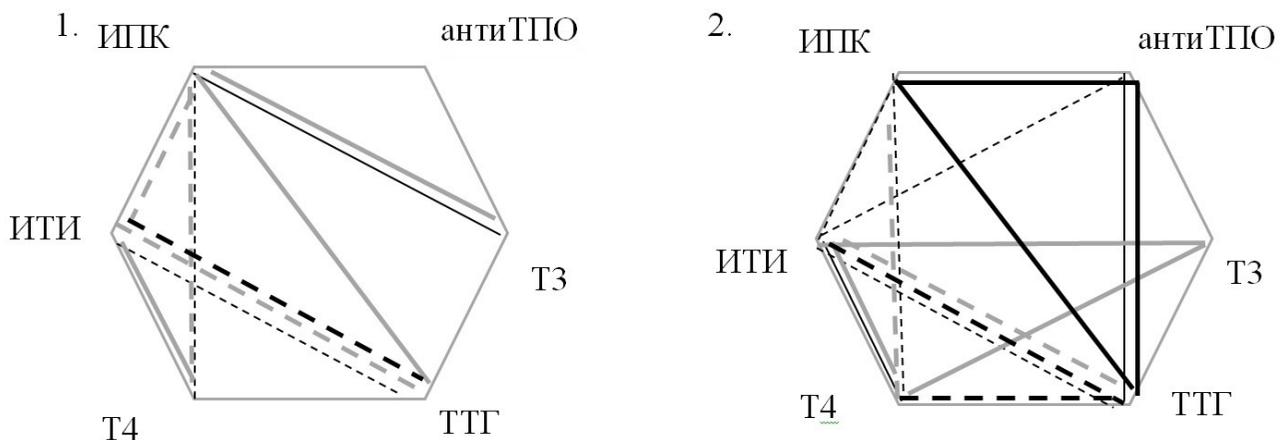
| Связь | Юноши | | Мужчины | | |
|--------------|----------|--------|-----------|----------|--------|
| | г | р | Связь | г | р |
| Возраст-свТ3 | -0,334* | 0,025 | | | |
| ТТГ-ИТИ | -0,978** | <0,001 | ТТГ-ИТИ | -0,948** | <0,001 |
| свТ3-ИПК | 0,373* | 0,012 | свТ3-свТ4 | 0,305* | 0,014 |
| | | | свТ3-ИПК | 0,249* | 0,048 |
| | | | свТ4-ИТИ | 0,328* | 0,008 |
| св.Т4-ИПК | -0,783** | <0,001 | свТ4-ИПК | -0,810** | <0,001 |
| | | | ИТИ-ИПК | -0,260* | 0,038 |

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

В группе юношей уровень свТ3 связан с возрастом обратной корреляционной связью умеренной силы. Независимо от возраста, в гипофизарно-тиреоидной системе выявлены статистически значимые физиологические связи между ТТГ и ИТИ, свободными фрак-

циями йодтиронинов и ИПК. При этом только у мужчин выявлены связи свТ3/свТ4, свТ4/ИТИ, ИПК/ИТИ.

Корреляционные плеяды также различаются в группах с разным уровнем сывороточного ТТГ (см. рисунок).



Матрицы корреляционных отношений маркеров тиреоидной функции и их соотношений в зависимости от уровня тиреотропного гормона у мужчин г. Магадана.

1 – юноши, 2 – мужчины; сплошная линия – прямая корреляционная статистически значимая связь, пунктирная – обратная связь; черная линия – низко-нормальный уровень ТТГ, серая линия – высоко-нормальный уровень ТТГ, черная полужирная линия – концентрация ТТГ выше верхнего порога возрастного референсного диапазона.

Наибольшее число значимых корреляционных связей между функциональными параметрами тиреоидной системы выявлено у мужчин. Независимо от сывороточного уровня ТТГ в корреляционной матрице мужчин обнаружены связи ТТГ/ИТИ, свТ4/ИТИ, свТ4/ИПК, в группе с низко-нормальным ТТГ и со значением выше верхнего предела референсного интервала – антиТПО/ТТГ, антиТПО/ИПК, с высоко-нормальным ТТГ формируется треугольник свТ3/свТ4/ИТИ. В юношеском возрасте при низко- и высоко-нормальном уровне сывороточного ТТГ выстраивается прямая связь умеренной силы свТ3/ИПК и обратные сильные связи свТ4/ИПК и ТТГ/ИТИ.

Обсуждение. Одной из наиболее обсуждаемых проблем клинической тиреологии является вопрос о референсных значениях уровня ТТГ [18, 19]. Национальная академия клинической биохимии (НАКБ) США в 2003 г., при участии тиреологических ассоциаций мира, опубликовала данные о том, что уровень ТТГ, превышающий 2,5 мЕд/л, может являться предиктором развития гипотиреоза. При этом были даны рекомендации по более активному наблюдению лиц с высоко-нормальным уровнем ТТГ [20]. В то же время в литературе встречается информация о целесообразности снижения верхней границы референсных значений ТТГ [21-23]. Указывалось, что ТТГ в интервале 2,0–4,0 мЕд/л определяется лишь у 5% населения, причем с повышенной распространенностью носительства антител к щитовидной железе. Было высказано предположение, что лица с уровнем ТТГ, превышающим 2,5–3 мЕд/л, находятся на ранней стадии развития гипотиреоза, а НАКБ (США) в таких случаях рекомендовал повторную оценку уровня ТТГ через 3 нед и/или определение уровня антиТПО. Кроме того, в пользу снижения верхней границы референсных значений ТТГ свидетельствуют результаты 20-летнего исследования, определившего возрастающий риск развития гипотиреоза при уровне ТТГ, превышающем 2 мЕд/л [24, 25]. На основании сказанного выше, обследованных лиц мы разделили на 3 группы: лица с низко-нормальным, с высоко-нормальным уровнем сывороточного ТТГ и его концентрацией выше верхнего порогового значения.

Концентрация ТТГ снижается с возрастом, а в районах с дефицитом йода интервалы уровня ТТГ, как правило, ниже, чем в районах с достаточным или избыточным содержанием йода [26-28]. По литературным данным [29-31], избыточная выработка перекиси водорода и активных форм кислорода, вызванная дефицитом йода, может привести к увеличению мутаций в генах и автономному клонированию клеток щитовидной железы, что способствует выработке тиреоидных гормонов и снижает уровень ТТГ. В нашем исследовании медиана концентрации сывороточного ТТГ у юношей находится на высоко-нормальном уровне, что требует особого внимания, поскольку повышенный уровень ТТГ может быть предиктором развития аутоиммунного тиреоидита и в дальнейшем – гипотиреоза [16,17, 32]. Также у юношей выявлена статистически значимо большая медиана уровня свободных фракций Т3 и Т4 по отношению к взрослым мужчинам, что, по некоторым данным, является возрастной особенностью обмена йодтиронинов [33-37].

Статистически значимых различий в показателях

ИПК и ИТИ в разных возрастных группах не выявлено. Более высокую медиану показателя ИПК, отражающего тканевые превращения свТ4 в его биологически активный метаболит свТ3, у юношей по сравнению с мужчинами можно связать с возрастной особенностью в условиях региональной зубной эндемии, что сопровождается статистически значимым увеличением сывороточных йодтиронинов в юношеском возрасте для обеспечения достаточного уровня обмена веществ и терморегуляции. У мужчин выявлено наибольшее медианное значение ИТИ, укладывающееся в диапазон нормы, что исключает риск возникновения гипертиреоза [16, 17].

Корреляционный анализ показал, что структура взаимосвязей между показателями состояния гипофизарно-тиреоидной системы несколько различалась в зависимости от возраста и от уровня сывороточного ТТГ. Интерес представляют корреляционные связи между уровнем антител, тиреоидных гормонов и их соотношениями. Известно, что наличие антиТПО повышает риск развития гипотиреоза [17, 38] и ассоциировано с повышением сывороточного уровня ТТГ [39, 40]. В нашем исследовании корреляционные связи между антиТПО и маркерами гипофизарно-тиреоидной системы обнаружены только в группе мужчин: на фоне низко-нормального медианного значения ТТГ это связи антиТПО/ТТГ ($r=0,411$, $p=0,009$), антиТПО/ИТИ ($r=-0,328$, $p=0,042$), на фоне показателя ТТГ выше верхнего референсного значения – связи антиТПО/ТТГ ($r=0,714$, $p=0,047$), антиТПО/ИПК ($r=0,833$, $p=0,010$).

Выводы

Выявлено, что медианы сывороточных уровней маркеров функциональной активности гипофизарно-тиреоидной системы укладывались в референсные пределы, но различались с возрастом (несколько большие величины - у юношей).

В обеих возрастных группах отмечен значительный разброс значений сывороточного ТТГ. У 36% юношей и 30% мужчин выявлен высоко-нормальный уровень ТТГ, у 18% юношей и 9% мужчин медиана ТТГ была выше верхнего предела референсного диапазона.

Независимо от возраста, выявлены статистически значимые связи между уровнем ТТГ и ИТИ, свободными фракциями йодтиронинов и ИПК.

На фоне высоко-нормального уровня ТТГ снижается интегральный тиреоидный индекс и растет показатель антиТПО, что может свидетельствовать о риске развития аутоиммунного тиреоидита и в дальнейшем – гипотиреоза.

ЛИТЕРАТУРА

1. Мельниченко Г.А., Трошина Е.А., Платонова Н.М., Панфилова Е.А., Рыбакова А.А., Абдулхабирова Ф.М. и др. Йододефицитные заболевания щитовидной железы в Российской Федерации: современное состояние проблемы. Аналитический обзор публикаций и данных официальной государственной статистики (Росстат). *Consilium Medicum*. 2019; 21(4): 14-20. DOI: 10.26442/20751753.2019.4.190337.
2. Похилук Н.В., Горбачев А.Л., Киричук А.А. Особенности развития эндемии зоба у жителей приморских районов Магаданской области. *Современная наука: актуальные проблемы теории и практики*. Серия: Естественные и технические науки. 2023; 5: 158-62. DOI: 10.37882/2223-2966.2023.05.27.
3. Суплотова Л.А., Макарова О.Б., Шарухо Г.В., Ковальжина Л.С.

- Роль питания в профилактике и коррекции йододефицитных состояний на эндемичной территории. *Вопросы питания*. 2018; 87(5): 27-36. DOI: 10.24411/0042-8833-2018-10050.
4. Аверьянова И.В., Вдовенко С.И. Сравнительный анализ макро- и микронутриентного профиля рациона питания юношей северо-востока России. *Социальные аспекты здоровья населения [сетевое издание]*. 2021; 67(2): 13. URL: <http://vestnik.mednet.ru/content/view/1255/30/lang.ru/>. DOI: 10.21045/2071-5021-2021-67-2-13.
 5. Трошина Е.А., Терехова М.А. Физиологические эффекты тиреоидных гормонов в аспекте коморбидности и здорового долголетия. *Медицинский совет*. 2022; 16(23): 216-23. DOI: 10.21518/2079-701X-2022-16-23-216-223.
 6. Трошина Е.А., Платонова Н.М., Панфилова Е.А., Панфилов К.О. Аналитический обзор результатов мониторинга основных эпидемиологических характеристик йододефицитных заболеваний у населения Российской Федерации за период 2009–2015 гг. *Проблемы эндокринологии*. 2018; 64(1): 21-37. DOI: 10.14341/probl9308.
 7. Дедов И.И., Мельниченко Г.А., Трошина Е.А., Платонова Н.М., Абдулхабирова Ф.М., Шатнюк Л.Н. и др. Дефицит йода – угроза здоровью и развитию детей России. Пути решения проблемы. Национальный доклад. М.: 2006. 124 с.
 8. Shahid M.A., Ashraf M.A., Sharma S. Physiology thyroid hormone. [Updated 2024 Jun 5]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK500006/>.
 9. Chaker L., Bianco A.C., Jonklaas J., Peeters R.P. Hypothyroidism. *Lancet*. 2017; 390 (10101): 1550-62. DOI: 10.1016/S0140-6736(17)30703-1.
 10. Hadlow N.C., Rothacker K.M., Wardrop R., Brown S.J., Lim E.M., Walsh J.P. The relationship between TSH and free T(4) in a large population is complex and nonlinear and differs by age and sex. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2013; 98(7): 2936-43. DOI: 10.1210/jc.2012-4223.
 11. Rothacker K.M., Brown S.J., Hadlow N.C., Wardrop R., Walsh J.P. Reconciling the log-linear and non-log-linear nature of the TSH-free T4 relationship: Intra-individual analysis of a large population. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2016; 101: 1151-8. DOI: 10.1210/jc.2015-4011.
 12. Katleen Van Uytvanghe, Joel Ehrenkranz, David Halsall, Kelly Hoff, Tze Ping Loh, Carole A Spencer et al. Thyroid stimulating hormone and thyroid hormones (triiodothyronine and thyroxine): an american thyroid association-commissioned review of current clinical and laboratory status. *Thyroid*. 2023; 33(9): 1013-28. DOI: 10.1089/thy.2023.0169.
 13. Surks M.I., Hollowell J.G. Age-specific distribution of serum thyrotropin and antithyroid antibodies in the US population: implications for the prevalence of subclinical hypothyroidism. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2007; 92(12): 4575-82. DOI: 10.1210/jc.2007-1499.
 14. Stott D.J., Rodondi N., Kearney P.M., Ford I., Westendorp R.G., Mooijaart S.P. et al. Thyroid hormone therapy for older adults with subclinical hypothyroidism. *N. Engl. J. Med.* 2017; 376(26): 2534-44. DOI: 10.1056/NEJMoa1603825.
 15. Hadlow N.C., Rothacker K.M., Wardrop R., Brown S.J., Lim E.M., Walsh J.P. The relationship between TSH and free T4 in a large population is complex and nonlinear and differs by age and sex. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2013; 98(7): 2936-43. DOI: 10.1210/jc.2012-4223.
 16. Горенко И.Н. Соотношение гормонов щитовидной железы у мужчин г. Архангельска и с. Несь (Ненецкий автономный округ). *Журнал медико-биологических исследований*. 2017; 4: 14-20. DOI: 10.17238/issn2542-1298.2017.5.4.14.
 17. Горенко И. Н., Киприянова К. Е., Типисова Е. В. Тиреоидные гормоны и уровень антител у здоровых жителей Архангельской области. *Экология человека*. 2018; 25(9): 36-41. DOI:10.33396/1728-0869-2018-9-36-41.
 18. Самсонова Л.Н., Касаткина Э.П. Нормативы уровня тиреотропного гормона в крови: современное состояние проблемы. *Проблемы эндокринологии*. 2007; 53(6): 40-3. DOI: 10.14341/probl200753640-43.
 19. Свиридонова М.А., Фадеев В.В. Значение вариабельности уровня ТТГ в клинической практике. *Клиническая и экспериментальная тиреоидология*. 2008; 4(4): 16-24. DOI: 10.1530/eje.1.02136.
 20. Baloch Z., Carayon P., Conte-Devolx B., Demers L.M., Feldt-Rasmussen U. Henry Jean-François et al. Guidelines committee, national academy of clinical biochemistry. Laboratory medicine practice guidelines. Laboratory support for the diagnosis and monitoring of thyroid disease. *Thyroid*. 2003; 13(1): 3-126. DOI: 10.1089/105072503321086962.
 21. Brabant G., Beck-Peccoz P., Jarzab B., Laurberg P., Orgiazzi J., Szabolcs I. et al. Is there a need to redefine the upper normal limit of TSH? *Eur. J. Endocrinol.* 2006; 154: 633-7. DOI: 10.1530/eje.1.02136.
 22. Wartofsky L., Dickey R.A. The evidence for a narrower thyrotropin reference range is compelling. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2005; 90: 5483-8. DOI: 10.1210/jc.2005-0455.
 23. Елфимова А.Э., Типисова Е.В., Молодовская И.Н., Аликина В.А. Гормональный профиль жителей Европейского Севера с разными уровнями тиреотропного гормона. *Проблемы репродукции*. 2021; 27(3): 49-57. DOI: 10.17116/repro20212703149.
 24. Hollowell J.G., Staehling N.W., Flanders W.D., Hannon W.H., Gunter E.W., Spencer C.A., et al. Serum TSH, T4, and thyroid antibodies in the United States population (1988 to 1994): national health and nutrition examination survey (NHANES III). *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2002; 87: 489-99. DOI:10.1210/jcem.87.2.8182.
 25. Типисова Е.В., Киприянова К.Е., Горенко И.Н., Лобанов А.А., Попов А.И., Андронов С.В., Попкова В.А., Елфимова А.Э. Содержание дофамина и гормонов системы гипофиз – щитовидная железа в крови у кочующего, оседлого и местного населения Арктики. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2017; 62(5): 291-6. DOI: 10.18821/0869-2084-2017-62-5-291-296.
 26. Clerico A., Trenti T., Aloe R., Dittadi R., Rizzardi S., Migliardi M. et al. A multicenter study for the evaluation of the reference interval for TSH in Italy (ELAS TSH Italian Study). *Clin. Chem. Lab. Med.* 2018; 57(2): 259-67. DOI: 10.1515/cclm-2018-0541.
 27. Xing D., Liu D., Li R., Zhou Q., Xu J. Factors influencing the reference interval of thyroid-stimulating hormone in healthy adults: a systematic review and meta-analysis. *Clin. Endocrinol. (Oxf)*. 2021; 95(3): 378-89. DOI: 10.1111/cen.14454.
 28. Peter N. Taylor, Adrian Sayers, Onyebuchi Okosieme, Gautam Das, Mohd S. Draman, Arshiya Tabasum et al. Dayan maturation in serum thyroid function parameters over childhood and puberty: results of a longitudinal study. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2017; 102(7): 2508-15. DOI: 10.1210/jc.2016-3605.
 29. Laurberg P., Cerqueira C., Ovesen L., Rasmussen L.B., Perrild H., Andersen S. et al. Iodine intake as a determinant of thyroid disorders in populations. *Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.* 2010; 24(1): 13-27. DOI: 10.1016/j.beem.2009.08.013.
 30. Liu X.H., Chen G.G., Vlantis A.C., van Hasselt C.A. Iodine mediated mechanisms and thyroid carcinoma. *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.* 2009; 46(5-6): 302-18. DOI: 10.3109/10408360903306384.
 31. Petersen M., Bulow Pedersen I., Knudsen N., Andersen S., Jorgensen T., Perrild H. et al. Changes in subtypes of overt thyrotoxicosis and hypothyroidism following iodine fortification. *Clin. Endocrinol. (Oxf)*. 2019; 91(5): 652-9. DOI: 10.1111/cen.14072.
 32. Степанова Е.М. Тиреоидный статус женщин репродуктивного возраста, проживающих в условиях зонной эндемии. *Siberian Journal of Life Sciences and Agriculture*. 2023; 15(5): 97-116. DOI: 10.12731/2658-6649-2023-15-5-92.
 33. Yan Lu, Wen-Xia Zhang, De-Hong Li, Lian-Hua Wei, Yu-Jun Zhang, Fu-Na Shi et al. Thyroid hormone reference intervals among healthy individuals in Lanzhou, China. *Endocrinology and Metabolism*. 2023; 38(3): 347-56. DOI:10.3803/EnM.2023.1638.
 34. Tiancheng Xie, Mingchuan Su, Jie Feng, Xiaoying Pan, Chuan Wang, Tian Tang The reference intervals for thyroid hormones: a four year investigation in Chinese population. *Frontiers in Endocrinology*. 2023; 13: 1-8. DOI:10.3389/fendo.2022.1046381.
 35. Federica D'Aurizio, Jürgen Kratzsch, Damien Gruson, Petra Petranović Ovcariček, Luca Giovannella Free thyroxine measurement in clinical practice: how to optimize indications, analytical procedures, and interpretation criteria while waiting for global standardization. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*. 2022; 60(2): 101-40. DOI: 10.1080/10408363.2022.2121960.
 36. Ruggero Dittadi, Paolo Carraro Age- and sex-related reference interval for free thyroxine: an indirect approach. *Annals of Clinical Biochemistry*. 2021; 58(6): 675-7. DOI: 10.1177/00045632211020027.
 37. Селятицкая В.Г., Иценко Е.Н., Герасимова И.Ш., Кузьминова О.И., Рябиченко Т.И. Тиреоидный статус подростков разного

- пола. *Бюллетень СО РАМН*. 2009; 136 (2): 26-30.
38. Prummel M.F., Wiersinga W.M. Thyroid peroxidase auto antibodies in euthyroid subjects. *West. Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.* 2005; 19(1): 1-15. DOI: 10.1016/j.beem.2004.11.003.
39. Горенко И.Н. Тиреоидные гормоны и аутоантитела у представителей различных национальностей Арктической зоны Российской Федерации. *Журнал медико-биологических исследований*. 2020; 8(1): 14-22. DOI: 10.17238/issn2542-1298.2020.8.1.14.
40. Tipu H.N., Ahmed D., Bashir M.M., Asif N. Significance of testing anti-thyroid autoantibodies in patients with deranged thyroid profile. *J. Thyroid Res.* 2018; 2018: 1-5. DOI: 10.1155/2018/9610497.

REFERENCES

1. Mel'nichenko G.A., Troshina E.A., Platonova N.M., Panfilova E.A., Rybakova A.A., Abdulhabirova F.M. et al. Iodine deficiency thyroid disease in the Russian Federation: the current state of the problem. Analytical review of publications and data of official state statistics (Rosstat). *Consilium Medicum*. 2019; 21 (4): 14-20. DOI: 10.26442/20751753.2019.4.190337. (in Russian)
2. Pokhilyuk N., Gorbachev A., Kirichuk A. Features of the development of endemic goiter in residents of the coastal regions of the Magadan region. *Sovremennaja nauka: aktual'nye problemy teorii i praktiki. Seriya: Estestvennye i tekhnicheskie nauki*. 2023; 5: 158-62. DOI: 10.37882/2223-2966.2023.05.27. (in Russian)
3. Suplotova L.A., Makarova O.B., Sharukho G.V., Kovalzhina L.S. The role of food in prevention and correction of iodine deficiency in the endemic territory. *Voprosy pitaniya*. 2018; 87 (5): 27-36. DOI: 10.24411/0042-8833-2018-10050. (in Russian)
4. Averyanova I.V., Vdovenko S.I. Comparative analysis of macro- and micronutrient profile of young males in the Russian northeast. *Sotsial'nye aspekty zdorov'ya naseleniya [serial online]*. 2021; 67(2): 13. Available from: <http://vestnik.mednet.ru/content/view/1255/30/lang.ru/>. DOI: 10.21045/2071-5021-2021-67-2-13. (in Russian).
5. Troshina E.A., Terekhova M.A. Physiological effects of thyroid hormones in the aspect of comorbidity and healthy longevity. *Meditsinskiy Sovet*. 2022; 16(23): 216-23. DOI: 10.21518/2079-701X-2022-16-23-216-223. (in Russian)
6. Troshina E.A., Platonova N.M., Panfilova E.A., Panfilov K.O. The analytical review of monitoring of the basic epidemiological characteristics of iodine deficiency disorders among the population of the Russian Federation for the period 2009-2015. *Problemy endokrinologii*. 2018; 64(1): 21-37. DOI: 10.14341/probl9308. (in Russian)
7. Dedov I.I., Melnichenko G.A., Troshina E.A., Platonova N.M., Abdulhabirova F.M., Shatnyuk L.N. et al. The iodine deficiency threat to the health and development of russian children: a national report. Moscow: 2006. 124 p. (in Russian)
8. Shahid M.A., Ashraf M.A., Sharma S. Physiology, thyroid hormone. [Updated 2024 Jun 5]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK500006/>.
9. Chaker L., Bianco A.C., Jonklaas J., Peeters R.P. Hypothyroidism. *Lancet*. 2017; 390 (10101): 1550-62. DOI: 10.1016/S0140-6736(17)30703-1.
10. Hadlow N.C., Rothacker K.M., Wardrop R., Brown S.J., Lim E.M., Walsh J.P. The relationship between TSH and free T(4) in a large population is complex and nonlinear and differs by age and sex. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2013; 98(7): 2936-43. DOI: 10.1210/jc.2012-4223.
11. Rothacker K.M., Brown S.J., Hadlow N.C., Wardrop R., Walsh J.P. Reconciling the log-linear and non-log-linear nature of the TSH-free T4 relationship: intra-individual analysis of a large population. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2016; 101: 1151-8. DOI: 10.1210/jc.2015-4011.
12. Katleen Van Uytfganghe, Joel Ehrenkranz, David Halsall, Kelly Hoff, Tze Ping Loh, Carole A. Spencer et al. Thyroid stimulating hormone and thyroid hormones (triiodothyronine and thyroxine): an American thyroid association-commissioned review of current clinical and laboratory status. *Thyroid*. 2023; 33(9): 1013-28. DOI: 10.1089/thy.2023.0169.
13. Surks M.I., Hollowell J.G. Age-specific distribution of serum thyrotropin and antithyroid antibodies in the US population: implications for the prevalence of subclinical hypothyroidism. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2007; 92(12): 4575-82. DOI: 10.1210/jc.2007-1499.
14. Stott D.J., Rodondi N., Kearney P.M., Ford I., Westendorp R.G., Mooijart S.P. et al. Thyroid hormone therapy for older adults with subclinical hypothyroidism. *N. Engl. J. Med.* 2017; 376(26): 2534-44. DOI: 10.1056/NEJMoa1603825.
15. Hadlow N.C., Rothacker K.M., Wardrop R., Brown S.J., Lim E.M., Walsh J.P. The relationship between TSH and free T4 in a large population is complex and nonlinear and differs by age and sex. *J Clin Endocrinol Metab.* 2013; 98(7): 2936-43. DOI: 10.1210/jc.2012-4223.
16. Gorenko I.N. Ratio of thyroid hormones in men from Arkhangelsk and Nes Village (Nenets Autonomous Area). *Zhurnal mediko-biologicheskikh issledovaniy*, 2017; 5 (4): 14-20. DOI: 10.17238/issn2542-1298.2017.5.4.14. (in Russian)
17. Gorenko I. N., Kipriyanova K. E., Tipisova E. V. Thyroid hormones and antibody level in healthy residents of the Arkhangelsk Region. *Ekologiya cheloveka*. 2018; 9: 36-41. DOI: 10.33396/1728-0869-2018-9-36-41. (in Russian)
18. Samsonova L.N., Kasatkina E.P. Standards of blood thyroid-stimulating levels: state-of-the-art. *Problemy endokrinologii*. 2007; 53(6): 40-3. DOI: 10.14341/probl200753640-43. (in Russian)
19. Sviridonova M.A., Fadeev V.V. Clinical significance of thyrotropin variability clinical and experimental thyroidology. *Klinicheskaya i eksperimental'naya tiroidologiya*. 2008; 4(4): 16-24. DOI: 10.1530/eje.1.02136. (in Russian)
20. Baloch Z., Carayon P., Conte-Devolx B., Demers L.M., Feldt-Rasmussen U., Henry Jean-François et al. Guidelines Committee, National Academy of Clinical Biochemistry. Laboratory medicine practice guidelines. Laboratory support for the diagnosis and monitoring of thyroid disease. *Thyroid*. 2003; 13: 3-126. DOI: 10.1089/105072503321086962.
21. Brabant G., Beck-Peccoz P., Jarzab B., Laurberg P., Orgiazzi J., Szabolcs I. et al. Is there a need to redefine the upper normal limit of TSH? *Eur. J. Endocrinol.* 2006; 154: 633-7. DOI: 10.1530/eje.1.02136.
22. Wartofsky L., Dickey R.A. The evidence for a narrower thyrotropin reference range is compelling. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2005; 90: 5483-8. DOI: 10.1210/jc.2005-0455.
23. Elfimova A.E., Tipisova E.V., Molodovskaya I.N., Alikina V.A. Hormonal profile of residents of the European North with different TSH levels. *Problemy reproduktivnoy* 2021; 27(3): 49-57. DOI: 10.17116/repro20212703149. (in Russian)
24. Hollowell J.G., Staehling N.W., Flanders W.D., Hannon W.H., Gunter E.W., Spencer C.A., et al. Serum TSH, T4, and thyroid antibodies in the United States population (1988 to 1994): national health and nutrition examination survey (NHANES III). *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2002; 87: 489-99. DOI: 10.1210/jcem.87.2.8182.
25. Tipisova E.V., Kipriyanova K.E., Gorenko I.N., Lobanov A.A., Popov A.I., Andronov S.V., Popkova V.A., Elfimova A.E. The content of dopamine and hormones of system "hypophysis-thyroid" in blood of nomadic, settled and local population of the Arctic *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2017; 62(5): 291-6. DOI: 10.18821/0869-2084-2017-62-5-291-296. (in Russian)
26. Clerico A., Trenti T., Aloe R., Dittadi R., Rizzardi S., Migliardi M. et al. A multicenter study for the evaluation of the reference interval for TSH in Italy (ELAS TSH Italian Study). *Clin. Chem. Lab. Med.* 2018; 57(2): 259-67. DOI: 10.1515/cclm-2018-0541.
27. Xing D., Liu D., Li R., Zhou Q., Xu J. Factors influencing the reference interval of thyroid-stimulating hormone in healthy adults: a systematic review and meta-analysis. *Clin. Endocrinol. (Oxf)*. 2021; 95(3): 378-89. DOI: 10.1111/cen.14454.
28. Peter N. Taylor, Adrian Sayers, Onyebuchi Okosieme, Gautam Das, Mohd S. Draman, Arshiya Tabasum et al. Maturation in serum thyroid function parameters over childhood and puberty: results of a longitudinal study. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2017; 102(7): 2508-15. DOI: 10.1210/jc.2016-3605.
29. Laurberg P., Cerqueira C., Ovesen L., Rasmussen L.B., Perrild H., Andersen S. et al. Iodine intake as a determinant of thyroid disorders in populations. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2010; 24(1): 13-27. DOI: 10.1016/j.beem.2009.08.013.
30. Liu X.H., Chen G.G., Vlantis A.C., van Hasselt C.A. Iodine mediated mechanisms and thyroid carcinoma. *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.* 2009; 46(5-6): 302-18. DOI: 10.3109/10408360903306384.
31. Petersen M., Bulow Pedersen I., Knudsen N., Andersen S., Jorgensen

- T., Perrild H. et al. Changes in subtypes of overt thyrotoxicosis and hypothyroidism following iodine fortification. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2019; 91(5): 652-9. DOI: 10.1111/cen.14072.
32. Stepanova E.M. Thyroid status in women of reproductive age living under mild iodine deficiency conditions. *Siberian Journal of Life Sciences and Agriculture*. 2023; 15(5): 97-116. DOI: 10.12731/2658-6649-2023-15-5-928. (in Russian)
33. Yan Lu, Wen-Xia Zhang, De-Hong Li, Lian-Hua Wei, Yu-Jun Zhang, Fu-Na Shi, Shen Zhou Thyroid hormone reference intervals among healthy individuals in Lanzhou, China. *Endocrinology and Metabolism*. 2023; 38(3): 347-56. DOI: 10.3803/EnM.2023.1638.
34. Tiancheng Xie, Mingchuan Su, Jie Feng, Xiaoying Pan, Chuan Wang, Tian Tang The reference intervals for thyroid hormones: a four year investigation in Chinese population. *Frontiers in Endocrinology*. 2023; 13: 1-8. DOI: 10.3389/fendo.2022.1046381.
35. Federica D'Aurizio, Jürgen Kratzsch, Damien Gruson, Petra Petranović Ovcariček, Luca Giovanella Free thyroxine measurement in clinical practice: how to optimize indications, analytical procedures, and interpretation criteria while waiting for global standardization. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*. 2022; 60(2): 101-40. DOI: 10.1080/10408363.2022.2121960.
36. Ruggero Dittadi, Paolo Carraro Age- and sex-related reference interval for free thyroxine: An indirect approach. *Annals of Clinical Biochemistry*. 2021; 58(6): 675-7. DOI: 10.1177/00045632211020027.
37. Selyatitskaya V.G., Itsenko E.N., Gerasimova I.Sh., Kuzminova O.I., Ryabichenko T.I. Adolescents of various sex thyroid status. *Byulleten' Sibirskogo otdeleniya RAMN*. 2009; 136 (2): 26-30. (in Russian)
38. Prummel M.F., Wiersinga W.M. Thyroid peroxidase auto antibodies in euthyroid subjects. *Best. Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.* 2005; 19(1): 1-15. DOI: 10.1016/j.beem.2004.11.003.
39. Gorenko I.N. Thyroid hormones and autoantibodies in representatives of different ethnic groups living in the Arctic Zone of the Russian Federation. *Zhurnal mediko-biologicheskikh issledovaniy*. 2020; 8(1): 14-22. DOI: 10.17238/issn2542-1298.2020.8.1.14. (in Russian)
40. Tipu H.N., Ahmed D., Bashir M.M., Asif N. Significance of testing anti-thyroid autoantibodies in patients with deranged thyroid profile. *J. Thyroid Res*. 2018; 2018: 1-5. DOI: 10.1155/2018/9610497.

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2024

Типисова Е.В., Аликина В.А., Елфимова А.Э., Молодовская И.Н., Зябишева В.Н.

РЕАКТИВНОСТЬ ДОФАМИНЕРГИЧЕСКОЙ И ГИПОТАЛАМО-ГИПОФИЗАРНО-ГОНАДНОЙ СИСТЕМ НА ИЗМЕНЕНИЕ ФОТОПЕРИОДА ГОДА У МУЖЧИН АРКТИЧЕСКИХ ТЕРРИТОРИЙ



ФГБУН Федеральный исследовательский центр комплексного изучения Арктики имени академика Н.П. Лавёрова Уральского отделения РАН, 163000, г. Архангельск, Россия

Одним из факторов, влияющих на репродуктивную систему, является сезонное изменение продолжительности светового дня. **Цель исследования:** изучение реакций гипоталамо-гипофизарно-гонадной системы и периферической дофаминергической системы в период минимального светового дня и его увеличения у практически здоровых мужчин, родившихся и проживающих на территории Арктической зоны Российской Федерации.

Материал и методы. Обследованы 139 мужчин 22-59 лет (местное европеоидное население поселков, оседлое аборигенное население, кочевое аборигенное население) в период минимальной продолжительности светового дня (декабрь) и в период увеличения светового дня (март). Методом иммуноферментного анализа в сыворотке и плазме крови определяли уровни половых гормонов, дофамина.

Результаты и обсуждение. У кочевого населения в марте, по сравнению с декабрем, выявлено увеличение уровней дофамина, фоллитропина (ФСГ), пролактина, прогестерона, общего и свободного тестостерона (Т и св. Т), эстрадиола, дегидроэпиандростерон-сульфата на фоне снижения уровня секс-стероидсвязывающего глобулина и индекса тестостерон/эстрадиол (Т/Е₂) при наличии корреляций между содержанием дофамина и ЛГ ($r = 0,59$; $p = 0,021$), дофамина и св. Т ($r = 0,89$; $p = 0,014$). У местного европеоидного населения дофамин увеличился незначительно, нарастали уровни ФСГ, прогестерона, эстрадиола при снижении индекса Т/Е₂ в марте по сравнению с декабрем. В декабре корреляции выявлены между уровнем дофамина и эстрадиола ($r = -0,76$; $p < 0,001$), дофамина и индекса Т/Е₂ ($r = 0,57$; $p = 0,016$).

Заключение. В марте повышение уровня дофамина у кочевого населения сопровождается активацией гипоталамо-гипофизарно-гонадной системы и снижением индекса Т/Е₂, что, возможно, указывает на усиление стероидогенеза и повышение ароматизации тестостерона на фоне нарастания уровня ФСГ. У местного европеоидного населения снижение индекса Т/Е₂ сочетается с выявлением низких значений тестостерона на фоне высоких концентраций прогестерона. В декабре у всех групп отмечены низкие уровни эстрадиола, что, вероятно, следует рассматривать как дизадаптационный критерий, который может сопровождаться компенсаторной реакцией со стороны дофаминергической системы.

Ключевые слова: половые гормоны; секс-стероидсвязывающий β -глобулин; дофамин; Арктика; фотопериодика; мужчины

Для цитирования: Типисова Е.В., Аликина В.А., Елфимова А.Э., Молодовская И.Н., Зябишева В.Н. Реактивность дофаминергической и гипоталамо-гипофизарно-гонадной систем на изменение фотопериода года у мужчин арктических территорий. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2024; 69 (12): 658-664.

DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2024-69-12-658-664>

EDN: AZILJB

Для корреспонденции: Типисова Елена Васильевна, д-р биол. наук, гл. науч. сотр., зав. лаб. эндокринологии им. проф. А.В. Ткачева; e-mail: tipisova@rambler.ru

Финансирование. Работа выполнена за счёт средств государственного задания на научно-исследовательскую работу «Фотопериодическая зависимость физиологических эффектов дофамина на функциональную активность систем гипофиз – щитовидная железа и гипофиз – гонады у жителей Арктических территорий». Регистрационный номер 122120100026-3.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 19.04.2024
Принята к печати 27.06.2024
Опубликовано 20.11.2024

Tipisova E.V., Alikina V.A., Elfimova A.E., Molodovskaya I.N., Zyabisheva V.N.

REACTIONS OF THE DOPAMINERGIC AND HYPOTHALAMIC-PITUITARY-GONADAL SYSTEMS TO PHOTOPERIOD CHANGES DURING THE YEAR IN MALES OF THE ARCTIC TERRITORIES

N. Laverov Federal Center for Integrated Arctic Research of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, 163000, Arkhangelsk, Russian

One of the factors influencing the reproductive system is seasonal change in daylight hours. **The aim** of the investigation: to study the reactions of the hypothalamic-pituitary-gonadal system and peripheral dopaminergic system during the period of minimal daylight hours and its increase, in practically healthy males born and living in the Arctic zone of the Russian Federation.

Material and methods. 139 males aged 22-59 years were examined (local Europeoid population of villages, sedentary aboriginal population, nomadic aboriginal population) during the period of minimum daylight hours (December) and the period of increasing daylight hours (March). The levels of sex hormones and dopamine were determined in serum and blood plasma using enzyme immunoassay.

Results and discussion. Compared with December, an increase in the levels of dopamine, follitropin (FSH), prolactin, progesterone, total and free testosterone (T and free T), estradiol, dehydroepiandrosterone sulfate in the nomadic population in March is indicated against the background of a decrease in the level of sex steroid-binding globulin and testosterone/estradiol index (T/E₂) in the pres-

ence of correlations between the content of dopamine and luteinizing hormone ($r = 0,59$; $p = 0,021$), dopamine and free T ($r = 0,89$; $p = 0,014$). In the local Europeoid population, dopamine did not increase significantly, but the levels of FSH, progesterone, and estradiol also increased with a decrease in the T/E2 index in March compared to December. In December, correlations were found between the levels of dopamine and estradiol ($r = -0,76$; $p < 0,001$), dopamine and T/E2 index ($r = 0,57$; $p = 0,016$).

Conclusion. In March, an increase in dopamine levels in the nomadic population is accompanied by activation of hypothalamic-pituitary-gonadal system and a decrease in the T/E2 index, which possibly indicates increased steroidogenesis and increased aromatization of testosterone against the background of an increase in FSH levels. In the local Europeoid population, a decrease in T/E2 index is combined with the identification testosterone low values against the background of high concentrations of progesterone. In December, all groups showed a low estradiol level, which should probably be considered as a dysadaptation criterion, which may be accompanied by a compensatory reaction from the dopaminergic system.

Key words: sex hormones; sex steroid-binding β -globulin; dopamine; Arctic; photoperiod; males

For citation: Tipisova E.V., Alikina V.A., Elfimova A.E., Molodovskaya I.N., Zyabisheva V.N. Reactions of the dopaminergic and hypothalamic-pituitary-gonadal systems to photoperiod changes during the year in males of the arctic territories. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2024; 69 (12): 658-664 (in Russ.).

DOI: DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2024-69-12-658-664>

EDN: AZILJB

For correspondence: Tipisova Elena Vasil'evna, Doctor of Biological Sciences, Chief Researcher, Head of the Laboratory of Endocrinology named after prof. A.V. Tkachev; e-mail: tipisova@rambler.ru

Information about authors:

Tipisova E. V., <https://orcid.org/0000-0003-2097-3806>;

Alikina V.A., <https://orcid.org/0000-0002-0818-7274>;

Elfimova A.E., <https://orcid.org/0000-0003-2519-1600>;

Molodovskaya I.N., <https://orcid.org/0000-0003-3097-9427>;

Zyabisheva V.N., <https://orcid.org/0000-0001-6133-8249>.

Acknowledgments. The work was carried out at the expense of the state task for the research work "Photoperiodic dependence of the physiological effects of dopamine on the functional activity of the pituitary-thyroid and pituitary-gonadal systems in residents of the Arctic territories". Registration number is 122011800392-3.

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

Received 19.04.2024

Accepted 27.06.2024

Published 20.11.2024

Введение. Приоритетной государственной задачей во всем мире является охрана репродуктивного здоровья населения ввиду того, что в настоящее время одной из глобальных проблем выступает проблема снижения воспроизводства населения, частным аспектом которой является мужское бесплодие, включающее в себя как репродуктивную, так и другие системы организма человека. Бесплодие затрагивает около 15 % супружеских пар, в 20-30 % случаев причиной бесплодия является только мужской фактор, еще у 20-30 % мужское бесплодие сочетается с женским, а распространенность бесплодия у мужчин ежегодно увеличивается на 0,291 % [1-3].

Причины бесплодия у мужчин включают в себя множество факторов, включая гормональные нарушения, окружающую среду и образ жизни, психологические и сексуальные проблемы, генетические факторы. Несмотря на многочисленные усилия исследователей по выявлению основных причин мужского бесплодия, около 70% случаев остаются неизвестными, что указывает на недостаточное понимание механизмов мужского бесплодия [4-6].

Одним из факторов, влияющих на репродуктивную функцию некоторых животных и человека, является сезонное изменение продолжительности светового дня [7, 8], влияние которой на территории Европейского Севера особенно актуально. Влияние фотопериода опосредовано через рецепторы сетчатки, которые не участвуют в зрении, а сигналы, контролируемые супрахиазматическим ядром, передаются нервным путем в

гипоталамус, который, в конечном итоге, регулирует выработку гонадотропных гормонов, опосредованную секрецией мелатонина шишковидной железой [7, 9-11]. Однако в работах рассматриваются, в основном, либо показатели спермы, морфологические изменения гонад, либо содержание ограниченного круга половых гормонов, таких как гонадотропины, пролактин и тестостерон, что приводит к отсутствию полной картины изменения активности гипоталамо-гипофизарно-гонадной системы с учетом фотопериодов года, особенно в условиях Севера.

Гормональная система, в частности, система гипоталамус-гипофиз-гонады, подвержена влиянию различных климатических, социальных, психологических и иных факторов и ей свойственны определенные колебания параметров в ту или иную сторону, в ответ на которые могут возникать компенсаторные реакции, обеспечивающие приспособление организма к изменяющимся условиям среды [12-17].

Помимо внутрисистемных показателей, на параметры системы гипоталамус-гипофиз-гонады может оказывать влияние дофаминергическая система - не только центральная, но и периферическая. В частности, показан стимулирующий эффект L-DOPA (метаболического предшественника дофамина) на экспрессию гена ароматазы в яичниках и гипоталамусе крыс с синдромом поликистозных яичников [18], а специфическая активация рецепторов дофамина D1 приводила к увеличению количества мРНК ароматазы В посредством молекулярного механизма, зависи-

мого от циклического аденозинмонофосфата [19, 20]. Также дофамин может влиять на секрецию гонадотропин-рилизинг-гормона [21], уровни ЛГ [18], а такие катехоламины, как адреналин и норадреналин, могут оказывать прямое влияние на функцию яичек, клетки Лейдига, Сертоли и половые клетки [22]. Однако эти работы представлены, в основном, изучением механизмов влияния дофамина на показатели системы гипофиз – гонады у животных. У жителей арктических территорий было показано влияние уровня дофамина на показатели системы гипоталамус – гипофиз – гонады [23]. Тем не менее, работ по компенсаторным гормональным реакциям у мужского населения, проживающего на северных территориях, особенно с учетом фотопериодов года, недостаточно для понимания механизмов реактивности как гипоталамо-гипофизарно-гонадной системы, так и других систем, в частности дофаминергической периферической системы.

В связи с этим, целью исследования было изучение компенсаторных реакций гипоталамо-гипофизарно-гонадной системы и периферической дофаминергической системы в период минимального светового дня и его увеличения у практически здоровых мужчин, родившихся и проживающих на территории Арктической зоны Российской Федерации.

Материал и методы. В ходе аналитического неконтролируемого исследования были обследованы 139 мужчин, родившихся и постоянно проживающих на территориях Арктической зоны Российской Федерации (АЗРФ): 52 мужчин в возрасте 22-59 лет ($44,6 \pm 1,6$ лет – молодой и средний возраст по классификации ВОЗ) в период минимальной продолжительности светового дня, проживающих в поселках (местное европеоидное население – 26, оседлое аборигенное население – 18 человек) и кочевое аборигенное население – 8 человек; 87 мужчин в возрасте 22-59 лет ($44,4 \pm 1,6$ лет) – в период увеличения светового дня, проживающих в поселках (местное европеоидное население – 30 человек) и кочевые – 23 человека.

Обследование проводили в ходе экспедиций в села Архангельской области и Ненецкого АО в 2010-2014 годах. Для изучения особенностей состояния системы гипофиз – гипофиз – гонады и уровня дофамина с учетом фотопериода года сбор материала осуществлялся в период минимальной продолжительности светового дня (декабрь) и в период увеличения продолжительности светового дня (март), когда значения среднесуточных температур во время обследования достоверно не отличались ($-17,7 \pm 13,4$ °C – в декабре и $-11,6 \pm 5,2$ °C – в марте).

Обследованные лица родились и постоянно проживали на Севере не менее чем в трех поколениях, кочевое аборигенное население кочевало в обследуемые периоды в непосредственной близости от указанных поселков. Критериями исключения были: нахождение на учете у врачей узкого профиля, таких как эндокринолог, андролог, кардиолог, наличие жалоб со стороны здоровья на момент обследования, недавно перенесенные респираторные заболевания, а также употребление алкоголя за 2-3 дня до исследования. Исследование было одобрено Комиссией по биомедицинской этике при Институте физиологии природных адаптации УрО РАН (протокол от 17.12.2010 г.).

Кровь брали из локтевой вены в вакуумные контейнеры «Improvacuter» с активатором свертывания крови утром с 8 до 10 ч, натощак. Сыворотку крови отделяли на центрифуге ELMi CM 6M (Латвия) в течение 15 минут при 1500 g и хранили в морозильнике при -20 °C. Уровни гормонов в сыворотке определяли с помощью наборов реактивов для иммуноферментного анализа фирмы ООО «Алкор Био» (Россия): лютеинизирующий гормон (ЛГ, лютропин), фолликулостимулирующий гормон (ФСГ, фоллитропин), пролактин, прогестерон, тестостерон (Т), дегидроэпиандростерон-сульфат (ДГЭА-С), секс-стероидсвязывающий глобулин (СССГ), а также фирмы DRG Instruments GmbH (Германия): свободный тестостерон (св. Т), эстрадиол (Е2) на планшетном автоматическом анализаторе ELISYS Uno («Human», Германия). Для получения плазмы кровь забирали из локтевой вены в вакуумные контейнеры, содержащие ЭДТА, и центрифугировали в течение 10 минут при 2000 g. В плазме крови определяли уровни дофамина наборами фирмы Labor Diagnostika Nord (Германия). За норму принимались референсные значения, приведенные в инструкциях к используемым тест-наборам.

Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета прикладных программ STATISTICA 10.0 (StatSoft, INC. USA). Проверку на нормальность распределения признаков проводили с помощью критерия Шапиро-Уилка. В связи с отклонением большинства изучаемых параметров от нормального распределения, применяли непараметрические критерии анализа. Описательная статистика количественных признаков представлена в виде центральной тенденции – медианы (Me) и процентильных интервалов (10 и 90 процентилей). Независимые группы сравнивались с помощью U-критерия Манна-Уитни. Анализ различия частот в двух независимых группах проводился при помощи критерия χ^2 с поправкой Йетса. Для изучения связей между количественными показателями применяли ранговый коэффициент корреляции Спирмена.

Результаты. При рассмотрении особенностей содержания гормонов гипоталамо-гипофизарно-гонадной системы и уровня дофамина в крови у разных групп населения, проживающего на территориях Арктической зоны Российской Федерации, показано однонаправленное увеличение уровней дофамина и содержания ФСГ, пролактина, прогестерона, общего и свободного тестостерона, эстрадиола, ДГЭА-С при снижении уровня СССР и индекса Т/Е2 в период увеличения светового дня по сравнению с минимальным световым днем у кочевого населения (табл. 1). У местного европеоидного населения поселков дофамин увеличивался незначительно, однако, как и у кочевых аборигенов, нарастали уровни ФСГ, прогестерона, эстрадиола при снижении индекса Т/Е2 в период увеличения продолжительности светового дня по сравнению с минимальным световым днем.

При анализе отклонений от нормы показателей системы гипоталамус – гипофиз – гонады у различных групп населения с учетом фотопериода года, было выявлено от 10,7 до 33,3 % лиц с высокими уровнями ЛГ и от 7,0 до 22,2 % – СССР во все исследуемые фотопериоды года и во всех группах обследованных (табл. 2).

Содержание дофамина и гормонов системы гипоталамус – гипофиз – гонады у различных групп населения территорий Арктической зоны РФ

| Показатель | Период увеличения продолжительности светового дня (март) | | Период минимальной продолжительности светового дня (декабрь) | | | p-уровень |
|------------------------------|--|--|--|--|--|--|
| | Me; 10 %; 90 % | | Me; 10 %; 90 % | | | |
| | Кочевое аборигенное население | Местное европейское население поселков | Кочевое аборигенное население | Оседлое аборигенное население поселков | Местное европейское население поселков | |
| Число обследованных | 23 | 64 | 8 | 18 | 26 | |
| Возраст, годы | 42,0 29,0; 53,0 | 46,0 36,0; 54,0 | 48,5 33,0; 53,0 | 45,5 26,0; 59,0 | 43,5 25,0; 56,0 | $p > 0,05$ |
| Дофамин, нмоль/л | 0,347 0,0; 0,699 | 0,356 0,144; 0,455 | 0,00 0,0; 0,914 | 0,00 0,0; 0,653 | 0,261 0,0; 0,784 | $p_{1-3} = 0,07$ |
| ЛГ, МЕ/л | 5,6 2,6; 10,9 | 4,5 2,3; 9,1 | 3,4 2,2; 11,8 | 2,9 2,2; 10,0 | 3,6 1,9; 6,6 | $p > 0,05$ |
| ФСГ, МЕ/л | 6,6 4,3; 11,4 | 6,5 3,4; 9,9 | 5,2 3,1; 7,4 | 5,4 2,6; 18,9 | 4,6 3,1; 8,8 | $p_{1-3} = 0,048$ $p_{2-5} = 0,04$ |
| Пролактин, нг/мл | 13,7 7,3; 42,0 | 8,4 3,8; 27,7 | 7,8 3,8; 10,4 | 7,4 4,3; 13,0 | 11,1 3,6; 24,2 | $p_{1-3} = 0,007$ |
| Прогестерон, нмоль/л | 1,9 0,8; 3,5 | 4,1 0,6; 8,8 | 0,5 0,3; 1,0 | 0,9 0,8; 3,9 | 1,5 0,6; 2,3 | $p_{1-3} < 0,001$ $p_{2-5} = 0,003$ |
| Тестостерон, нмоль/л | 26,5 16,3; 39,2 | 17,2 11,9; 27,4 | 16,5 12,1; 29,1 | 18,2 12,1; 27,6 | 19,8 15,4; 30,6 | $p_{1-3} = 0,003$ $p_{2-5} = 0,03$ |
| Свободный тестостерон, пг/мл | 16,1 8,2; 20,0 | 13,4 3,9; 21,1 | 5,9 2,9; 15,2 | 13,3 5,8; 26,9 | 13,9 7,0; 24,1 | $p_{1-3} = 0,003$ |
| Эстрадиол, нмоль/л | 0,15 0,09; 0,25 | 0,16 0,10; 0,24 | 0,04 0,04; 0,06 | 0,06 0,03; 0,22 | 0,06 0,03; 0,11 | $p_{1-3} < 0,001$ $p_{2-5} < 0,001$ |
| СССГ, нмоль/л | 49,4 30,1; 117,3 | 46,9 20,6; 87,1 | 77,8 36,3; 177,7 | 51,3 31,1; 113,5 | 53,3 38,4; 99,4 | $p_{1-3} = 0,04$ |
| ДГЭА-С, мкмоль/л | 6,1 4,2; 9,2 | 5,7 4,4; 7,6 | 4,7 3,1; 5,6 | 5,0 1,8; 7,8 | 5,5 2,9; 9,8 | $p_{1-3} = 0,006$ |
| Тестостерон/эстрадиол | 176,5 78,2; 474,4 | 113,9 54,7; 215,3 | 363,3 302,5; 727,5 | 326,0 60,4; 763,3 | 343,3 164,0; 676,7 | $p_{1-3} = 0,009$ $p_{2-5} < 0,001$ |
| Тестостерон/ЛГ | 3,9 2,8; 13,1 | 3,9 2,0; 9,3 | 4,7 1,6; 11,2 | 6,1 1,8; 15,1 | 5,1 3,2; 9,6 | $p_{2-5} = 0,003$ |
| ЛГ/ФСГ | 0,73 0,40; 1,13 | 0,73 0,44; 1,63 | 0,82 0,45; 1,81 | 0,55 0,36; 1,11 | 0,685 0,21; 1,39 | $p > 0,05$ |

Примечание. Me – медиана значений; 10 %; 90 % – перцентильный интервал; p-уровень – уровень значимости различий; p_{1-3} – достоверные различия в группе кочевого аборигенного населения в различные фотопериоды года; p_{2-5} – достоверные различия в группе местного европейского населения в различные фотопериоды года.

Эта особенность прослеживалась на фоне регистрации как низких (от 3,6 до 11,1 %) – у всех групп за исключением кочевых аборигенов в весенний период, так и высоких уровней общего Т (от 5,6 до 43,5 %) за исключением кочевых аборигенов в зимний период. Следовательно, у кочевых оленеводов регистрировали высокие концентрации Т только в весенний период (43,5 %). Высокие уровни пролактина также были отмечены во всех группах обследованных (от 5,6 до 38,0 %), кроме кочевых аборигенов в декабре с максимумом у этой группы населения в весенний период.

Отклонений от нормы содержания св.Т у кочевых оленеводов в марте не регистрировалось, в то время как в декабре у значительной части обследованных оленеводов (33,3 %) отмечены низкие его концентрации. В декабре также регистрировали низкие концентрации эстрадиола практически во всех группах обследованных (от 29,6 до 51,0 %), а в весенний период года – его высокие концентрации. Максимальное отклонение уровня прогестерона от верхней границы нормы

наблюдалось в весенний период у местного европейского населения (54 %), в то время как в других группах обследованных высокие его значения практически отсутствовали. В декабре в группах кочевых и поселковых аборигенов количество лиц с недетектируемой концентрацией дофамина составило более 60 %.

Корреляционные связи между содержанием дофамина и показателями системы гипоталамус – гипофиз – гонады в период увеличения продолжительности светового дня выявлены у кочевого населения: между содержанием дофамина и уровнем ЛГ ($r = 0,59$; $p = 0,021$) и между содержанием дофамина и уровнем св. Т ($r = 0,89$; $p = 0,014$). У местного европейского населения выявлена слабая связь между уровнями дофамина и ДГЭА-С ($r = 0,31$; $p = 0,08$). В период минимального светового дня корреляционные связи дофамина с показателями гипоталамо-гипофизарно-гонадного звена были выявлены среди оседлого аборигенного населения: между уровнем дофамина и эстрадиола ($r = -0,76$; $p < 0,001$), дофамина и СССГ ($r = -0,50$; $p = 0,033$), до-

Доля лиц (в %) с частотами отклонений от нормы уровней показателей системы гипофиз – гонады в крови жителей Арктической зоны РФ в зависимости от продолжительности светового дня и группы населения

| Показатель | Период увеличения продолжительности светового дня (март) | | Период минимальной продолжительности светового дня (декабрь) | | | p-уровень |
|------------------------------|--|-------------------------------------|--|-------------------------------|-------------------------------------|---|
| | % < N; % > N | | % < N; % > N | | | |
| | кочевое аборигенное население | местные европейские жители поселков | кочевое аборигенное население | оседлое аборигенное население | местные европейские жители поселков | |
| Число обследованных | 23 | 64 | 8 | 18 | 26 | |
| ЛГ, МЕ/л | 0; 33 | 0; 15,2 | 0; 33,3 | 0; 11,1 | 0; 10,7 | $p > 0,05$ |
| ФСГ, МЕ/л | 0; 5 | 0; 3,5 | 0; 3,3 | 0; 11,1 | 0; 3,6 | $p > 0,05$ |
| Пролактин, нг/мл | 0; 38 | 0; 19,5 | 0; 0 | 0; 5,6 | 3,6; 25,0 | $p_{1-2} = 0,02$ $p_{4-5} = 0,09$ T |
| Прогестерон, нмоль/л | 0; 13 | 0; 54 | 12,5; 0 | 0; 11,8 | 0; 0 | $p_{1-2} = 0,001$ |
| Тестостерон, нмоль/л | 0; 43,5 | 11; 3,7 | 11,1; 0 | 11,1; 5,6 | 3,6; 10,7 | $p_{1-2} = 0,001$ |
| Свободный тестостерон, пг/мл | 0; 0 | 11; 2 | 33,3; 0 | 5,6; 0 | 3,6; 0 | $p_{3-4} = 0,03$ $p_{3-5} = 0,016$ |
| Эстрадиол, нмоль/л | 0; 13 | 0; 20 | 51; 0 | 47,0; 5,9 | 29,6; 0 | $p > 0,05$ |
| СССГ, нмоль/л | 0; 13 | 7; 7 | 0; 22,2 | 0; 16,7 | 0; 10,7 | $p > 0,05$ |
| ДГЭА-С, мкмоль/л | 0; 0 | 5; 5 | 0; 0 | 11,8; 0 | 10,7; 7,1 | $p > 0,05$ |
| Дофамин, нмоль/л | 21; 14 | 8; 4 | 67,3; 22,4 | 67,4; 5,3 | 39,2; 22,1 | $p_{1-3} = 0,0014$ $p_{2-5} = 0,0007$ $p_{2-5} = 0,027$ |

фамина и значениями индекса T/E_2 ($r = 0,57$; $p = 0,016$).

Обсуждение. Одной из особенностей изменения реактивности гипофизарно-гонадной систем в период увеличения светового дня у кочевых аборигенов и местных жителей поселков АЗРФ стало снижение индекса T/E_2 , что может свидетельствовать об усилении ароматизации тестостерона в эстрадиол. Причиной этого у кочевых оленеводов может служить нарастание уровней дофамина в крови, который, вероятно, усиливает ароматизацию тестостерона [19, 20]. Влияние содержания дофамина в крови на ароматизацию тестостерона было показано нами ранее при изучении особенностей дофаминергической регуляции системы гипофиз – гонады у жителей заполярных территорий с учетом уровня дофамина [23]. Так, сверхнормальные уровни дофамина сочетались со снижением индекса T/E_2 . На усиление ароматизации в весенний период также могло повлиять и нарастание уровня ФСГ по сравнению с зимним периодом. Кроме того, показано параллельное нарастание концентраций дофамина, пролактина, прогестерона, общих и свободных фракций тестостерона, ДГЭА-С при снижении содержания СССГ, а также наличие корреляции между уровнем дофамина и ЛГ ($r = 0,59$; $p = 0,021$), ЛГ и тестостерона ($r = 0,58$; $p = 0,023$), дофамина и св. Т ($r = 0,86$; $p = 0,014$) в весенний период, что может косвенным образом свидетельствовать о стимулирующем влиянии дофамина на стероидогенез, хотя в литературе имеются противоречивые данные экспериментов на животных *in vivo* или *in vitro* [22].

У местных жителей поселков усиление ароматизации тестостерона в эстрадиол в период увеличения светового дня на фоне повышения уровня ФСГ приводит

к снижению уровней общего тестостерона, что сочетается с повышением уровня предшественника стероидных гормонов – прогестерона, значения которого в этот период года возрастают практически в 5 раз и имеют корреляционные связи как с уровнями ЛГ ($r = 0,542$; $p = 0,001$), так и с ДГЭА-С ($r = 0,49$; $p = 0,005$). Повышение уровня прогестерона может быть обусловлено компенсаторными изменениями его дальнейшего метаболизма. В то же время известно, что прогестерон является важным модулятором экспрессии эстрогеновых и андрогеновых рецепторов в предстательной железе, а также конкурирует с андрогенами за их рецепторы, т. е. проявляет локальные потенциально антиандрогенные эффекты [24], а повышение уровня прогестерона в течение длительного времени приводит к атрофии яичек и, следовательно, к нарушению сперматогенеза и бесплодию [25]. Таким образом, повышение уровня прогестерона у местных мужчин АЗРФ требует дальнейшего изучения.

В период минимального светового дня у всех групп населения отмечено снижение содержания эстрадиола с максимальными отклонениями его уровня от нижней границы нормы. Известно, что помимо репродуктивных функций и влияния на щитовидную железу, основными мишенями эстрогенов у мужчин являются также центральная нервная, сердечно-сосудистая, костная система, печень [26, 27]. Эстрогены необходимы также для регуляции минерального обмена [28]. Следовательно, низкие концентрации эстрадиола у различных групп населения в период минимального светового дня можно рассматривать как критерий риска развития дисадаптационных реакций, которые могут приводить к развитию различных соматических отклонений. Отри-

цательная корреляционная связь между содержанием дофамина и эстрадиолом может свидетельствовать о компенсаторных реакциях увеличения уровня дофамина, возникающих при снижении концентрации эстрадиола в крови, что выявлено в период минимального светового дня, когда значения индекса Т/Е2 и эстрадиола минимальны, а у 47 % лиц регистрируются уровни Е2 ниже нормальных. Выявленные минимальные значения свободного тестостерона у кочевых оленеводов в декабре, мы полагаем, связаны с работами, сопровождающимися заботой оленей, и подготовкой к дальнейшему кочеванию в более южные территории.

Проводя сравнение состояния системы гипофиз – гонады у жителей поселков и кочевых аборигенов АЗРФ с местным европеоидным населением г. Архангельска [30], мы отметили некоторые отличительные особенности ее фотопериодической реактивности:

1. Уровни прогестерона и ДГЭА-С были выше в весенний период у кочевого населения по сравнению с жителями г. Архангельска, где повышалось только содержание прогестерона.

2. У кочевого и местного населения поселков в весенний период нарастал уровень эстрадиола вследствие усиления ароматизации тестостерона (снижение Т/Е2), а у жителей г. Архангельск – в осенний период.

3. У жителей поселков и кочевых оленеводов регистрировали высокие уровни ЛГ, пролактин и СССГ во все периоды года и низкие уровни св.Т в зимний период, а у жителей г. Архангельска – высокий процент сверхнормальных уровней эстрадиола и ДГЭА-С. По нашему мнению, кочевое население и поселковые жители имеют более выраженную реактивность гипоталамо-гипофизарно-гонадной системы на смену фотопериодов года, чем городское население Севера, что может быть связано с природными факторами, несомненно, оказывающими воздействие как на дофаминергическую, так и на гипоталамо-гипофизарно-гонадную систему.

Заключение. В период увеличения продолжительности светового дня повышение уровня дофамина у кочевого аборигенного населения сопровождается активацией гипоталамо-гипофизарно-гонадной системы и снижением индекса Т/Е2, что, возможно, указывает на усиление стероидогенеза и повышение ароматизации тестостерона на фоне нарастания уровня ФСГ. У местного европеоидного населения поселков повышение ароматизации тестостерона сочетается с выявлением низких его значений на фоне высоких концентраций прогестерона, что может быть опосредовано компенсаторным изменением метаболизма прогестерона. В период минимального светового дня у всех групп населения отмечено снижение содержания эстрадиола ниже границы нормы, что, вероятно, следует рассматривать, как дизадаптационный критерий, который может сопровождаться компенсаторной реакцией со стороны дофаминергической системы. Выявленные реакции указывают на необходимость проведения комплексных превентивных мероприятий в период минимальной продолжительности светового дня, направленных на предотвращение развития нарушений соматического здоровья северян.

ЛИТЕРАТУРА (П.П. 1, 5-8, 10, 11, 15, 16, 18-20, 22, 24, 26, 28 СМ. REFERENCES)

- Лебедев Г.С., Голубев Н.А., Шадеркин И.А., Шадеркина В.А., Аполихин О.И., Сивков А.В. и др. Мужское бесплодие в Российской Федерации: статистические данные за 2000-2018 годы. *Экспериментальная и клиническая урология*. 2019; 4: 4-12. DOI: 10.29188/2222-8543-2019-11-4-4-12.
- Пичугова С.В., Рыбина И.В., Бейкин Я.Б. Динамика уровня антиспермальных антител у подростков с левосторонним варикоцеле. *Медицинская иммунология*. 2020; 22(5): 969-76. DOI: 10.15789/1563-0625-DOS-1873.
- Гамидов С.И., Шатылко Т.В., Гасанов Н.Г. Мужское здоровье и ожирение-диагностика и терапевтические подходы. *Ожирение и метаболизм*. 2019; 16(3): 29-36. DOI: 10.14341/omet10314.
- Кузьменко Н.В., Цырлин В.А., Плисс М.Г. Сезонная динамика мелатонина, пролактин, половых гормонов и гормонов надпочечников у здоровых людей: Мета-анализ. *Журнал эволюционной биохимии и физиологии*. 2021; 57(3): 202-23. DOI: 10.31857/S0044452921030062.
- Погодин А.А., Мальцев В.А., Погодина С.В., Медведева О.А. Приспособительные реакции, поддерживающие высокий уровень функциональных возможностей у действующих спортсменов-ветеранов. *Физическая культура, спорт-наука и практика*. 2022; 3: 49-55. DOI: 10.53742/1999-6799/3_2022_49_55.
- Молодовская И.Н., Типисова Е.В., Аликина В.А., Елфимова А.Э., Зябишева В.Н. Половые гормоны и адаптационный потенциал системы кровообращения у мужчин Европейского и Азиатского Севера. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2021; 41(4): 83-91. DOI: 10.18699/SSMJ20230606.
- Типисова Е.В., Молодовская И.Н., Аликина В.А., Елфимова А.Э. Отличительные черты состояния системы гипоталамус-гипофиз-гонады и уровня дофамина у мужчин Европейского и Азиатского Севера. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2022; 67(5): 261-6. DOI: 10.51620/0869-2084-2022-67-5-261-266.
- Поскотинова Л.В., Демин Д.Б., Кубасов Р.В., Золкина А.Н., Вылгжанина А.В., Типисова Е.В. Сердечно-сосудистая регуляция и соотношение тестостерона и кортизола в слюне при физической нагрузке у мальчиков-подростков. *Научные труды I съезда физиологов СНГ. Т.2. Сочи-Дагомыс; 2005.*
- Степашин С.Н. Механизм эндокринной регуляции полового цикла и нормализация репродуктивной функции у телок голштинской породы. *Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э.Баумана*. 2021; 245(1): 185-92. DOI: 10.31588/2413-4201-1883-245-1-185-192.
- Аликина В.А., Типисова Е.В., Молодовская И.Н., Елфимова А.Э. Содержание половых гормонов при различных уровнях дофамина в крови кочевых и поселковых мужчин, проживающих в Арктической Зоне Российской Федерации. *Проблемы репродукции*. 2023; 29(2): 116-23. DOI: 10.17116/repro202329021116.
- Пичугова С.В., Черешнев В.А., Беляева С.В., Тулакина Л.Г., Клейн А.В., Бейкин Я.Б. Вклад гормонально-метаболических нарушений в развитие астенозооспермии. *Вестник Уральской медицинской академической науки*. 2014; 51(5): 35-45.
- Гурженко Ю.Н., Калюжный Д.Г. Современные представления об эстрогенах в мужском организме. *Здоровье мужчины*. 2020; 73(2): 22-6. DOI: 10.30841/2307-5090.2.2020.212450.
- Мякотных В.С., Остапчук Е.С., Мещанинов В.Н., Сиденкова А.П., Боровкова Т.А., Торгашов М.Н. и др. Патологическое старение: основные «мишени», возраст-ассоциированные заболевания, гендерные особенности, геропрофилактика. Учебное пособие. М.: Новый формат; 2021.
- Типисова Е.В., Елфимова А.Э., Аликина В.А., Молодовская И.Н., Зябишева В.Н. Активность системы гипоталамус-гипофиз-гонады у мужчин Европейского Севера в разные фотопериоды. *Проблемы репродукции*. 2023; 29(2): 101-9. DOI: 10.17116/repro202329021101.

REFERENCES

1. Agarwal A., Baskaran S., Parekh N., Chak-Lam Cho, Henkel R., Vij S. et al. Male infertility. *The Lancet*. 2021; 397(10271): 319-33. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)32667-2
2. Lebedev G.S., Golubev N.A., Shaderkin I.A., Shaderkina V.A., Apolikhin O.I., Sivkov A.V., Komarova V.A. Male infertility in the Russian Federation: statistical data for 2000-2018. *Eksperimental'naya i klinicheskaya urologiya*. 2019; (4): 4-12. DOI: 10.29188/2222-8543-2019-11-4-4-12. (in Russian)
3. Pichugova S.V., Rybina I.V., Beikin Ya.B. Dynamics of sperm antibody levels in adolescents with left-sided varicocele. *Meditsinskaya Immunologiya*. 2020; 22(5): 969-76. DOI: 10.15789/1563-0625-DOS-1873. (in Russian)
4. Gamidov S.I., Shatylo T.V., Gasanov N.G. Male health and obesity – diagnostic and therapeutic approach. *Ozhirenie i metabolism*. 2019; 16(3): 29-36. DOI: 10.14341/omet10314. (in Russian)
5. Babakhanzadeh E., Nazari M., Ghasemifar S., Khodadadian A. Some of the factors involved in male infertility: a prospective review. *Int. J. Gen. Med.* 2020; 13: 29-41. DOI: 10.2147/IJGM.S241099.
6. Zhao W., Jing J., Shao Y., Zeng R., Wang C., Yao B. et al. Circulating sex hormone levels in relation to male sperm quality. *BMC Urol*. 2020; 20(1): 101. DOI: 10.1186/s12894-020-00674-7.
7. Mandal D.K., Kumar M., Tyagi S. Effect of seasons and photoperiods on seminal attributes and sperm morphology in Holstein Friesian × Sahiwal crossbred dairy bulls *Int. J. Biometeorol.* 2022; 66(11): 2223-35. DOI: 10.1007/s00484-022-02350-x.
8. Kenfack A., Fonou Tadiess L., Mweugang Ngouopo N., Atsamo A. D., Takam Mbogne B., Foda Fopa C. et al. Effects of photoperiod on male African giant rat (*Cricetomys gambianus*) reproductive parameters in captivity. *IOSR Journal of Agriculture and Veterinary Science (IOSR-JAVS)*. 2020; 13(9): 62-6. DOI: 10.9790/2380-1309036266.
9. Kuzmenko N.V., Tsyrlin V.A., Pliss M.G. Seasonal Dynamics of Melatonin, Prolactin, Sex Hormones and Adrenal Hormones in Healthy People: a Meta-Analysis. *Zhurnal Evolyutsionnoy Biokhimi i Fiziologii*. 2021; 57(3): 202-23. DOI: 10.31857/S0044452921030062. (in Russian)
10. Santi D., Spaggiari G., Granata A.R.M., Setti M., Tagliavini S., Trenti T. et al. Seasonal changes of serum gonadotropins and testosterone in men revealed by a large data set of real-world observations over nine years. *Frontiers in Endocrinology*. 2020; 10: 914. DOI: 10.3389/fendo.2019.00914.
11. Beltran-Frutos E., Casarini L., Santi D., Brigante G. Seasonal reproduction and gonadal function: A focus on humans starting from animal studies. *Biology of Reproduction*. 2022; 106(1): 47-57. DOI: 10.1093/biolre/iaob199.
12. Pogodin A., Maltsev V., Pogodina S., Medvedeva O. Adaptive responses that maintain a high level of functionality current veteran athletes. *Fizicheskaya kul'tura, sport – nauka i praktika*. 2022; 3: 49-55. DOI: 10.53742/1999-6799/3_2022_49_55. (in Russian)
13. Molodovskaya I.N., Tipisova E.V., Alikina V. A., Elfimova A.E. Sex hormones and adaptive potential of the circulatory system in men of the European and Asian North. *Sibirskiy nauchnyy meditsinskiy zhurnal*. 2021; 41 (4): 86-94. DOI: 10.53742/1999-6799/3_2022_49_55. (in Russian)
14. Tipisova E.V., Molodovskaya I.N., Alikina V.A., Elfimova A.E. Distinctive features of the hypothalamic-pituitary-gonadal axis and the level of dopamine in men of the European and Asian North. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2022; 67(5): 261-6. DOI: 10.51620/0869-2084-2022-67-5-261-266. (in Russian)
15. Ali N., Nitschke J.P., Cooperman C., Baldwin M.W., Pruessner J.C. Systematic manipulations of the biological stress systems result in sex-specific compensatory stress responses and negative mood outcomes. *Neuropsychopharmacology*. 2020; 45(10): 1672-80. DOI: 10.1038/s41386-020-0726-8.
16. Chernozub A., Manolachi V., Korobeynikov G., Potop V., Sherstiuk L., Manolachi V. et al. Criteria for assessing the adaptive changes in mixed martial arts (MMA) athletes of strike fighting style in different training load regimes. *Peer J*. 2022; 10: e13827. DOI: 10.7717/peerj.13827.
17. Poskotinova L.V., Demin D.B., Kubasov R.V., Zolkina A.N., Vylegzhanina A.V., Tipisova E.V. Cardiovascular regulation and the ratio of testosterone and cortisol in saliva during physical activity in adolescent boys. Scientific proceedings of the 1st Congress of CIS Physiologists. Vol.2 [Nauchnye trudy I s"ezda fiziologov SNG. T.2]. Sochi-Dagomys; 2005. (in Russian)
18. Mahmoudi F., Bayrami A., Zahri S. Influences of l-dopa and blocking dopamine receptors on aromatase gene expression and serum concentration of lh in rat model of polycystic ovary syndrome. *Journal of Advanced Biomedical Sciences*. 2020; 10(3): 2448-55.
19. Xing L., McDonald H., Da Fonte D.F., Gutierrez-Villagomez J.M., Trudeau V.L. Dopamine D1 receptor activation regulates the expression of the estrogen synthesis gene aromatase B in radial glial cells. *Front Neurosci*. 2015; 9: 310. DOI: 10.3389/fnins.2015.00310.
20. Xing L., Esau C., Trudeau V.L. Direct Regulation of Aromatase B Expression by 17β-Estradiol and Dopamine D1 Receptor Agonist in Adult Radial Glial Cells. *Front Neurosci*. 2016; 9: 504. DOI: 10.3389/fnins.2015.00504.
21. Stepashin S.N. The mechanism of endocrine regulation of the sexual and the normalization of reproductive function in the Holstein heifers. *Uchenye zapiski Kazanskoy gosudarstvennoy akademii veterinarnoy meditsiny im. N.E. Baumana*. 2021; 245(1): 185-92. DOI: 10.31588/2413-4201-1883-245-1-185-192. (in Russian)
22. Damián J., Bausero M., Bielli A. Acute stress, hypothalamic-hypophyseal-gonadal axis and testicular function – a review. *Annals of Animal Science*. 2015; 15(1): 31-50. DOI: 10.2478/aoas-2014-0084.
23. Alikina V.A., Tipisova E.V., Molodovskaya I.N., Elfimova A.E. The content of sex hormones at different levels of dopamine in the blood of nomadic and village men living in the Arctic zone of the Russian Federation. *Problemy Reproduktsii*. 2023; 29(2): 116-23. DOI: 10.17116/repro202329021116. (in Russian)
24. Chen R., Yu Y., Dong X. Progesterone receptor in the prostate: A potential suppressor for benign prostatic hyperplasia and prostate cancer. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 2017; 166: 91-6. DOI: 10.1016/j.jsbmb.2016.04.008.
25. Pichugova S.V., Chereshev V.A., Belyaeva S.V., Tulakina L. G., Kleyn A.V., Beykin Ya.B. The contribution of hormonal and metabolic disorders to the development of asthenozoospermia. *Vestnik Ural'skoy meditsinskoy akademicheskoy nauki*. 2014; 51(5): 35-45. (in Russian)
26. Bustamante-Barrientos F.A., Méndez-Ruette M., Orloff A., Luz-Crawford P., Rivera F.J., Figueroa C.D. et al. The Impact of Estrogen and Estrogen-Like Molecules in Neurogenesis and Neurodegeneration: Beneficial or Harmful? *Front. Cell Neurosci*. 2021; 15: 636176. DOI: 10.3389/fncel.2021.636176.
27. Gurzhenko Yu.N., Kalyuzhnyy D.G. Modern representations about estrogens in a men's organism. *Zdorov'e muzhchiny*. 2020; 73(2): 22–6. DOI: 10.30841/2307-5090.2.2020.212450. (in Russian)
28. Zúñiga D., Stumpf M.A.M., Monteiro A.L.S., Glezer A. Correction: Aromatase inhibitors as a therapeutic strategy for male prolactinoma resistant to dopamine agonists: a retrospective cohort study and literature review. *J. Endocrinol. Invest*. 2023. DOI: 10.1007/s40618-023-02247-5.
29. Myakotnykh V.S., Ostapchuk E.S., Meshchaninov V.N., Sidenkova A.P., Borovkova T.A., Torgashov M.N. et al. Pathological aging: main “targets”, age-associated diseases, gender characteristics, geroprophylaxis. *Uchebnoe posobie*. Moscow: Novyi format; 2021. (in Russian)
30. Tipisova E.V., Elfimova A.E., Alikina V.A., Molodovskaya I.N., Zyabisheva V.N. Activity of the hypothalamus-pituitary-gonadal system in men of the European North in different photoperiods. *Problemy Reproduktsii*. 2023; 29(2): 101-9. DOI: 10.17116/repro202329021101. (in Russian)



© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2024

Буянова Н.М.¹, Алпатов С.П.¹, Кочетов А.Г.^{1,2}, Троянов К.В.¹, Парастаев С.А.^{1,3}

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ КОНЦЕНТРАЦИИ СЫВОРОТОЧНОГО ИММУНОГЛОБУЛИНА А ПО ОЛИМПИЙСКОЙ КЛАССИФИКАЦИИ И УРОВНЮ СПОРТИВНЫХ ДОСТИЖЕНИЙ У СПОРТСМЕНОВ ВЫСОКОГО КЛАССА

¹ ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава РФ, 117997, Москва, Россия;

² АНО ДПО «Институт лабораторной медицины», 117042, Москва, Россия;

³ ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр спортивной медицины и реабилитации» ФМБА, 121352, Москва, Россия

Актуальность. В доступной литературе отсутствуют систематизированные данные о концентрации сывороточного иммуноглобулина А у спортсменов высокого класса с учётом их соревновательной успешности.

Цель. Стратификация уровня сывороточного иммуноглобулина А по уровню спортивных достижений в рамках олимпийской классификации видов спорта.

Материал и методы. Исследование проводилось на основе данных медицинских обследований спортсменов сборных России за период с 2012 по 2020 годы. В выборку вошли 21 141 спортсмен, классифицированные по олимпийским видам спорта.

Результаты. Установлено, что концентрация сывороточного иммуноглобулина А не выходит за пределы популяционного референтного интервала, однако её уровень варьируется в зависимости от спортивных достижений и специфики вида спорта. Выявлена тенденция к более низким значениям сывороточного иммуноглобулина А у спортсменов с высокими достижениями, что, вероятно, связано с адаптацией иммунной системы к интенсивным физическим нагрузкам.

Заключение. Стратификация концентрации сывороточного иммуноглобулина А по уровню спортивных достижений в рамках олимпийской классификации показала важность учёта специфики нагрузки, в том числе интенсивности нагрузки. Исследование подчеркивает необходимость дальнейшего изучения взаимосвязи между концентрацией сывороточного иммуноглобулина А, типом физической активности, воздействия внешних факторов и уровнем спортивных достижений, что может иметь важное значение для оптимизации тренировочных процессов.

Ключевые слова: спорт высших достижений; иммуноглобулин А (IgA); олимпийская классификация; спортивные достижения

Для цитирования: Буянова Н.М., Алпатов С.П., Кочетов А.Г., Троянов К.В., Парастаев С.А. Сравнительный анализ концентрации сывороточного иммуноглобулина А по олимпийской классификации и уровню спортивных достижений у спортсменов высокого класса. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2024; 69 (12): 665-671.

DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2024-69-12-665-671>

EDN: BVCTYL

Для корреспонденции: Кочетов Анатолий Глебович, д-р мед.наук, проф., ректор АНО ДПО «Институт лабораторной медицины», проф. кафедры фармакологии Института фармации и медицинской химии РНИМУ им. Н.И. Пирогова; e-mail: ag_kochetov@dpo-ilm.ru

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 08.11.2024

Принята к печати 11.11.2024

Опубликовано 20.11.2024

Buyanova N.M.¹, Alpatov S.P.^{1,2}, Kochetov A.G.^{1,3}, Troyanov K.V.², Parastaev S.A.^{1,2}

COMPARATIVE ANALYSIS OF SERUM IMMUNOGLOBULIN A CONCENTRATIONS BY OLYMPIC CLASSIFICATION AND LEVEL OF ATHLETIC ACHIEVEMENT IN ELITE ATHLETES

¹ Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia;

² Institute of Laboratory Medicine, Moscow, Russian Federation, Moscow, Russia;

³ Federal Research and Clinical Center of Sports Medicine and Rehabilitation of Federal Medical Biological Agency, Moscow, Russia

Relevance. The available literature lacks systematic data on serum immunoglobulin A concentrations in elite athletes, considering their competitive success.

Objective. Stratification of serum immunoglobulin A levels by the level of athletic achievement within the framework of Olympic sports classification.

Material and methods. The study was based on medical examination data of Russian national team athletes from 2012 to 2020. The sample included 21,141 athletes, classified according to Olympic sports categories.

Results. It was found that immunoglobulin A concentrations remain within the general population reference range; however, the levels vary depending on athletic achievements and the specific nature of the sport. There is a tendency towards lower immunoglobulin A concentrations in athletes with high achievements, likely due to the adaptation of the immune system to intense physical exertion.

Conclusion. The stratification of immunoglobulin A concentrations by the level of athletic achievement within the framework of Olympic sports categories underscores the importance of considering the specificity of the load, including its intensity. The study highlights the need for further investigation into the relationship between immunoglobulin A concentration, type of physical activity, external factors, and the level of athletic achievement, which can be crucial for optimizing training processes.

Key words: field sports; immunoglobulin A (IgA); olympic classification; athletic achievements

For citation: Buyanova N.M., Alpatov S.P., Kochetov A.G., Troyanov K.V., Parastayev S.A.

Comparative analysis of serum immunoglobulin A concentrations by Olympic classification and level of athletic achievement in elite athletes. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2024; 69 (12): 665-671 (in Russ.).

DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2024-69-12-665-671>

EDN: BBCTYL

For correspondence: Kochetov Anatoly Glebovich, MD, PhD, Professor, Rector of ANO DPO "Institute of Laboratory Medicine", Professor of the Department of Pharmacology at the Institute of Pharmacy and Medicinal Chemistry, Russian National Research Medical University named after N.I. Pirogov; e-mail: ag_kochetov@dpo-ilm.ru

Information about authors:

Buyanova N.M., <https://orcid.org/0000-0002-4073-475X>;

Alpatov S.P., <https://orcid.org/0000-0003-2233-7301>;

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

Troyanov K.V., <https://orcid.org/0009-0004-1398-4958>;

Parastayev S.A., <https://orcid.org/0000-0002-2281-9936>.

Acknowledgment. The study had no sponsor support.

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

Received 08.11.2024

Accepted 11.11.2024

Published 20.11.2024

Введение. Спорт высших достижений (СВД) характеризуется нацеленностью на постоянный рост спортивных результатов, который достигается путем регулярных интенсивных тренировок на пределе возможностей и приводит к перестройке всех систем организма. Иммунная система (ИС) реагирует одной из первых. Положительное и отрицательное влияние физических нагрузок (ФН) на ИС отражено в большом количестве исследований, но по-прежнему остаются вопросы состояния ИС в целом и её отдельных компонентов при ФН [1-5]. В связи с этим представляется весьма актуальным исследование и оценка у спортсменов высокого класса уровня сывороточного иммуноглобулина А (IgA), количество которого составляет до 15% от всех иммуноглобулинов сыворотки [6].

Роль IgA, продуцируемого в слизистых оболочках при инфекции и воспалении, в отличие от сывороточного IgA, функционально хорошо изучена, но при этом интерпретация его содержания затруднена в связи со сложностями стандартизации преаналитического этапа, вариабельности его концентрации в различных секретах, и, как следствие, противоречивости представленных в доступной литературе референсных популяционных значений среди относительно здоровых лиц [7-9].

Напротив, референсные значения сывороточного IgA (IgA_{сыв}) определены более чётко, но с весьма широким диапазоном – от 0,7 до 4,0 г/л у взрослых, при этом его роль остаётся недостаточно ясной [6, 9, 10].

Считается, что мономерные IgA_{сыв} обладают противовоспалительными эффектами и при отсутствии антигенов ингибируют функции клеток-фагоцитов. Данная супрессивная активность также подтверждает-

ся повышенной частотой аутоиммунных и аллергических заболеваний у пациентов с селективным дефицитом IgA [6, 8-10]. С другой стороны, IgA_{сыв} участвует во второй (сыворотка) линии защиты от бактерий и в меньшей степени вирусов, попадающих в кровь, и иммунные комплексы IgA_{сыв} в этом случае активируют опосредованную нейтрофилами антителозависимую клеточную цитотоксичность даже лучше, чем иммуноглобулин G [11-13].

Таким образом, IgA_{сыв} участвует в двух разнонаправленных процессах, связанных, согласно литературным данным, с различным действием подклассов IgA_{сыв}. Известно, что в сыворотке крови находятся два типа молекул мономерного иммуноглобулина: подкласс IgA1, который составляет примерно 85% от общего количества IgA_{сыв}, и подкласс IgA2. Данные подклассы различаются по своему действию на иммунные клетки из-за различных связывающих и сигнальных свойств. IgA2 оказывает противовоспалительное действие на макрофаги и нейтрофилы, в отличие от IgA1 [14, 15].

В связи с различным влиянием IgA_{сыв} на важные функции иммунитета актуальной остаётся оценка его уровня у высококвалифицированных спортсменов, иммунитет которых вынужден приспосабливаться к влиянию высоких нагрузок. Но при изучении литературы выявлено, что большинство исследователей сосредотачивали свои усилия на изучение уровня секреторной формы IgA у спортсменов [5, 16-19].

В целом по литературным данным, у высококвалифицированных спортсменов отмечаются разнонаправленные сдвиги лабораторных показателей иммунитета, при этом, по данным большинства исследователей, не

Таблица 1

Количество спортсменов, включённых в исследование, по олимпийским видам спорта

| Вид спорта | n | Доля (95%ДИ) |
|------------------------|------|--------------------|
| Спортивные игры | 7221 | 34,2% (33,5-34,8%) |
| Единоборства | 5362 | 25,4% (24,8-26,0%) |
| Сложно-координационные | 4526 | 21,4% (20,9-22,0%) |
| Циклические | 2099 | 9,93% (9,53-10,3%) |
| Скоростно-силовые | 1579 | 7,47% (7,12-7,83%) |
| Многоборье | 384 | 1,82% (1,64-2,00%) |

выходящие за пределы общепопуляционного референсного интервала, в частности, это касается и уровней иммуноглобулинов [4, 20-23]. Кроме того, оказалось затруднительным найти полномасштабные исследования, касающиеся изменения уровней IgA_{сыв} у спортсменов высокого класса в различных видах спорта, и практически ни одного, в котором бы рассматривалась связь между лабораторными показателями иммунитета и спортивными достижениями.

Таким образом, в связи с дуалистичностью роли IgA_{сыв} и отсутствием систематизированных данных о нём в спорте высших достижений, необходимо проведение исследования на большом количестве спортсменов с акцентом на их уровень достижений в различных видах спорта, в частности, с учётом международной олимпийской классификации видов спорта.

Цель работы - стратификация уровня сывороточного иммуноглобулина А по уровню спортивных достижений в рамках олимпийской классификации видов спорта.

Материал и методы. В исследовании использовалась база данных ФМБА с результатами медицинского обследования спортсменов сборных России в соответствии с приказами Министерства спорта Российской Федерации № 1000 от 1 декабря 2009 года «Об утверждении Порядка медицинского обеспечения спортивной подготовки в Российской Федерации» и Министерства здравоохранения РФ от 30 мая 2018 г. № 288н "Об утверждении Порядка организации медико-биологического обеспечения спортсменов спортивных сборных команд Российской Федерации" по 81 виду спорта (ВС) за период с 2012 по 2020 год. Критериями включения были наличие в записи базы данных соревновательных результатов спортсмена, его возраста, пола и результатов лабораторных исследований; критериями невключения – наличие острого заболевания и хронических заболеваний, требующих постоянной медикаментозной поддержки.

Всего в базе данных содержалось 21 141 записей, соответствующих критериям включения и невключения, из них 9 289 (43,9%, 95%ДИ 3,3-44,6%) записей о спортсменах женского пола и 11 882 (56,2%, 95%ДИ 55,5-56,9%) мужского пола. Число спортсменов со сверхвысокими достижениями (СВД) составило 11 322 (53,6%, 95% ДИ 52,9-54,2%) человек, с отсутствием сверхвысоких достижений (ОСВД) – 9 849 (46,6%, 95% ДИ 45,9-47,3%). Сверхвысокими достижениями считались победы и призовые места на крупных российских и международных соревнованиях.

Виды спорта группировались в соответствии с классификацией, утверждённой Международным олимпийским комитетом за период формирования базы данных, которая включает шесть групп: циклические дисциплины - бег, гребля, плавание, конькобежный, лыжный спорт, велоспорт и другие; скоростно-силовые дисциплины - метание, спринт, тяжёлая атлетика, отдельные виды легкой атлетики и другие; сложно-координационные - художественная и спортивная гимнастика, фигурное катание и другие; единоборства; спортивные игры - волейбол, хоккей, футбол и другие виды командных игр; многоборье - легкоатлетическое десятиборье, лыжное двоеборье, пятиборье и другие (табл. 1) [24].

Меры центральной тенденции возраста участников исследования составили: по средней 19,5±5,63 (95%ДИ 22,18-22,35) лет, по медиане 18,0 (Q 16,0-22,0) лет. Переменная «возраст» имела ненормальное распределение, значимость отличия от нормального распределения для данной переменной по критерию Колмогорова-Смирнова составила $p_{\text{КС}} < 0,001$.

Взятие образцов венозной крови для лабораторных исследований проводилось в соответствии с ГОСТ Р 52623.4-2015 «Технологии выполнения простых медицинских услуг инвазивных вмешательств». Обработка образцов венозной крови и получение сыворотки для определения IgA_{сыв} выполнялись согласно ГОСТ Р 53079.4-2008 «Обеспечение качества клинических лабораторных исследований. Часть 4. Правила ведения преаналитического этапа».

Концентрация IgA_{сыв} определялась на автоматических проточных иммунохемилюминесцентных анализаторах сопоставимого класса в различных лабораториях медицинских организаций ФМБА, имеющих свидетельства об успешном участии в международных системах внешнего контроля качества по определению концентрации IgA_{сыв}.

Статистическая обработка данных проводилась с использованием программного обеспечения SPSS и Excel. Описательная статистика количественных переменных представлена в зависимости от нормальности распределения в виде средней и 95% доверительного интервала (ДИ) или медианы и межквартильного размаха (Q). Нормальным принималось распределение, у которого значимость отличия от теоретически нормального по критерию Колмогорова–Смирнова была более 0,05 ($p_{\text{КС}} > 0,05$). ДИ для частот и долей рассчитывались методом Уилсона [25 - 27]. Расчёт коэффициента корреляции (r) выполнялся по методу Пирсона или tau-b Кендалла в зависимости от типа нормальности распределения переменных. В модели многомерного шкалирования для группировки переменных использовалось расстояние Евклида, вычисляемое по используемым данным, с выбором обусловленности матричной переменной. Оценка количественного теста в качестве классификатора состояния осуществлялась по рабочей характеристической кривой (ROC-анализ), в частности, по площади под характеристической кривой и её стандартной ошибки (S, m), асимптотической значимости (p_s), асимптотическому 95% ДИ_a [28]. Полученные по координатам точек характеристической кривой пороговые значения дополнительно оценивались с помощью четырёхпольной таблицы сопряжённости с расчётом отношения шансов (ОШ). Несовпадение доверительных интервалов или межквартильных разма-

хов для мер центральной тенденции, а также значение вероятности (p) менее 0,05 (двусторонняя проверка значимости) для показателей аналитической статистики демонстрировало статистическую значимость.

Результаты. Концентрация $IgA_{\text{сыв}}$ как переменная имела ненормальное распределение $p_{\text{КС}} < 0,001$. Медиана концентрации $IgA_{\text{сыв}}$ по всем включённым в исследование записям составила 1,71 (Q 1,31-2,24) г/л.

Статистически значимых различий концентрации $IgA_{\text{сыв}}$ по полу не выявлено: у мужчин составила 1,76 (Q 1,33-2,31) г/л, у женщин 1,66 (Q 1,29-2,15) г/л, но по медиане отмечается тенденция к более высоким значениям $IgA_{\text{сыв}}$ у мужчин. Тенденция была подтверждена наличием слабой, но статистически значимой корреляционной взаимосвязи между полом (муж/жен) спортсменов и концентрацией $IgA_{\text{сыв}}$ ($r = -0,049$, $p < 0,001$), свидетельствующей о том, что более высокие концентрации $IgA_{\text{сыв}}$ у мужчин наблюдались чаще.

По наличию СВД концентрация $IgA_{\text{сыв}}$, как и в случае с группировкой по полу, статистически значимо не различалась: в группе СВД составила 1,68 (Q 1,29-2,19) г/л, в группе ОСВД 1,76 (Q 1,33-2,30) г/л, то есть, медиана концентрации $IgA_{\text{сыв}}$ была меньше в группе с наличием СВД. Корреляционный анализ позволил выявить наличие слабой, но статистически значимой корреляционной взаимосвязи между наличием СВД (да/нет) спортсменов и концентрацией $IgA_{\text{сыв}}$ ($r = 0,048$, $p < 0,001$), свидетельствующей о том, что более высокие концентрации $IgA_{\text{сыв}}$ наблюдались чаще в группе ОСВД. Полученные данные стали при ROC-анализе основой отбора ОСВД в качестве положительного состояния.

Площадь под характеристической кривой концентрации $IgA_{\text{сыв}}$ в группе ОСВД составила $S = 0,534 \pm 0,004$ (95%ДИ 0,526-0,542, $p < 0,001$) (рис. 1). По координатам точек характеристической кривой выявлено пороговое значение концентрации $IgA_{\text{сыв}}$ 1,78 г/л с чувствительностью 49,6% и специфичностью 55,9%. ОШ по вероятности отсутствия СВД при указанном пороговом значении составило 1,079 (95%ДИ 0,954-1,220, $p = 0,232$).

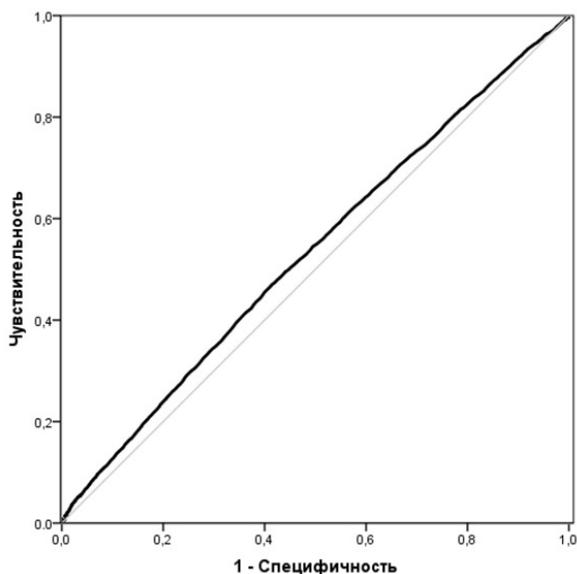


Рис. 1. Характеристическая кривая концентрации $IgA_{\text{сыв}}$ у спортсменов высокого класса по отсутствию сверхвысоких достижений.

реляционным анализом: мужской пол очень слабо, но статистически значимо ассоциировался с ОСВД ($r = -0,022$, $p = 0,001$).

Концентрации $IgA_{\text{сыв}}$ при олимпийской группировке ВС статистически значимо не отличались по межквартильному размаху, но обращает внимание ритмичность цепного прироста медианы и межквартильного размаха (рис. 2). Цепной медианный прирост концентрации $IgA_{\text{сыв}}$ между сложно-координационными ВС и единоборствами составил 0,05 г/л, между единоборствами и спортивными играми - 0,06 г/л, между спортивными играми, циклическими ВС и многоборьем по 0,03 г/л, между многоборьем и скоростно-силовыми ВС - 0,07 г/л. С визуальным учётом значений межквартильного размаха можно выделить 4 группы для кластеризации значений концентрации $IgA_{\text{сыв}}$ по олимпийским ВС: сложно-координационные, единоборства, спортивные игры и другие ВС, которые объединяют многоборье, циклические и скоростно-силовые ВС.

Многомерное шкалирование олимпийских ВС с индивидуальной матрицей по промежуточной концентрации $IgA_{\text{сыв}}$, равной 1,75 г/л, подтвердило необходимость их уменьшения до 4 соответствующих кластеров для последующей оценки по уровню спортивных достижений (рис. 3).

Результаты ROC-анализа концентрации $IgA_{\text{сыв}}$ в полученных кластерах олимпийских ВС по уровню спортивных достижений свидетельствуют о том, что наиболее высокая значимость указанной переменной при отсутствии СВД отмечается в порядке убывания для таких ВС как спортивные игры, сложно-координационные и единоборства (табл. 2). По остальным олимпийским ВС значимости концентрации $IgA_{\text{сыв}}$, как классификатора уровня достижений, не выявлено.

Пороговое значение концентрации $IgA_{\text{сыв}}$ в соответствии с координатами точек характеристической кривой по ОСВД в группе спортивных игр составило 1,76 г/л с чувствительностью 52,8%, специфичностью 54,2% и ОШ 1,321 (95% ДИ 1,204-1,449, $p < 0,001$). В группе сложно-координационных ВС и в группе единоборств пороговое значение составило 1,78 г/л, соответственно, с чувствительностью 48,3% и 46,6%, специфичностью 56,3% и 57,4%, ОШ 1,296 (95% ДИ 1,151-1,459, $p < 0,001$) и 1,148 (95% ДИ 1,029-1,281, $p < 0,001$). При значении концентрации $IgA_{\text{сыв}}$ по ОСВД в группе спортивных игр 1,78 г/л в качестве точки отсечения получены более низкая, чем при пороговом значении 1,76 г/л, чувствительность 51,9%, но более высокая специфичность 55,1% и ОШ 1,322 (95% ДИ 1,205-1,450, $p < 0,001$). Представленные выше характеристики теста по всей выборке и в выборках по ВС позволяют принять общим пороговым значением по отсутствию СВД концентрацию $IgA_{\text{сыв}}$ 1,78 г/л.

Следовательно, учитывая преобладание специфичности над чувствительностью, свидетельствующее о более высокой прогностической ценности отрицательного результата, можно предположить, что концентрация $IgA_{\text{сыв}}$ менее 1,78 г/л в сложно-координационных ВС, спортивных играх и единоборствах с большей вероятностью прогнозирует наличие СВД, чем отсутствие СВД при концентрации выше данного порогового значения.

Обсуждение. Результаты сравнительного исследо-

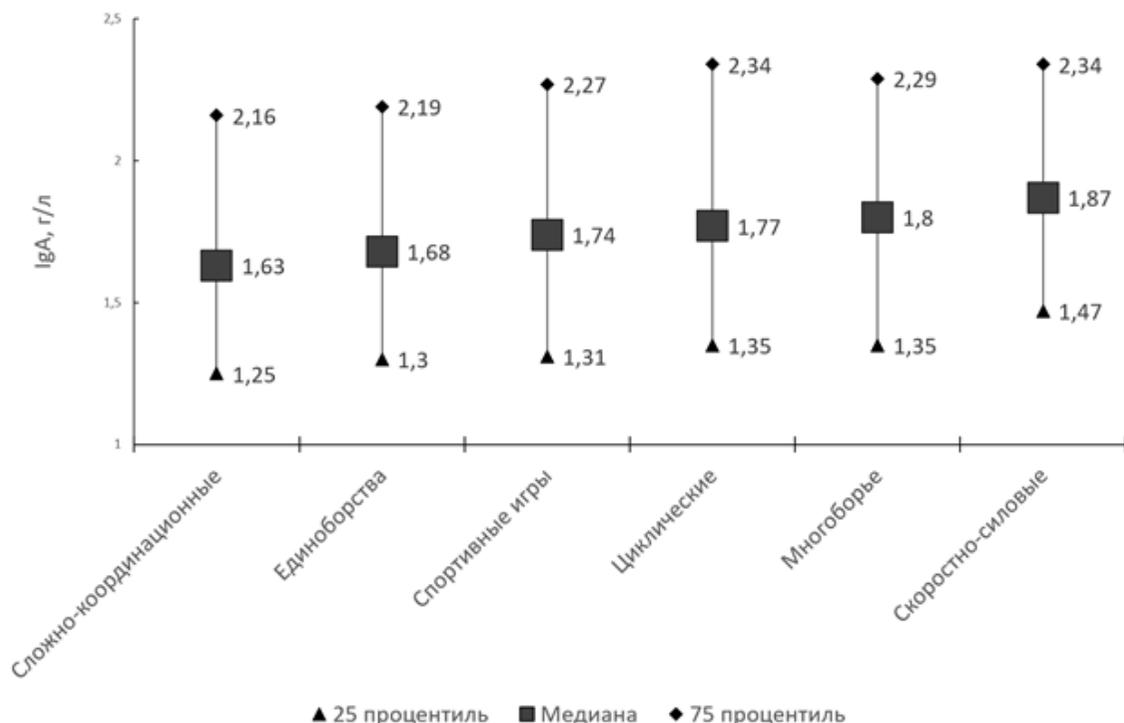


Рис. 2. Группировка концентрации $IgA_{сыв}$ по олимпийской классификации видов спорта.

вания концентрации $IgA_{сыв}$ у спортсменов высокого класса демонстрируют, с одной стороны, стабильность уровня и отсутствие влияния больших нагрузок на его синтез, так как диапазоны концентрации $IgA_{сыв}$ во всех ВС не выходят за пределы популяционного референсного интервала, с другой стороны, определённую его стратификационную значимость по ВС и по уровню высших достижений. Более того, концентрация $IgA_{сыв}$

цию к более низким центральным значениям относительно центрального значения в популяции и по мере возрастания ассоциировалась с более низким уровнем спортивных достижений.

Наличие взаимосвязи более низких спортивных достижений и более высокой концентрации $IgA_{сыв}$ в группе мужчин, скорее всего, обусловлено особенностью подготовки спортсменов разного пола и превалирова-

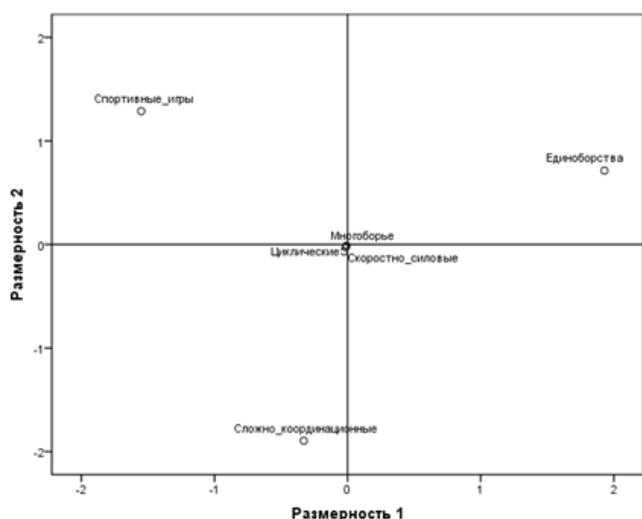


Рис. 3. Выведенная конфигурация результатов многомерного шкалирования олимпийских видов спорта с индивидуальной матрицей по промежуточной концентрации $IgA_{сыв}$ 1,75 г/л.

у спортсменов высокого класса находилась преимущественно в первом, наименьшем квинтиле популяционного референсного интервала, то есть имела тенден-

Таблица 3

Коэффициенты корреляции по полу и возрасту по олимпийским видам спорта

| Виды спорта | r^P | |
|---------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| | Возраст, годы | Пол (муж/жен) |
| Сложно-координационные (да/нет) | 0,108 ^{<0,001} | -0,135 ^{<0,001} |
| Спортивные игры (да/нет) | 0,035 ^{<0,001} | 0,010 ^{<0,001} |
| Многоборье (да/нет) | -0,025 ^{<0,001} | 0,005 ^{0,075} |
| Единоборства (да/нет) | -0,033 ^{<0,001} | 0,082 ^{<0,001} |
| Скоростно-силовые (да/нет) | -0,061 ^{<0,001} | 0,032 ^{<0,001} |
| Циклические (да/нет) | -0,071 ^{<0,001} | 0,007 ^{0,016} |

нием женщин в приоритетных для страны видах спорта, в которых наблюдается наибольшее число призов на международных соревнованиях.

Представленная в результатах исследования кластеризация ВС по концентрации $IgA_{сыв}$ объясняется, вероятнее всего, внутригрупповыми особенностями самих видов спорта. В частности, можно предположить, что выделение в отдельный кластер сложно- координационных ВС – фигурное катание, художественная гимнастика, спортивная гимнастика, синхронное плавание,

обусловлено прежде всего тем, что это «женские» виды спорта, которые и в возрастном отношении более «молодые», а в молодом возрасте некоторыми исследователями отмечаются более низкие значения концентрации $IgA_{\text{сыв}}$ [6]. Расчёты коэффициентов корреляции в проведённом нами исследовании подтверждают возможную значимость возраста и пола при выделении данного кластера (табл. 3). Из данных табл. 3 видно, что со сложно-координационными ВС отмечается наибольшее коэффициенты корреляции относительно остальных ВС: чем больше возраст, тем реже спортсмен или спортсменка входят в эту группу ВС, и чем больше встречаемость женского пола, тем выше встречаемость в данной группе.

Выделение в отдельные кластеры единоборств и спортивных игр объясняется, возможно, наличием такого фактора, как непосредственный контакт между спортсменами, что, вероятно, сказывается на уровне концентрации $IgA_{\text{сыв}}$. При этом в единоборствах контактное взаимодействие длится дольше, а в спортивных играх оно менее продолжительно по времени, но чаще, и с большим числом участников.

Относительно факторов объединения в отдельный кластер многоборья, скоростно- силовых и циклических ВС, можно предположить постоянные и непрерывные нагрузки в качестве специфики данных видов спорта.

Заключение. Таким образом, полученные в исследовании результаты показывают, что в стратификации концентрации $IgA_{\text{сыв}}$ по уровню спортивных достижений большее значение имеет не столько олимпийская классификация, которая объединяет виды спорта по характеру движений, сколько, предположительно, контактность ВС, а также особенности ВС по интенсивности и непрерывности нагрузки. Необходимы дальнейшие исследования концентрации $IgA_{\text{сыв}}$ в выделенных в представленном исследовании кластерах с учётом особенностей влияния на достижения спортсмена внутренней среды организма, формирующейся за счёт вариативности физических нагрузок, и особенностей внешнего воздействия (внешних раздражителей) на организм - непосредственных и опосредованных контактов с естественными и искусственными факторами внешней среды.

ЛИТЕРАТУРА (П.П. 3, 11, 12, 14-16, 18, 19, 23-27 СМ. REFERENCES)

1. Суздальницкий Р.С., Левандо В.А. Новые подходы к пониманию спортивных стрессорных иммунодефицитов. *Теория и практика физической культуры*. 2003; 1: 18-22.
2. Гаврилова Е.А. Стрессорный иммунодефицит у спортсменов. М.: Советский спорт; 2009.
3. Иванчикова Н. Н., Шераш Н. В. Особенности иммунного статуса спортсменов (обзор литературы). *Прикладная спортивная наука*. 2021; 2 (14): 91-6.
4. Назар П., Шевченко Е., Осадчая О., Левон М. Иммунный статус спортсменов при физической нагрузке. *Наука в олимпийском спорте*. 2014; 1: 37-43.
5. Шитикова М.Г. Иммуноглобулин А (IgA): строение, рецепторы взаимодействия, селективный дефицит. *Иммунопатология, Аллергология, Инфектология*. 2019; 1: 52-60. DOI: 10.14427/jipai.2019.1.52.
6. Крюкова Н.О., Ракунова Е.Б., Костинов М.П., Баранова И.А., Свитич О.А. Секреторный иммуноглобулин А респираторной системы и COVID-19. *Пульмонология*. 2021; 31 (6): 792-8. DOI: 10.18093/0869-0189-2021-31-6-792-798.
7. Киселева Е.П. Акцептивный иммунитет — основа симбиотических взаимоотношений. *Инфекция и иммунитет*. 2015; 5 (2): 113-30. DOI: 10.15789/2220-7619-2015-2-113-130.
8. Кузнецов А.В. Иммуноглобулин А у детей, современные представления о его противовоспалительных и провоспалительных эффекторных функциях. *Фундаментальные исследования*. 2012; 2: 198-203.
9. Дмитриева Ю.А., Захарова И.Н., Радченко Е.Р. Селективный дефицит иммуноглобулина А в практике педиатра. *Педиатрия. Consilium Medicum*. 2019; 3: 122-6. DOI: 10.26442/26586630.2019.3.190633.
10. Климович В.Б., Самойлович М.П. Иммуноглобулин А (IgA) и его рецепторы. *Медицинская иммунология*. 2006; 8 (4): 483-500. DOI: 10.15789/1563-0625-2006-4-483-500/
11. Першин Б.Б., Гелиев А.Б., Чуракова Г.Г., Алешкин В.А., Толстов Д.В., Тверской К.А. и др. Длительное изучение сывороточных иммуноглобулинов у профессиональных лыжниц в тренировочном периоде. *Иммунология*. 2003; 24(5): 298.
12. Петрушкина Н. П., Симонова Н.А. Быков Е.В, Коломиец О.И. Иммунология спорта (обзор литературы). *Научно-спортивный вестник Урала и Сибири*. 2019; 3(23): 21-37.
13. Рахманов Р.С., Богомолова Е.С. Оценка влияния физических нагрузок на гуморальный иммунитет спортсменов. *Медицина экстремальных ситуаций*. 2020; 22 (2): 231-6.
14. Толстой О.А., Цыган В.Н. Особенности влияния интенсивных физических нагрузок на иммунный статус профессиональных спортсменов велосипедистов в годичном цикле подготовки. *Известия Российской военно-медицинской академии*. 2019; 38(3): 256-70.
15. Ланг Т.А., Сесик М. Описание статистики в медицине. Руководство для авторов, редакторов и рецензентов. М.: Практическая медицина; 2011.

REFERENCES

1. Suzdal' nitskiy R.S., Levando V.A. Noveye podhody k ponimaniyu sportivnyh stressornyh immunodeficitov. *Teoriya i praktika fizicheskoy kul'tury*. 2003; 1: 18-22. (in Russian)
2. Gavrilova E.A. Stress-induced immunodeficiency in athletes [Stressornyj immunodefitsit u sportsmenov]. Moscow: Sovetskiy sport; 2009. (in Russian)
3. Schwellnus M., Soligard T., Alonso J.-M., Bahr R., Clarsen B., Dijkstra H.P. et al. How much is too much? (Part 2). International Olympic Committee consensus statement on load in sport and risk of illness. *Br. J. Sports Med*. 2016; 50:1043-52. DOI: 10.1136/bjsports-2016-096572.
4. Ivanchikova N. N., Sherash N. V. Peculiarities of the immune status of athletes (literature review). *Prikladnaya sportivnaya nauka*. 2021; 2 (14): 91-6. (in Russian)
5. Nazar P., Shevchenko E., Osadchaya O., Levon M. Immune status of athletes under physical exertion.. *Nauka v olimpiyskom sporte*. 2014; 1: 37-43. (in Russian)
6. Shitikova M.G. Immunoglobulin A (IgA): the structure, receptors of interaction, selective IgA deficiency. *Immunopatologiya, Allergologiya, Infektologiya*. 2019; 1: 52-60. DOI: 10.14427/jipai.2019.1.52. (in Russian)
7. Kryukova N.O., Rakunova E.B., Kostinov M.P., Baranova I.A., Svitch O.A. Secretory immunoglobulin A of the respiratory system and COVID-19. *Pul'monologiya*. 2021; 31 (6): 792-8. DOI: 10.18093/0869-0189-2021-31-6-792-798. (in Russian)
8. Kiseleva E.P. Acceptive immunity – a basis for symbiotic relationships. *Infektsiya i immunitet*. 2015; (2): 113-30. DOI: 10.15789/2220-7619-2015-2-113-130. (in Russian)
9. Kuznetsov A.V. Immunoglobulin a in children: modern concepts of its anti-inflammatory and proinflammatory effector functions. *Fundamental'nye issledovaniya*. 2012; 2: 198-203. (in Russian)
10. Dmitrieva Yu.A., Zakharova I.N., Radchenko E.R. Selective IgA deficiency in pediatric practice. *Pediatriya. Consilium Medicum*. 2019; 3: 122-6. DOI: 10.26442/26586630.2019.3.190633. (in Russian)

11. Davis S.K., Selva K.J., Kent S.J., Chung A.W. Serum IgA Fc effector functions in infectious disease and cancer. *Immunology & Cell Biology*. 2020; 98: 276–86. DOI: 10.1111/imcb.12306.
12. Breedveld A., van Egmond M. IgA and Fc α RI: pathological roles and therapeutic opportunities. *Frontiers in Immunology*. 2019. 10:553. DOI: 10.3389/fimmu.2019.00553.
13. Klimovich V.B., Samoylovich M.P. Immunoglobulin A (IgA) and its receptors. *Meditsinskaya Immunologiya*. 2006; 8 (4): 483-500. DOI: 10.15789/1563-0625-2006-4-483-500/. (in Russian)
14. Vattepu R., Sneed S.L., Anthony R.M. Sialylation as an important regulator of antibody function. *Frontiers in Immunology*. 2022; 13: 818736. DOI: 10.3389/fimmu.2022.81873.
15. Steffen U., Koeleman C.A., Sokolova M.V., Bang H., Kleyer A., Rech J. et al. IgA subclasses have different effector functions associated with distinct glycosylation profiles. *Nat. Commun*. 2020; 11(1):120. DOI: 10.1038/s41467-019-13992-8.
16. Monje C., Rada I., Castro-Sepulveda M., Peñailillo L., Deldicque L., Zbinden-Foncea H. Effects of a high intensity interval session on mucosal immune function and salivary hormones in male and female endurance athletes. *J. Sports Sci. Med*. 2020; 19(2):436-43.
17. Pershin B.B., Geliev A.B., Churakova G.G. Aleshkin V.A., Tolstov D.V., Tverskoy K.A. et al. Long-term study of serum immunoglobulins in professional female skiers during the training period. *Immunologiya*. 2003; 24(5): 298. (in Russian)
18. Brenner I.K.M., Shek P.N. & Shephard R.J. Infection in athletes. *Sports Medicine*. 1994; 17: 86–107. DOI: 10.2165/00007256-199417020-00002.
19. Pedersen B.K., Bruunsgaard H. How physical exercise influences the establishment of infections. *Sports Med*. 1995; 19: 393–400.
20. Petrushkina N.P., Simonova N.A., Bykov E.V., Kolomiets O.I. Sport immunology (review of literature). *Nauchno-sportivnyi vestnik Urala i Sibiri*. 2019; 3(23): 21-37. (in Russian)
21. Rakhmanov R.S., Bogomolova E.S. Assessing the effect of physical activity on humoral immunity in athletes. *Meditsina ekstremal'nykh situatsiy*. 2020; 22(2): 231-6. (in Russian)
22. Tolstoy O.A., Tsygan V.N. Features of the influence of intensive physical loads on the immune status of professional bicycles athletes in the annual preparation cycle. *Izvestiya Rossiyskoy voenno-meditsinskoy akademii*. 2019; 38(3): 256-70. (in Russian)
23. Liu D., Wang R., Grant A.R., Zhang J., Gordon P.M., Yuqin Wei Y. et al. Immune adaptation to chronic intense exercise training: new microarray evidence. *BMC Genomics*. 2017; 18: 29. DOI: 10.1186/s12864-016-3388-5.
24. Olympics. (n.d.). Sports. Retrieved September 11, 2024, from <https://olympics.com/en/sports/>
25. Brown L.D., Cai T.T., Dasgupta A. Interval estimation for a binomial proportion. *Statistical Science*. 2001; 2: 101-33.
26. Garcia-Perez M.A. On the confidence interval for the binomial parameter. *Quality and Quantity*. 2005; 39: 467-81.
27. Altman D.J., Gore S.M., Gardner M.J. Statistical guidelines for contributors to medical journals. *Br. Med. J. (Clinical Research Edition)*. 1983; 6376:1489-93. DOI: 10.1136/bmj.287.6385.132-b.
28. Lang T.A., Sestic M. *Statistics in Medicine: A Guide for Authors, Editors, and Reviewers*. [Opisanie statistiki v meditsine. Rukovodstvo dlia avtorov, redaktorov i retsenzentov]. Moscow: Prakticheskaya meditsina; 2011. (in Russian)

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2024

Образцова О.А., Арбузова Н.В., Лагун К.М., Носов Н.Ю.

ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА СИФИЛИСА: ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ РАСШИРЕННОЙ АНТИГЕННОЙ ПАНЕЛИ В ИФА (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)



ФГБУ «Государственный научный центр дерматовенерологии и косметологии» Минздрава РФ, Москва, 107076, Россия

*Диагностика сифилиса значительно осложняется преобладанием скрытых форм, характеризующимися бессимптомным течением. Таким образом, серологические методы исследования, включающие в себя нетрепонемные и трепонемные лабораторные тесты, являются наиболее предпочитаемыми в диагностике данного заболевания, причем трепонемные исследования характеризуются более высокой чувствительностью и специфичностью, выявляя антитела к видоспецифичным (липо)протеинам *Treponema pallidum* ssp. *pallidum*. Применяемые в настоящее время рекомбинантные белки Trp15 (Trp0171), Trp17 (Trp0435), Trp47 (Trp0574) и TmpA (Trp0768) относятся к липопротеинам внутренней цитоплазматической мембраны *Treponema pallidum*, обуславливающим наиболее выраженный иммунный ответ при сифилисе. Тем не менее, чувствительность данного теста может снижаться при исследовании случаев ранних и поздних форм сифилиса. Повышение уровня чувствительности в данном случае возможно при использовании антигенной панели, включающей в себя расширенный перечень рекомбинантных белков *Treponema pallidum*. В настоящем обзоре рассматриваются наиболее перспективные белки протеома *Treponema pallidum*, интенсивность иммунного ответа на которые оказывается дифференцированной при различных формах заболевания. Поиск литературы за последние 20 лет был проведен с использованием баз данных Web of Science, PubMed, а также Российской научной электронной библиотеки eLIBRARY.*

Ключевые слова: обзор; рекомбинантные белки; сифилис; ИФА

Для цитирования: Образцова О.А., Арбузова Н.В., Лагун К.М., Носов Н.Ю. Лабораторная диагностика сифилиса: перспективы применения расширенной антигенной панели в ИФА (обзор литературы). *Клиническая лабораторная диагностика*. 2024; 69 (12): 672-676.

DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2024-69-12-672-676>

EDN: BJYJXU

Для корреспонденции: Образцова Ольга Анатольевна, канд. биол. наук, ст. науч. сотр. отдела лабораторной диагностики инфекций, передаваемых половым путём, и дерматозов; e-mail: valeeva19@gmail.com

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Поступила 29.07.2024
Принята к печати 17.09.2024
Опубликовано 20.11.2024

Obraztsova O.A., Arbuzova N.V., Lagun K.M., Nosov N.Yu.

LABORATORY DIAGNOSTICS OF SYPHILIS: PERSPECTIVES OF APPLICATION OF EXTENDED ANTIGEN PANEL IN ELISA (REVIEW OF LITERATURE)

State Research «Center of Dermatovenereology and Cosmetology», Russian Ministry of Health, 107076, Moscow, Russia

*Diagnosis of syphilis is significantly complicated by the prevalence of latent forms characterized by an asymptomatic course. Thus, serologic methods of investigation, including nontreponemal and treponemal laboratory tests, are the most preferred in the diagnosis of this disease, with treponemal tests characterized by higher sensitivity and specificity, detecting antibodies to species-specific (lipo)proteins of *Treponema pallidum* ssp. *pallidum*. The currently used recombinant proteins Trp15 (Trp0171), Trp17 (Trp0435), Trp47 (Trp0574) and TmpA (Trp0768) belong to lipoproteins of the inner cytoplasmic membrane of *Treponema pallidum* that are responsible for the most pronounced immune response in syphilis. However, the sensitivity of this test may be reduced in cases of early and late syphilis. Increasing the level of sensitivity in this case is possible with the use of an antigen panel that includes an expanded list of recombinant *Treponema pallidum* proteins. This review considers the most promising proteins of the *Treponema pallidum* proteome, the intensity of the immune response to which is differentiated in various forms of the disease. The literature search for the last 20 years was conducted using Web of Science, PubMed, and the Russian Scientific Electronic Library eLIBRARY databases.*

Key words: review; recombinant proteins; syphilis; ELISA

For citation: Obraztsova O.A., Arbuzova N.V., Lagun K.M., Nosov N.Yu. Laboratory diagnostics of syphilis: perspectives of application of extended antigen panel in elisa (review of literature). *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2024; 69 (12): 672-676 (in Russ.).

DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2024-69-12-672-676>

EDN: BJYJXU

For correspondence: Obraztsova Olga Anatolievna, senior researcher State Research «Center of Dermatovenereology and Cosmetology»; e-mail: valeeva19@gmail.com

Information about authors:

Obraztsova O.A., <https://orcid.org/0000-0002-5728-2139>;
Arbuzova N.V., <https://orcid.org/0009-0009-9343-7191>;
Lagun K.M., <https://orcid.org/0009-0004-9700-2455>;

Nosov N. Yu., <https://orcid.org/0000-0002-3967-8359>.

Conflict of interest. The authors declare absence of conflicts of interests.

Acknowledgment. The study had no sponsor support.

Received 29.07.2024

Accepted 17.09.2024

Published 20.11.2024

Сифилис, наряду с другими инфекциями, передаваемыми половым путём, относится к группе социально значимых и представляющих опасность для здоровья окружающих заболеваний. Согласно приказу Минздрава Российской Федерации № 87 от 26.03.2001 г., для серологической диагностики сифилиса применяются два вида тестов: нетрепонемные и трепонемные [1].

Нетрепонемные тесты, такие как реакция микропреципитации (РМП) или RPR-тест быстрых плазменных реагенов – определяют антитела к кардиолипину – антигену нетрепонемного происхождения [2]. Нетрепонемные тесты характеризуются низкой стоимостью, но имеют низкую чувствительность при первичном и позднем сифилисе. Появление антител к кардиолипину может быть связано с нарушением тканей не только в результате инфекции, вызываемой бледной трепонемой, но и вследствие иных инфекционных заболеваний, таких как гепатиты, а также многих аутоиммунных заболеваний, что может стать причиной ложноположительных результатов [2-6].

Трепонемные тесты, такие как иммуноферментный анализ (ИФА), реакция пассивной гемагглютинации (РПГА), реакция иммунофлюоресценции (РИФ) в модификациях РИФаБс и РИФ, реакция иммобилизации бледных трепонем (РИБТ) – являются серологическими реакциями, выявляющими специфические антигены возбудителя сифилиса *Treponema pallidum* ssp. *pallidum* [3, 7-8]. Регламентированными серологическими реакциями для контроля эффективности лечения больных сифилисом являются нетрепонемные тесты (РМП, RPR) [9]. Негативация нетрепонемных тестов, а именно четырёхкратное снижение титров антител, определяемых в данных серологических реакциях в течение года после окончания специфической терапии по поводу ранних форм сифилиса, подтверждает её эффективность; стойкое сохранение положительных результатов без тенденции к снижению титров антител служит основанием для диагностики серологической резистентности. Негативация трепонемных тестов (ИФА, РПГА, РИФ) наблюдается исключительно редко.

Метод ИФА широко применяется в диагностике всех форм сифилиса в силу высокой чувствительности и специ-

фичности, а также возможности выявления заболевания при отсутствии клинических проявлений, что является актуальным для скрытой формы сифилиса. Кроме того, данный метод является удобным в применении, сравнительно простым в проведении и недорогостоящим [10-11].

Имуноферментный анализ определяет наличие специфических иммуноглобулинов к основным иммунодоминантным антигенам мембраны *T. pallidum* в сыворотке, плазме крови человека или ликворе [12]. В качестве антигенов в составе коммерческих тест-систем используются рекомбинантные белки – аналоги мембранных липопротеинов *T. pallidum*: Trp15 (Trp0171), Trp17 (Trp0435), Trp47 (Trp0574) и TmpA (Trp44,5, Trp0768). Рекомбинантные антигены сорбируются на твердую фазу – поверхность лунок полистиролового планшета. Антитела в анализируемом образце связываются с антигенами, и комплекс антиген-антитело детектируется конъюгатом антител к иммуноглобулинам человека (IgG и/или IgM) с пероксидазой хрена (непрямой ИФА), либо тех же антигенов *T. pallidum*, конъюгированных с пероксидазой хрена («антигенный сэндвич») [13,14]. Для дифференцированного определения иммуноглобулинов только класса М кроме непрямого метода используется формат «захвата» («capture»): на планшет сорбируются антитела к тяжелой цепи иммуноглобулинов человека (μ-цепь), которые на первой стадии анализа захватывают все человеческие иммуноглобулины класса М из сыворотки. На второй стадии полученный комплекс реагирует с конъюгатом «антигены *T. pallidum* – пероксидаза хрена», в результате чего меченые антигены прикрепляются только к специфическим иммуноглобулинам класса М [2, 15,16].

Используемые иммунодоминантные антигены, обуславливающие формирование выраженного гуморального иммунного ответа при сифилисе, обладают различной чувствительностью при изолированном использовании на разных стадиях сифилиса (табл. 1) [17,18].

Представленные антигены, как правило, используются в разных комбинациях. В табл. 2 представлены тест-системы ИФА для диагностики сифилиса российских производителей, определяемые аналиты, формат ИФА и используемые комбинации антигенов для сорбции (согласно инструкции производителя).

Таблица 1

Чувствительность иммуноферментного анализа при изолированном использовании каждого рекомбинантного антигена при разных стадиях сифилиса.

| Стадия заболевания | Показатели чувствительности ИФА при использовании антигена, % | | | |
|---------------------------|---|-------|-------|-------|
| | Trp15 | Trp17 | Trp47 | TmpA |
| Первичный сифилис | 83,5 | 83,7 | 82,7 | 76,0 |
| Ранний скрытый сифилис | 66,7 | 71,4 | 64,3 | 98,0 |
| Вторичный сифилис | 84,2 | 86,2 | 83,1 | 100,0 |
| Общая чувствительность, % | 83,1 | 84,4 | 82,1 | 99,6 |

Антигены *T. pallidum*, применяемые в ИФА тест-системах российских производителей

| Производитель | Аналит | Формат ИФА | Чувствительность, специфичность | Используемые антигены |
|-----------------------------------|--------------|-----------------------|---------------------------------|---|
| ЗАО «Вектор-Бест» | IgG+IgM+IgA | сэндвич одностадийный | 100%, 100% | Нет данных |
| | IgG | непрямой | Нет данных | |
| | IgM | capture | Нет данных | |
| ООО НПО «Диагностические системы» | IgG+IgM, IgG | непрямой | 99,6-99,7%, 99,8% | Trp17, Trp47, TmpA |
| | IgG+IgM+IgA | сэндвич одностадийный | 99,3%, 99,7% | |
| | IgM | непрямой | Нет данных | |
| ЗАО «Эколаб» | IgG+IgM+IgA | сэндвич одностадийный | 99,54-100%, 99,85%-100% | Trp15, Trp17, Trp47, TmpA |
| | IgG | непрямой | 99,23%, 99,7% | |
| | IgM | capture | 99,47%, 99,69% | |
| АО БТК «Биосервис» | IgG | непрямой | Нет данных | Trp15, Trp17, Trp47, TmpA |
| ООО «Алкор-Био» | IgG+IgM+IgA | сэндвич одностадийный | 98,5-100%, 98,5-100% | Trp15, Trp17, Trp47 |
| | IgG | непрямой | 97-100%, 92,8-100% | |
| | IgM | capture | - | |
| ООО «Хема» | IgG+IgM+IgA | сэндвич одностадийный | 100%, 100% | Trp15, Trp17, Trp47, TmpA (в инструкции обозначен как «комплексный белок») |
| | IgG | непрямой | 100%, 100% | |
| | IgM | непрямой | 100%, 100% | |
| ООО «Биопалитра» | IgG+IgM+IgA | сэндвич одностадийный | Нет данных | Trp15, Trp17, Trp47, TmpA («комбинации антигенов») |
| ЗАО «Медико-биологический союз» | IgG+IgM+IgA | сэндвич одностадийный | 100%, 100% | Trp15, Trp17, Trp47, TmpA |
| | IgG | непрямой | Нет данных | |
| | IgM | capture | Нет данных | |
| ООО «Имбиан» | IgG+IgM+IgA | сэндвич одностадийный | 100%, 100% | Trp15, Trp17, Trp47, TmpA |
| | IgG | непрямой | 100%, 100% | |
| | IgM | capture | 100%, 100% | |
| ООО «Фактор-Мед Продакшн» | IgG+IgM | непрямой | 100%, 100% | Trpp15, Trpp17, Trpp41, Trpp47 |
| ООО «СКРИНИНГ-М» | IgG+IgM+IgA | сэндвич одностадийный | 100%, 100% | Trp17, Trp47, TmpA |
| ООО НПФ «Литех» | IgG+IgM+IgA | сэндвич двустадийный | Нет данных | Нет данных |
| ООО «Био-Рад Лаборатории» | IgG+IgM+IgA | сэндвич двустадийный | 99,8%, 100% | Trp15, Trp17, Trp47 |
| ООО «Диапроцесс» | IgG+IgM+IgA | сэндвич одностадийный | 100%, 100% | Trp15, Trp17, Trp47, TmpA |

От комбинации антигенов и соотношения их концентраций напрямую зависит чувствительность и специфичность тест-системы. В целом общая чувствительность и специфичность ИФА (анти-IgG) с антигенами Trp15, Trp17, Trp47 и TmpA близка к 100%. Чувствительность метода варьируется для разных стадий заболевания и для первичного, вторичного и раннего скрытого сифилиса составляет 99,8%, 100% и 90,5% соответственно. Таким образом, используемые в современной серологической диагностике иммунодоминантные антигены Trp15, Trp17, Trp47 и TmpA *T. pallidum* индуцируют выраженный гуморальный иммунный ответ при всех формах сифилиса, в связи с чем основанные на них диагностические тесты ориентированы исключительно на подтверждение самого факта заболевания [19, 20].

Различия показателей информативности ИФА при разных клинических формах и стадиях сифилиса могут быть связаны с различиями в уровне экспрессии отдельных антигенов *T. pallidum* и их доступности для иммунной системы пациента. Все это вызывает не-

обходимость поиска новых специфических антигенов бледной трепонемы, которые обладали бы высокой иммуногенностью и позволяли с высокой достоверностью диагностировать не только факт заболевания, но и его стадию.

В проведенных ранее исследованиях [21] отмечались различия в уровне экспрессии определенных антигенов *T. pallidum* и, соответственно, в их доступности для иммунной системы пациента. Таким образом, можно сделать предположение об усовершенствовании серологической диагностики сифилиса путем расширения применяемого комплекта диагностических антигенов с последующим выявлением антител определенной специфичности, характерных для разных форм данного заболевания и позволяющих с высокой достоверностью устанавливать диагноз сифилиса при разных, в том числе ранних, формах инфекции [22].

Развитие методов молекулярной биологии в области получения рекомбинантных белков предоставило основу для широкомасштабного поиска новых потенциальных антигенов для диагностики сифилитической

инфекции [23, 24]. Технология получения рекомбинантных белков *T. pallidum* предусматривает внедрение генов, отвечающих за синтез определенного белка, в клетку другого хорошо культивируемого в искусственных питательных средах микроорганизма (например: кишечной палочки *E. coli*), последующее выращивание полученного модифицированного микроорганизма, его дезинтеграцию, выделение и очистку рекомбинантного антигена [25, 26].

Результаты многочисленных исследований позволили определить наиболее перспективные видоспецифичные антигены *T. pallidum*, вызывающие наиболее выраженный иммунный ответ у человека. [22]. Наибольший интерес ввиду своей локализации представляют белки наружной мембраны, так как именно они в первую очередь являются мишенями для иммунной системы организма хозяина. Наружная мембрана бледной трепонемы содержит мало белковых молекул, однако у живых клеток *T. pallidum* именно они являются наиболее доступными мишенями для иммунной системы организма хозяина.

Тр0453 – липопротеин наружной мембраны *T. pallidum* с молекулярной массой 31,9 кДа, высокоиммуногенный и не имеющий гомологов среди бактерий других родов. Предполагается, что белок Тр0453 имеет транспортную функцию, осуществляет перенос липидов и гликолипидов через наружную мембрану бактерии. В исследовании Smith В.С. и соавт. [27] чувствительность в группах пациентов с первичным сифилисом составила 96%, в группах с вторичным и ранним скрытым сифилисом – по 100 % соответственно. В группе пациентов с поздним скрытым сифилисом антитела к данному белку не были детектированы.

Как было показано в работах по изучению протеома *T. pallidum*, белки, локализованные в периплазме цитоплазматической мембраны, обладают наибольшей иммуногенностью среди других антигенов. Антиген Тр0277 – С-терминальная периплазматическая протеаза с молекулярной массой 50,3 кДа. В исследовании М.В. Brinkman и соавт. [21] антитела против Тр0277 в 4,3 раза превышали уровень соответствующих антител в группе позднего скрытого сифилиса по сравнению с группой здоровых индивидов.

Антиген Тр0319 (ТрpС, PnrA) – мембранный липопротеин *T. pallidum*, транспортный белок в составе АТФ-связывающего комплекса с молекулярной массой около 37,7 кДа. Предположительно, данный липопротеин закорен во внутренней мембране посредством липидной части молекулы. В исследовании М.В. Brinkman [28] антитела против Тр0319 определялись при первичном, вторичном и раннем скрытом сифилисе.

Антиген Тр0684 (MglB-2) – мембранный белок с молекулярной массой 43 кДа, обладающий транспортной АТФ-зависимой функцией и серореактивный при всех формах сифилиса [28].

Антиген Тр0965 – белок цитоплазматической мембраны *T. pallidum* с молекулярной массой 35,4 кДа, который характеризуется как белок с транспортной функцией. Тр0965 обеспечивает надежную серологическую диагностику первичного, вторичного и раннего скрытого сифилиса. В группе здоровых индивидов ложноположительные результаты отсутствовали [29].

Тр1038 – цитоплазматический олигомерный белок.

Чувствительность твёрдофазного ИФА с Тр1038 в качестве антигена составляла 93,3 % для первичного сифилиса и по 100 % для вторичного, скрытого и врождённого сифилиса при 100% специфичности [30].

Тр163 (TroA) – белок в составе АТФ-связывающего транспортного комплекса. В работе М.В. Brinkman и соавт. [22] показано двукратное превышение фоновых значений при исследовании антител к данному антигену в сыворотке крови больных ранним скрытым сифилисом, тогда как при манифестных формах значительного превышения не описано. При этом в скрининге М.А. McGill и соавт. [22] были получены значения серореактивности 3+ для образцов сыворотки больных первичного, вторичного, раннего и позднего скрытого сифилиса.

Тр0971 (Тр34, ТрD) – белок цитоплазматической мембраны *T. pallidum*. В работе М.В. Brinkman и соавт. [28] показано 4-кратное превышение фоновых значений уровня антител к данному антигену в группе больных первичным сифилисом и 8-кратное в группе раннего скрытого сифилиса по сравнению с контрольными образцами здоровых индивидов.

Применение расширенной панели из 12 (4+8) антигенов *T. pallidum* в сочетании с определением уровня антител IgG и IgM, определяет возможность нового подхода к лабораторной дифференциации различных форм сифилиса с высоким уровнем диагностической значимости и широким спектром решаемых задач. Эффективность данного подхода была продемонстрирована и для вероятностной дифференциации форм сифилиса [31-33]. Полученные результаты создают основу для разработки новой диагностической методики в формате иммуночипа, основанного на использовании расширенной панели (4+8) рекомбинантных иммуногенных белков *T. pallidum*.

ЛИТЕРАТУРА (П. П. 3 - 30 СМ. REFERENCES)

1. Катунин Г.Л., Рубцов А.Б. Использование стандартных серологических методов исследования крови для диагностики скрытого позднего сифилиса. *Вестник дерматологии и венерологии*. 2016; (3): 69-74.
2. Соколовский Е., Фриго Н., Ротанов С., Савичев А., Доля О., Китаева Н., Халлен А., Унемо М., Домейка М., Баллард Р. Руководство по лабораторной диагностике сифилиса в странах Восточной Европы. *Вестник дерматологии и венерологии*. 2008; (5): 87-96.
3. Рунина А.В., Катунин Г.Л., Филиппова М.А., Затевалов А.М., Кубанов А.А., Дерябин Д.Г. Иммуночип для серологической диагностики сифилиса с использованием расширенной панели рекомбинантных антигенов *T. pallidum*. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2018; 165 (6): 726-73.
4. Рунина А. В., Шпилева М. В., Филиппова М. А., Катунин Г.Л., Кубанов А.А. Применение иммуночипа с панелью из 12 диагностических антигенов *T. pallidum* для изучения динамики профиля иммуноглобулинов классов IgG и IgM в сыворотке крови больных сифилисом до и после терапии. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2019; 64 (9): 546 - 52.
5. Рунина А.В., Шпилева М.В., Дерябин Д.Г. Иммуночип с расширенной панелью рекомбинантных антигенов *T. pallidum* для совершенствования серологической диагностики сифилиса. *Лабораторная служба*. 2018; 3 (2): 171.

REFERENCES

1. Katunin G.L., Rubtsov A.B. Use of standard serologic blood tests for the diagnosis of latent late syphilis. *Vestnik dermatologii i venerologii*. 2016; (3): 69-74. (in Russian)

2. Sokolovskiy E., Frigo N., Rotanov S., Savichev A., Dolya O., Kitaeva N. et al. Guidelines for laboratory diagnosis of syphilis in eastern Europe. *Vestnik dermatologii i venerologii*. 2008; (5):87-96. (in Russian)
3. Ratnam S. The laboratory diagnosis of syphilis. *Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology*. 2005; 16 (1): 45-51.
4. Larsen S.A., Steiner B.M., Rudolph A. Laboratory diagnosis and interpretation of tests for syphilis. *Clinical microbiology reviews*. 1995; 8 (1): 1-21.
5. Larsen S.A., Pope V., Johnson R.E., Kennedy E. A manual of tests for syphilis. *American Public Health Association. Washington, DC*; 1998:112-37.
6. Seña A. C., White B. L., Sparling P. F. Novel *Treponema pallidum* serologic tests: a paradigm shift in syphilis screening for the 21st century. *Clinical infectious diseases*. 2010; 51 (6): 700-8.
7. Deacon W.E., Falcone V.H., Harris A. A fluorescent test for treponemal antibodies. *Experimental Biology and Medicine*. 1957; 96 (2): 477-80.
8. Hunter E.F., Deacon W.E., Meyer P.E. An improved FTA test for syphilis, the absorption procedure (FTA-ABS). *Public health reports*. 1964; 79 (5): 410-2.
9. Rathlev T. Hemagglutination tests utilizing antigens from pathogenic and apathogenic *Treponema pallidum*. *The British journal of venereal diseases*. 1965; (77): 65-82.
10. Castro R., Prieto E. S., Santo I., Azevedo J., Exposto F. D. L. Evaluation of an enzyme immunoassay technique for detection of antibodies against *Treponema pallidum*. *Journal of clinical microbiology*. 2003; 41 (1): 250-3.
11. Lefevre J.C., Bertrand M.A., Bauriaud R. Evaluation of the Captia enzyme immunoassays for detection of immunoglobulins G and M to *Treponema pallidum* in syphilis. *Journal of Clinical Microbiology*. 1990; 28 (8): 1704-7.
12. Binnicker M.J., Jespersen D.J., Rollins L.O. Treponemal-specific tests for the serodiagnosis of syphilis: A comparative evaluation of seven assays. *Journal of clinical microbiology*. 2011; 49 (4): 1313-7.
13. Sun A.H. Sensitive and specific ELISA coated by TpN15-TpN17-TpN47 fusion protein for detection of antibodies to *Treponema pallidum*. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. 2009; 47 (3): 321-6.
14. Young H., Moyes A., Mcmillan A. A new recombinant antigen latex agglutination test (Syphilis Fast) for the rapid serological diagnosis of syphilis. *International journal of STD & AIDS*. 1998; 9 (4): 196-200.
15. Hunter E.F., Deacon W.E., Meyer P.E. An improved FTA test for syphilis, the absorption procedure (FTA-ABS). *Public health reports*. 1964; 79 (5): 410-2.
16. Deacon W.E., Falcone V.H., Harris A. A fluorescent test for treponemal antibodies. *Experimental Biology and Medicine*. 1957; 96 (2): 477-80.
17. Sun A.H. Sensitive and specific ELISA coated by TpN15-TpN17-TpN47 fusion protein for detection of antibodies to *Treponema pallidum*. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. 2009; 47 (3): 321-6.
18. Ijsselmuiden O.E., Schouls L.M., Stolz E., Aelbers G.N., Agterberg C.M., Top J., Van Embden J.D. Sensitivity and specificity of an enzyme-linked immunosorbent assay using the recombinant DNA-derived *Treponema pallidum* protein TmpA for serodiagnosis of syphilis and the potential use of TmpA for assessing the effect of antibiotic therapy. *Journal of clinical microbiology*. 1989; 27 (1): 152-7.
19. Park I.U., Tran A., Pereira L., Fakile Y. Sensitivity and Specificity of Treponemal-specific Tests for the Diagnosis of Syphilis. *Clinical Infectious Diseases*. 2020; (7): 13-20. DOI: 10.1093/cid/ciaa349.
20. Negash M., Wondmagegn T., Geremew D. Comparison of RPR and ELISA with TPHA for the Diagnosis of Syphilis: Implication for Updating Syphilis Point-of-Care Tests in Ethiopia. *Journal of Immunology Research*. 2018; 2978419. DOI: 10.1155/2018/2978419.
21. Brinkman M.B., McGill M.A., Pettersson J., Rogers A., Matějková P., Šmajš D., Palzkill T. A novel *Treponema pallidum* antigen, TP0136, is an outer membrane protein that binds human fibronectin. *Infection and immunity*. 2008; 76 (5): 1848-57.
22. McGill M.A., Mattei P.L., Beachkofsky T.M., Gilson R.T., Wisco O.J. Characterization and serologic analysis of the *Treponema pallidum* proteome. *Infection and immunity*. 2010; 78 (6): 2631-43.
23. McKeivitt M., Brinkman M.B., McLoughlin M., Perez C., Howell J.K., Weinstock G.M., Palzkill T. M. Genome scale identification of *Treponema pallidum* antigens. *Infection and immunity*. 2005; 73 (7): 4445-50.
24. McKeivitt M., Patel K., Smajs D., Marsh M., McLoughlin M., Norris S. J., Palzkill T. Systematic cloning of *Treponema pallidum* open reading frames for protein expression and antigen discovery. *Genome research*. 2003; 13 (7): 1665-74.
25. Stamm, L.V., Bassford Jr,P.J. Cloning and expression of *Treponema pallidum* protein antigens in *Escherichia coli*. *DNA*. 1982; 1 (4): 329-333.
26. Walfield A.M., Hanff P.A., Lovett M.A. Expression of *Treponema pallidum* antigens in *Escherichia coli*. *Science*. 1982; 216 (4545): 522-3.
27. Smith B.C., Simpson Y., Morshed M.G., Cowen L.L., Hof R., Wetherell C., Cameron, C. E. New proteins for a new perspective on syphilis diagnosis. *Journal of clinical microbiology*. 2013; 51 (1): 105-111.
28. Brinkman M.B., McKeivitt M., McLoughlin M., Perez C., Howell J., Weinstock G.M., Palzkill T. Reactivity of antibodies from syphilis patients to a protein array representing the *Treponema pallidum* proteome. *Journal of clinical microbiology*. 2006; 44 (3): 888-91.
29. Long F.Q., Zhang J.P., Shang G.D., Shang S.X., Gong K.L., Wang Q.Q. Seroreactivity and immunogenicity of Tp0965, a hypothetical membrane protein of *Treponema pallidum*. *Chinese medical journal*. 2012; 125 (11): 1920-4.
30. Thumiger A., Polenghi A., Papinutto E., Battistutta R., Montecucco C., Zanotti G.A. Crystal structure of antigen TpFl from *Treponema pallidum*. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*. 2006; 62 (3): 827-30.
31. Runina A.V., Katunin G.L., Filippova M.A., Zatevalov A.M., Kubanov A.A., Deryabin D.G. An immunochip for serologic diagnosis of syphilis using an expanded panel of recombinant T. pallidum antigens. *Byulleten' eksperimental'noj biologii i meditsiny*. 2018; 165 (6): 726-73. (in Russian)
32. Runina A.V., Shpilevaya M.V., Filippova M.A., Katunin G.L., Kubanov A.A. Application of immunochip with a panel of 12 diagnostic antigens of T. pallidum to study the dynamics of immunoglobulin profile of IgG and IgM classes in the serum of syphilis patients before and after therapy. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2019; 64 (9): 546- 52. (in Russian)
33. Runina A.V., Shpilevaya M.V., Deryabin D.G. Immunochip with an expanded panel of recombinant T. pallidum antigens to improve serologic diagnosis of syphilis. *Laboratornaya sluzhba*. 2018; 3 (2): 117. (in Russian)

МИКРОБИОЛОГИЯ



© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2024

Григорьевская З.В.¹, Петухова И.Н.¹, Багирова Н.С.^{1,2}, Агинова В.В.¹, Халилова А.М.¹, Терещенко И.В.¹, Халилова Т.М.¹, Ключникова И.А.¹

СИНЕРГИЗМ АНТИБИОТИКОВ *IN VITRO*. ПИЛОТНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕТОДА ГРАДИЕНТНОЙ ДИФФУЗИИ АНТИБИОТИКОВ (КРОСС-ТЕСТ)

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава РФ, 115522, Москва, Россия;

²ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава РФ, кафедра медицинской микробиологии, 123242, Москва, Россия

Цель исследования: изучить лекарственные взаимодействия комбинаций антибиотиков *in vitro*.

Материал и методы. Исследование проведено на 17 мульти- и экстремальнорезистентных штаммах грамотрицательных микроорганизмов: *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, выделенных из биоматериалов от пациентов, находившихся в стационаре НМИЦ онкологии им. Н. Н. Блохина Минздрава РФ в 2019-2024 гг. Использован метод E-тестов по типу кросс-теста. Изучено взаимодействие 13 комбинаций антибиотиков, включая имипенем, фосфомицин, полимиксин В, тигециклин и др. Общее количество постановок теста - 39. Для оценки возможного синергизма рассчитан индекс фракционной подавляющей концентрации (иФПК).

Результаты. Суммарно синергизм наблюдался в 6 случаях (15,4%), аддитивный эффект - в 9 случаях (23,1%) и индифферентный результат - в 24 случаях (61,5%). Антагонизма антибиотиков не зарегистрировано. Комбинация фосфомицина и имипенема, исследованная на изолятах *K. pneumoniae*, синергидна в 28,6% и давала аддитивный эффект в 14,3% случаев. У изолятов *P. aeruginosa* синергидный эффект отмечен при использовании фосфомицина с имипенемом (33,3%), при этом дополнительно наблюдался аддитивный эффект (66,7%). В отношении *A. baumannii* синергидный эффект *in vitro* наблюдался в 100% случаев при использовании комбинации цефтазидима-авибактама и сульбактама. При сравнении эффективности этих и других комбинаций антибиотиков между собой различия статистически недостоверны ($p > 0,05$).

Заключение. Рутинное использование *in vitro* обнаружения лекарственных взаимодействий мало выполнимо и плохо воспроизводимо. Оно возможно лишь в рамках исследований с целью сбора данных и дальнейшего сопоставления с результатами лечения.

Ключевые слова: E-тест; кросс-тест; *in vitro* синергизм; иФПК; комбинации антибиотиков; *Klebsiella pneumoniae*; *Pseudomonas aeruginosa*; *Acinetobacter baumannii*

Для цитирования: Григорьевская З.В., Петухова И.Н., Багирова Н.С., Агинова В.В., Халилова А.М., Терещенко И.В., Халилова Т.М., Ключникова И.А. Синергизм антибиотиков *in vitro*. Пилотное исследование с использованием метода градиентной диффузии (кросс-тест). *Клиническая лабораторная диагностика*. 2024; 69 (12): 677-685.

DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2024-69-12-677-685>

EDN: BPRPVF

Для корреспонденции: Петухова Ирина Николаевна, д-р мед. наук, проф. кафедры последипломного образования врачей, вед. науч. сотр. бактериологической лаборатории НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина; e-mail: irinapet@list.ru

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование выполнено при финансовой поддержке Минздрава Российской Федерации в рамках НИР по теме 123021600103-5.

Поступила 13.08.2024

Принята к печати 24.10.2024

Опубликовано 20.11.2024

Grigoryevskaya Z.V.¹, Petukhova I.N.¹, Bagirova N.S.^{1,2}, Aginova V.V.¹, Khalilova A.M.¹, Tereshchenko I.V.¹, Khalilova T.M.¹, Klyuchnikova I.A.¹

SYNERGISM OF ANTIMICROBIALS *IN VITRO*. PILOT STUDY USING THE METHOD OF GRADIENT DIFFUSION OF ANTIMICROBIALS (CROSS-TEST)

¹ Federal State Budgetary Institution "N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology" of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia;

² Russian Medical Academy of Continuing Professional Education of the Ministry of Health of the Russian Federation, Department of Medical Microbiology, Moscow, Russia

The aim of the study was to examine the drug interactions of antimicrobial combinations *in vitro*.

Material and methods. The study was conducted on 17 multi- and extremely resistant strains of gram-negative microorganisms: *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* isolated from biomaterials from in-patients treated "N.N.

Blokhin National Research Medical Center of Oncology” in 2019-2024. E-tests (cross-test method) was used. The interactions of 13 combinations of antimicrobials, including imipenem, fosfomycin, polymyxin B, tigecycline, etc., has been studied. The total number of tests was 39. To assess the possible synergy, the fractional inhibitory concentration index (FICI) was calculated.

Results. In total, synergism was observed in 6 cases (15.4%), an additive effect in 9 cases (23.1%) and an indifferent result in 24 cases (61.5%). No antibiotic antagonism has been reported. The combination of fosfomycin and imipenem, studied on *K. pneumoniae* isolates, was synergistic in 28.6% and gave an additive effect in 14.3% of cases. In *P.aeruginosa* isolates, a synergistic effect was also observed with the use of fosfomycin plus imipenem (33.3%), with an additive effect in 66.7% of tests. In relation to *A. baumannii*, a synergistic effect *in vitro* was observed in 100% of cases when using a combination of ceftazidime-avibactam and sulbactam. When comparing the effectiveness of these and other antimicrobial combinations, the difference was statistically insignificant ($p>0.05$).

Conclusion. To date, routine *in vitro* use of drug interaction testing is poorly feasible and poorly reproducible. It is possible only within the framework of research in order to collect data and further compare it with the results of treatment.

Key words: E-test; cross-test; *in vitro* synergism; FICI; combinations of antimicrobials; *Klebsiella pneumoniae*; *Pseudomonas aeruginosa*; *Acinetobacter baumannii*

For citation: Grigoryevskaya Z.V., Petukhova I.N., Bagirova N.S., Aginova V.V., Khalilova A.M., Tereshchenko I.V., Khalilova T.M., Klyuchnikova I.A. Synergism of antimicrobials *in vitro*. pilot study using the method of gradient diffusion of antimicrobials (cross-test). *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2024; 69 (12): 677-685 (in Russ.).

DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2024-69-12-677-685>

EDN: BPRPVF

For correspondence: Petukhova Irina Nikolaevna, MD PhD, DMSci, Professor of the Department of Postgraduate Education of Doctors, Leading researcher at the Bacteriological Laboratory of the N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of the Russian Federation; e-mail: irinapet@list.ru

Information about authors:

Grigoryevskaya Z.V., <https://orcid.org/0000-0003-4294-1995>;

Petukhova I.N., <https://orcid.org/0000-0003-3077-0447>;

Bagirova N.S., <https://orcid.org/0000-0003-1405-3536>;

Aginova V.V., <https://orcid.org/0000-0003-1787-2676>;

Khalilova A.M., <https://orcid.org/0009-0000-3006-357X>;

Tereshchenko I.V., <https://orcid.org/0000-0002-5052-7391>;

Khalilova T.M., <https://orcid.org/0009-0004-8044-7749>;

Klyuchnikova I.A., <https://orcid.org/0000-0002-3833-4351>.

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

Funding. The study was carried out with the financial support of the Ministry of Health of the Russian Federation within the framework of research on the topic 123021600103-5.

Received 13.08.2024

Accepted 24.10.2024

Published 20.11.2024

Введение. Рост числа инфекций, вызванных мультирезистентными, экстремально резистентными и панрезистентными грамотрицательными микроорганизмами способствовал тому, что чаще стала использоваться назначаемая эмпирически комбинированная антибактериальная терапия, основанная на имеющихся результатах микробиологических исследований или данных литературы [1-5].

Согласно современным клиническим рекомендациям, использование комбинаций антимикробных препаратов (АМП) целесообразно при среднетяжёлых и тяжёлых инфекциях, вызванных наиболее распространёнными госпитальными возбудителями - карбапенем-резистентными *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* [6-9].

Существуют несколько вариантов оценки эффективности лечения при комбинированном использовании АМП:

Синергетический, или синергидный эффект, отражает потенцирование лекарственного действия и характеризуется тем, что результат совместного применения комбинации превышает суммарный эффект входящих в неё АМП;

Аддитивный эффект отражает сумму действий препаратов, когда комбинация АМП даёт эффект, рав-

ный сумме действия каждого из них в отдельности;

Индифферентный эффект устанавливается в случае, если эффективность комбинации равна активности одного из входящих в комбинацию АМП;

Антагонистический эффект (антагонизм) наблюдается, когда эффективность использованных в комбинации АМП ниже таковой при применении наиболее активного из них в отдельности.

Наиболее привлекательным при комбинировании лекарственных средств, конечно, является синергидный эффект.

Существует ряд методов исследования синергизма АМП *in vitro* [10,11]. Наиболее часто используемыми являются:

Анализ «времени эрадикации» (англ. – «time-kill» method);

Метод «шахматной доски» (англ. - «checkerboard assay»);

Исследования с использованием Е-тестов (эпсилон-метрических тестов).

Одним из вариантов последнего является «кросс-тест», при котором полоски Е-тестов располагают на чашке Петри перпендикулярно друг другу, при этом местом пересечения служат определённые заранее минимальные подавляющие концентрации (МПК) АМП (рис. 1).

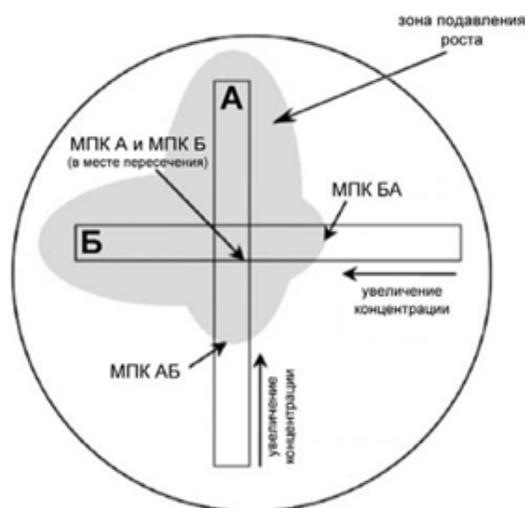


Рис.1. Схема постановки и учета результатов кросс-теста. МПК – минимальная подавляющая концентрация; МПК АБ – МПК антибиотика А в присутствии антибиотика Б; МПК БА – МПК антибиотика Б в присутствии антибиотика А.

В отличие от анализа «времени эрадикации» исследование синергизма с помощью Е-тестов (как и методом «шахматной доски») позволяет определить МПК в фиксированной временной точке.

Материал и методы. Определяли синергидное действие АМП *in vitro* методом градиентной диффузии с использованием кросс-теста, методика которого изложена в учебно-методическом пособии Е.Ю. Тризна [11].

Интерпретация результатов определения МПК каждого АМП и их комбинаций на чашках Петри проведена в соответствии графическим руководством Liofilchem® MIC Test Strip Reading Guide © Liofilchem®; 2015.

Решение о характере взаимодействия принято по результатам трёх независимых постановок теста.

После регистрации МПК каждого АМП в отдельности и в присутствии другого АМП рассчитан индекс фракционной подавляющей концентрации (иФПК) (*англ.* - fractional inhibitory concentration index, FICI).

иФПК рассчитывали по формуле:

$$\text{иФПК} = \frac{\text{МПК препарата А в комбинации В}}{\text{МПК препарата А}} + \frac{\text{МПК препарата В в комбинации А}}{\text{МПК препарата В}}$$

Полученные результаты иФПК интерпретировали в соответствии с рекомендациями R.L. White и соавт. [12] и Е.Ю. Тризна [11].

Таблица 1

Интерпретация результатов лекарственного взаимодействия комбинации двух АМП *in vitro* [11-12]

| Индекс | Интерпретация |
|-----------|-----------------------|
| ≤0,5 | Синергизм |
| >0,5-≤1,0 | Аддитивный эффект |
| >1,0-≤4,0 | Индифферентный эффект |
| >4,0 | Антагонизм |

Исследование проведено на 17 мульти- и экстремальнорезистентных штаммах грамотрицательных микроорганизмов: *Klebsiella pneumoniae* (n=7), *Pseudomonas aeruginosa* (n=6), *Acinetobacter baumannii* (n=4), выделенных из биоматериалов от пациентов, находившихся в стационаре НМИЦ онкологии им. Н. Н. Блохина Минздрава РФ в 2019-2024 годах.

Вышеуказанные штаммы выделены из биоматериалов, полученных от 16 онкологических больных, включая 12 взрослых (средний возраст - 60,75 лет, 35-86 лет) и 4 детей (средний возраст 8,0 лет, 3-16 лет). 12 больных - мужского пола, 14 больных - женского пола.

Взрослые пациенты находились в хирургических отделениях, где проводятся операции в области печени и поджелудочной железы (n=5) и операции по поводу опухолей головы и шеи (n=1), в отделении реанимации (n=3), в отделении рентгенохирургических методов лечения (n=2), в отделении гематологии (n=1).

Пациенты детского возраста находились в отделении детской гематологии (n=3), в отделении детей раннего возраста (n=1).

Микроорганизмы (n=17) выделены из следующих биоматериалов (n=16): желчь - 6, кровь - 3, отделяемое по дренажам - 2, бронхоальвеолярный лаваж - 2, моча - 1, мазок из раны - 1, ректальный мазок - 1. В одном случае из желчи от одного больного выделена ассоциация *K. pneumoniae* и *P. aeruginosa*.

Статистическая обработка результатов осуществлена вручную с помощью критерия Стьюдента.

Результаты. По данным исследования доля изолятов с мультирезистентностью (MDR), экстремальной резистентностью (XDR) и резистентностью к карбапенемам (Car-R) составила 52,9%, 47,1% и 88,2%, соответственно (табл. 2).

У всех карбапенем-резистентных штаммов МПК меропенема и имипенема составила >8 мкг/мл.

Во всех случаях выделения карбапенем-резистентных *K. pneumoniae* (6 изолятов) тест на продукцию карбапенемазы (*англ.* - carbapenemase inactivation method, CIM) положительный. Единственный штамм *K. pneumoniae*, чувствительный к карбапенемам, продуцировал β-лактамазы расширенного спектра действия (БЛРС).

У всех 5 штаммов карбапенем-резистентных *P. aeruginosa* продукция карбапенемазы методом CIM-теста не выявлена. По-видимому, имели место другие механизмы резистентности.

На предмет синергизма исследовано 13 различных комбинаций АМП (табл. 3).

При исследовании лекарственных взаимодействий методом кросс-теста во всех 39 случаях не зарегистрировано антагонизма.

Суммарно синергизм наблюдался в 6 случаях (15,4%), аддитивный эффект - в 9 случаях (23,1%) и индифферентный результат - в 24 случаях (61,5%). Полученные данные МПК и иФПК представлены в табл. 4.

Пример выполнения кросс-теста и обнаружения синергизма комбинации цефтазидима-авибактама и сульбактама в отношении изолята *A. baumannii* представлен на рис. 2 и 3.

Полученные результаты проанализированы в зависимости от вида микроорганизма и использованных комбинаций АМП (табл. 5). При сравнении эффектив-

Таблица 2

Абсолютное и относительное (%) количество мультирезистентных (MDR), экстремальнорезистентных (XDR) и карбапенем-резистентных (Car-R) штаммов среди исследованных изолятов

| Штаммы | Всего изолятов | MDR | XDR | Car-R |
|----------------------|----------------|-----------|-----------|------------|
| | | n (%) | n (%) | n (%) |
| <i>K. pneumoniae</i> | 7 | 5 (71,4%) | 2 (28,6%) | 6 (85,7%) |
| <i>P. aeruginosa</i> | 6 | 4 (66,7%) | 2 (33,3%) | 5 (83,3%) |
| <i>A. baumannii</i> | 4 | - | 4 (100%) | 4 (100%) |
| Всего | 17 | 9 (52,9%) | 8 (47,1%) | 15 (88,2%) |

Таблица 3

Исследованные комбинации АМП

| Микроорганизмы | Комбинация АМП | Число исследований |
|----------------------|-----------------------------------|--------------------|
| <i>K. pneumoniae</i> | Фосфомицин+имипенем | 7 |
| | Тигециклин+имипенем | 6 |
| <i>P. aeruginosa</i> | Полимиксин В+имипенем | 5 |
| | Фосфомицин+имипенем | 3 |
| | Цефтазидим-авибактам+полимиксин В | 3 |
| | Цефтазидим-авибактам+имипенем | 2 |
| <i>A. baumannii</i> | Тигециклин+сульбактам | 3 |
| | Цефтазидим-авибактам+сульбактам | 3 |
| | Тигециклин+имипенем | 2 |
| | Полимиксин В+имипенем | 2 |
| | Тигециклин+полимиксин В | 1 |
| | Полимиксин В+сульбактам | 1 |
| | Имипенем+сульбактам | 1 |
| Всего | | 39 |

ности комбинаций АМП между собой различия статистически недостоверны ($p>0,05$).

Исследование носило ретроспективный характер, поэтому сравнить полученные данные с результатами лечения больных не представляется возможным.

Обсуждение. Несмотря на обилие исследований лекарственного взаимодействия АМП *in vitro*, следует иметь в виду, что они выполнялись с помощью различных методов, чаще всего метода «шахматной доски», реже посредством анализа «времени эрадикации» и ещё реже - методом Е-тестов. Ниже обсудим данные изучения синергизма АМП *in vitro*, как без учёта метода исследования, так и выполненных методом кросс-теста отдельно.

В исследовании на штаммах *K. pneumoniae* наилучшим эффектом при изучении комбинации тигециклина и имипенема был аддитивный эффект в 33,3% случаев, в то же время комбинация фосфомицина и имипенема синергидна в 28,6% и давала аддитивный эффект в 14,3% случаев. По данным литературы, синергидное действие имипенема и тигециклина *in vitro* наблюдалось в 35-69,2% случаев [13,14]. В отличие от имипенема с тигециклином, комбинации меропенема и тигециклина проявляли синергидное действие лишь у 0-10% исследуемых изолятов [15-17].

Не изучался синергизм комбинаций с включением полимиксина, однако по данным литературы синергидный эффект при их использовании достаточно высок и составляет 30-100% при комбинации имипенема с полимиксином [14, 18], тигециклина с полимиксином - в 62,5% - 65% случаев [14, 19].

Комбинация имипенема и фосфомицина по нашим

данным синергидна в 28,6% случаев, и в 14,3% наблюдался аддитивный эффект. По данным G. Samonis и соавт. [20] данная комбинация, исследованная методом Е-тестов, синергидна в 74% случаев.

По сводным данным комбинация меропенема и фосфомицина синергидна в 20% -70%, фосфомицина с полимиксином - в 47,1% случаев, фосфомицина с тигециклином - в 30% случаев [15, 20-22].

В исследовании Е. Dobreva и соавт. [23], в котором синергизм определялся с помощью кросс-теста, как и в нашем исследовании, исследовано синергидное действие у штаммов, продуцирующих различные карбапенемазы. Показано, что у изолятов *K. pneumoniae*, продуцирующих металло-бета-лактамазы NDM, частота синергидного эффекта составляла 85,7% комбинаций меропенема и гентамицина, меропенема и рифампицина и меропенема и колистина (для каждой из них) и 71,4% для комбинации колистина и рифампицина. У штаммов клебсиелл, вырабатывающих карбапенемазы КРС, синергизм наблюдался в 80% случаев при комбинации меропенема и гентамицина и 100% случаев при комбинации колистина и рифампицина [23].

В нашем исследовании 85,7% штаммов *K. pneumoniae* продуцировали карбапенемазы по данным СИМ-теста, однако тип карбапенемаз не определён и изучение синергизма комбинаций при продукции различных карбапенемаз не проводилось.

Что касается исследований синергизма комбинаций АМП для изолятов *P. aeruginosa*, то по нашим данным синергидный эффект отмечен только в 1 случае (1/3 изолятов, 33,3%) при исследовании комбинации фосфомицина и имипенема, при этом в остальных 2 случа-

Таблица 4

МПК и результаты расчёта иФПК для исследованных штаммов *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*

| Штаммы | АМП (А/В) | МПК (мкг/мл) | | иФПК | Результат |
|--------------------------------|--------------|----------------------|----------------|-------|---------------|
| | | По отдельности (А/В) | Вместе (АВ/ВА) | | |
| <i>Acinetobacter baumannii</i> | | | | | |
| № 9565 | Цеф-ави/Суль | 48/64 | 8/16 | 0,42 | Синергизм |
| № 9565 | Ими/Суль | 32/32 | 16/24 | 1,25 | Индиферентный |
| № 74734 | Тиге/Поли | 0,75/1,5 | 0,75/1,5 | 2,0 | Индиферентный |
| № 74734 | Тиге/Суль | 0,5/48 | 0,19/8 | 0,55 | Аддитивный |
| № 74734 | Поли/Суль | 1,5/24 | 0,75/12 | 1,0 | Аддитивный |
| № 30000 | Тиге/Ими | 0,38/32 | 0,38/32 | 2,0 | Индиферентный |
| № 30000 | Цеф-ави/Суль | 256/256 | 48/48 | 0,375 | Синергизм |
| № 30000 | Поли/Ими | 1/32 | 1/32 | 2,0 | Индиферентный |
| № 30000 | Тиге/Суль | 0,38/256 | 0,19/48 | 0,69 | Аддитивный |
| № 33826 | Тиге/Ими | 0,38/32 | 0,38/32 | 2,0 | Индиферентный |
| № 33826 | Цеф-ави/Суль | 256/32 | 32/12 | 0,5 | Синергизм |
| № 33826 | Поли/Ими | 1/32 | 1/32 | 2,0 | Индиферентный |
| № 33826 | Тиге/Суль | 0,38/32 | 0,19/24 | 1,25 | Индиферентный |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | | | | | |
| № 1792 | Фосфо/Ими | 128/32 | 64/16 | 1,0 | Аддитивный |
| № 1792 | Поли/Ими | 1,5/32 | 1,5/32 | 2,0 | Индиферентный |
| № 71704 | Поли/Ими | 1,5/2,0 | 1,5/2,0 | 2,0 | Индиферентный |
| № 71704 | Цеф-ави/Поли | 1,0/1,5 | 1,0/1,5 | 2,0 | Индиферентный |
| № 74330 | Поли/Ими | 1/12 | 1/4 | 1,33 | Индиферентный |
| № 74330 | Цеф-ави/Поли | 1,5/1,5 | 1,5/1,5 | 1,33 | Индиферентный |
| № 64555 | Цеф-ави/Поли | 256/2,0 | 256/2,0 | 2,0 | Индиферентный |
| № 34065 | Фосфо/Ими | 256/32 | 96/8 | 0,625 | Аддитивный |
| № 34065 | Поли/Ими | 1,0/32 | 1,0/32 | 2,0 | Индиферентный |
| № 34065 | Цеф-ави/Ими | 3,0/32 | 2,0/16 | 1,17 | Индиферентный |
| № 30744 | Фосфо/Ими | 1024/32 | 96/6 | 0,28 | Синергизм |
| № 30744 | Поли/Ими | 1,5/32 | 1,5/32 | 2,0 | Индиферентный |
| № 30744 | Цеф-ави/Ими | 2,0/32 | 1,0/12 | 0,875 | Аддитивный |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> | | | | | |
| № 23553 | Тиге/Ими | 2,0/16 | 1,5/12 | 1,5 | Индиферентный |
| № 23553 | Фосфо/Ими | 1024/16 | 256/8 | 0,75 | Аддитивный |
| № 65629 | Фосфо/Ими | 32/32 | 32/32 | 2,0 | Индиферентный |
| № 34065 | Фосфо/Ими | 1024/32 | 1024/32 | 2,0 | Индиферентный |
| № 34065 | Тиге/Ими | 1,0/32 | 0,75/24 | 1,5 | Индиферентный |
| № 29564 | Фосфо/Ими | 1024/32 | 96/12 | 0,47 | Синергизм |
| № 29564 | Тиге/Ими | 0,38/32 | 0,19/16 | 1,0 | Аддитивный |
| № 33831 | Фосфо/Ими | 1024/32 | 1024/32 | 2,0 | Индиферентный |
| № 33831 | Тиге/Ими | 0,75/32 | 0,50/12 | 1,05 | Индиферентный |
| № 29854 | Фосфо/Ими | 1024/32 | 1024/32 | 2,0 | Индиферентный |
| № 29854 | Тиге/Ими | 0,38/32 | 0,38/12 | 1,375 | Индиферентный |
| № 29957 | Фосфо/Ими | 64/32 | 12/6 | 0,375 | Синергизм |
| № 29957 | Тиге/Ими | 0,25/32 | 0,19/6 | 0,95 | Аддитивный |

Примечание. Цеф-ави – цефтазидим-авибактам; Суль – сульбактам; Ими – имипенем; Тиге – тигециклин; Поли – полимиксин; Фосфо – фосфомицин.

ях (66,7%) наблюдался аддитивный эффект.

По данным литературы синергидное действие при использовании данной комбинации при исследовании методом «шахматной доски» колеблется в пределах от 46,7% до 57% [20, 24, 25].

Прочие исследованные в отношении *P. aeruginosa* комбинации АМП (полмиксин+ имипенем, цефтазидим-авибактам + имипенем, цефтазидим-авибактам + полимиксин) не обладают синергизмом. Предполагаем, что количество изолятов, на которых проведено исследование, недостаточно.

Не найдено данных литературы по исследованию синергизма комбинации полимиксина с имипенемом

для изолятов *P. aeruginosa*. Комбинации полимиксина с дорипенемом и имипенема с колистином синергидны в 3,3% случаев каждая [26]. Комбинация меропенема с колистином синергидна в 43% случаев [27].

В исследовании при комбинациях цефтазидима-авибактама с имипенемом и цефтазидима-авибактама с полимиксином синергидного действия не отмечено. У 1 из 2 штаммов *P. aeruginosa*, исследованных на предмет синергизма цефтазидима-авибактама и имипенема, отмечен аддитивный эффект.

Найдены единичные исследования синергизма цефтазидима-авибактама с другими АМП в отношении изолятов *P. aeruginosa*. В работе М. Palombo и соавт.

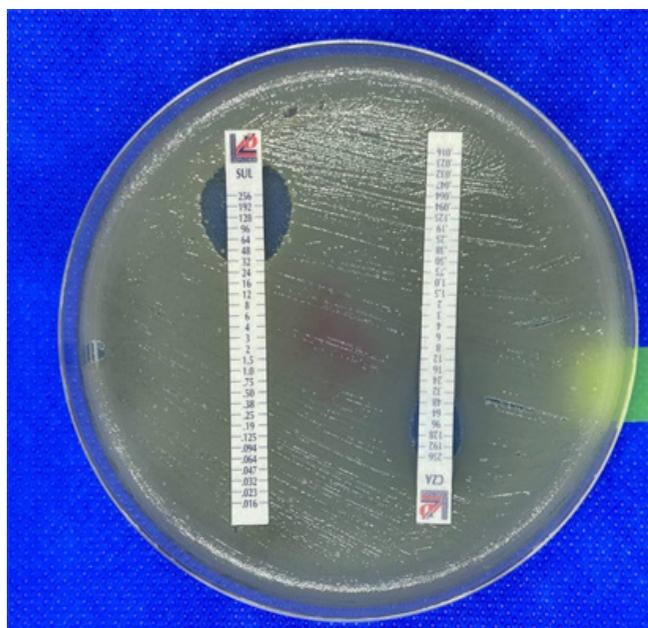


Рис. 2. Определение МПК антибиотиков (цефтазида-авибактама и сульбактама) методом Е-тестов на чашке, инокулированной *A. baumannii*.

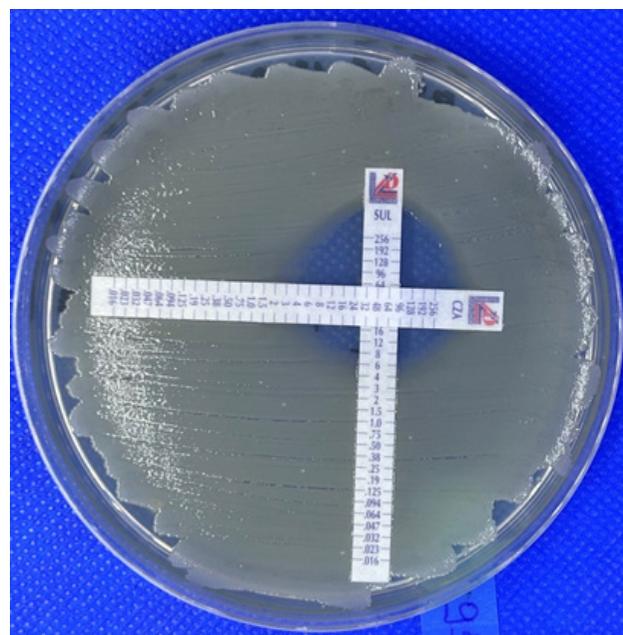


Рис.3. Синергидный эффект цефтазида-авибактама и сульбактама по данным кросс-теста в отношении штамма *A. baumannii*.

Таблица 5

Лекарственное взаимодействие комбинаций АМП в отношении штаммов *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae* и *Pseudomonas aeruginosa*

| Комбинация | Число исследований | Результат | | |
|---------------------------------------|--------------------|--------------|--------------|---------------|
| | | Синергизм | Аддитивный | Индиферентный |
| <i>Acinetobacter baumannii</i> | | | | |
| Имипенем+сульбактам | 1 | - | - | 1/1 (100%) |
| Полимиксин+сульбактам | 1 | - | 1/1 (100%) | |
| Цеф-ави+сульбактам | 3 | 3/3 (100%) | - | - |
| Тигециклин+сульбактам | 3 | - | 2/3 (66,7%) | 1/3 (33,3%) |
| Тигециклин+полимиксин | 1 | - | - | 1/1 (100%) |
| Тигециклин+имипенем | 2 | - | - | 2/2 (100%) |
| Полимиксин+имипенем | 2 | - | - | 2/2 (100%) |
| Всего | 13 | 3/13 (23,1%) | 3/13 (23,1%) | 7/13 (53,8%) |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> | | | | |
| Тигециклин+ имипенем | 6 | - | 2/6 (33,3%) | 4/6 (66,7%) |
| Фосфомицин + имипенем | 7 | 2/7 (28,6%) | 1/7 (14,3%) | 4/7 (57,1%) |
| Всего | 13 | 2/13 (15,4%) | 3/13 (23,1%) | 8/13 (61,5%) |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | | | | |
| Фосфомицин + имипенем | 3 | 1/3 (33,3%) | 2/3 (66,7%) | - |
| Полимиксин + имипенем | 5 | - | - | 5/5 (100%) |
| Цеф-ави + имипенем | 2 | - | 1/2 (50,0%) | 1/2 (50,0%) |
| Цеф-ави + полимиксин | 3 | - | - | 3/3 (100%) |
| Всего | 13 | 1/13 (7,7%) | 3/13 (23,1%) | 9/13 (69,2%) |

Примечание. Цеф-ави – Цефтазидим-авибактам.

[18] при исследовании методом кросс-теста у 1 из 2-х изолятов выявлен синергизм цефтазида-авибактама и цефидерокола, у 1 из 2-х изолятов при использовании комбинации цефтазида-авибактама и сульбактама отмечался аддитивный эффект.

Согласно полученным данным, наилучшей комбинацией в отношении *A. baumannii* была комбинация цефтазида-авибактама и сульбактама, при которой наблюдалось синергидное действие в 3/3 (100%) случаев. При комбинации тигециклина и сульбактама на-

блюдался аддитивный эффект в 66,7% случаев.

Цефтазидим-авибактам, в отличие от сульбактама, не активен в отношении *A. baumannii*. Соответственно, подобная комбинация не применяется *in vivo*. Появились работы, свидетельствующие об *in vitro* синергизме комбинации авибактама и сульбактама за счёт высвобождения активности сульбактама, в результате чего подобная комбинация кажется перспективной [29].

Прочие исследованные комбинации АМП (имипенем+сульбактам, полимиксин+сульбактам,

тигцециклин+полимиксин, тигцециклин+имипенем, полимиксин+имипенем) не обладают синергизмом.

По данным литературы, комбинации имипенема с сульбактамом и сульбактам-содержащими препаратами (ампициллин-сульбактам, цефоперазон-сульбактам) синергидны в 45-88,2% случаев [30, 31]. Синергидное действие полимиксина и сульбактама отмечено в 30-82,4% случаев [32-34].

Тигцециклин-содержащие комбинации в отношении штаммов *A. baumannii* синергидны в 0%-73,9% (тигцециклин-сульбактам, [35, 36]); в 10%-41,2% (тигцециклин и полимиксин, [32, 33]); 0%-82% (тигцециклин +имипенем, [32, 37, 38]), комбинация имипенема и полимиксина синергидна в 38,2%-50% случаев [31, 33].

Возможно, отсутствие синергидного эффекта в отношении большинства комбинаций, исследованных на изолятах *A. baumannii*, связано с малым количеством штаммов.

При наличии достаточно большого числа публикаций, посвящённых синергизму *in vitro*, количества работ, посвящённых той или иной комбинации, мало, поэтому все они имеют значение, независимо от времени опубликования.

Мало работ, в которых бы оценивался клинический эффект комбинаций АМП в сочетании с данными о синергизме этих комбинаций *in vitro*. Выполнение подобных исследований важно, так как для назначения правильной комбинации АМП пациенту, необходимо экспериментальное обоснование её синергидного действия *in vitro* [11, 39, 40].

Значительной проблемой является определение наилучшего метода исследования синергизма, поскольку результаты, полученные разными методами, часто не сопоставимы между собой.

Исследования синергизма *in vitro* не применяются рутинно в лабораториях, поскольку они время- и трудозатратны. Суммарная длительность исследования методом кросс-теста с определением ИФПК максимально составляет 48 часов от момента постановки Е-тестов, при этом весь период тестирования занимает до 72 часов после получения чистой культуры и соответственно не менее 96 часов после поступления биоматериала в лабораторию.

К недостаткам кросс-тестирования лекарственного взаимодействия относится существенное влияние человеческого фактора при постановке теста, поскольку малейшие погрешности влияют на результат, что способствует плохой воспроизводимости результатов.

Существует запрос клиницистов на предмет оценки возможной эффективности комбинаций АМП *in vitro* с целью выбора наиболее эффективной, синергидной комбинации, позволяющей получить эффект лечения при меньшей токсичности и меньшем риске селекции резистентных штаммов микроорганизмов. В большинстве лабораторий страны в настоящее время Е-тесты (в виду их высокой стоимости) малодоступны, поэтому выполнение исследований синергизма с их помощью в рутинной практике («у постели больного») невыполнимо. Оно возможно лишь в рамках исследований с целью сбора данных и дальнейшего сопоставления с результатами лечения.

ЛИТЕРАТУРА (П.П. 1, 2, 7-9, 12-33, 35-38 СМ. REFERENCES)

- Багирова Н.С., Петухова И.Н., Григорьевская З.В., Дмитриева Н.В., Терещенко И.В. Проблемы устойчивости к противомикробным препаратам в онкологическом стационаре: диагностика продукции карбапенемаз, генотипы нозокомиальных штаммов *A. baumannii*, *P. aeruginosa* и *K. pneumoniae*. *Злокачественные опухоли*. 2020; 10(3s1): 39-48. DOI: 10.18027/2224-5057-2020-10-3s1-39-48.
- Петухова И.Н., Григорьевская З.В., Сытов А.В., Багирова Н.С., Агинова В.В., Кононец П.В. Сепсис, септический шок. Возбудитель инфекции: есть ли разница в подходах? Как быть с карбапенем-резистентными возбудителями? *Злокачественные опухоли*. 2022; 12(3s1): 76-87. DOI: 10.18027/2224-5057-2022-12-3s1-76-87.
- Яковлев С.В., Суворова М.П., Быков А.О. Инфекции, вызванные карбапенеморезистентными энтеробактериями: эпидемиология, клиническое значение и возможности оптимизации антибактериальной терапии. *Антибиотики и химиотерапия*. 2020; 65 (5-6): 41-69. DOI: 10.37489/0235-2990-2020-65-5-6-41-69.
- Белобородов В.Б., Голощапов О.В., Гусаров В.Г., Дехнич А.В., Замятин М.Н., Зубарева Н.А. и др. Диагностика и антимикробная терапия инфекций, вызванных полирезистентными штаммами микроорганизмов (обновление 2022). Методические рекомендации Российской некоммерческой общественной организации «Ассоциация анестезиологов-реаниматологов», Межрегиональной общественной организации «Альянс клинических химиотерапевтов и микробиологов», Межрегиональной ассоциации по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии (МАК-МАХ), общественной организации «Российский Сепсис Форум». *Вестник анестезиологии и реаниматологии*. 2022; 19(2): 84-114. DOI: 10.21292-5658-2022-19-2-84-114.
- Артюх Т.В. Изучение синергии антибактериальных препаратов с использованием метода «шахматной доски» и анализа «времени уничтожения». *Вест. Нац. Акад. Наук Беларуси*. Сер. Бял.наук. 2022; 67(3): 332-42. DOI: 10.29235/1029-8940-2022-67-3-332-342.
- Тризна Е.Ю., Яруллина Д.Р., Каюмов А.Р. Практикум по генетическим основам устойчивости к антибактериальным препаратам. Учебно-методическое пособие. Казань: Казанский федеральный университет; 2020.
- Тапальский Д.В. Экстремально-антибиотикорезистентные грамотрицательные бактерии: распространение и стратегии антимикробного воздействия. Дисс. ...д-ра мед. наук. Минск; 2019.
- Чеботарь И.В., Бочарова Ю.А., Гурьев А.С., Маянский Н.А. Стратегии выживания бактерий в условиях контакта с антибиотиками. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2020; 65 (2): 116-21. DOI: 10.18821/0869-2084-2020-65-2-116-121.
- Тапальский Д.В. Микробная эффективность комбинаций из двух карбапенемов в отношении антибиотикорезистентных штаммов *Klebsiella pneumoniae*. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2020; 66 (5): 304-9. DOI: 10.51620/0869-2084-2021-66-5-304-309.

REFERENCES

- Andria N., Henig O., Kotler O., Domchenko A., Oren I., Zuckerman T., et al. Mortality burden related to infection with carbapenem-resistant Gram-negative bacteria among haematological cancer patients: a retrospective cohort study. *J. Antimicrob. Chemother.* 2015; 70: 3146-53. DOI: 10/1093/jac/dkv218.
- Weiner-Lastinger J.M., Abner S., Edwards J.R., Kallen J.R., Karlsson M., Magill S.S. et al. Antimicrobial-resistant pathogens associated with adult healthcare-associated infections: summary of data reported to the National Health Safety Network, 2015-2017. *Infect. Control. Hosp. Epidemiol.* 2020; 41: 1-18. DOI: 10.1017/ice.2019.296.
- Bagirova N.S., Petukhova I.N., Grigorievskaya Z.V., Dmitrieva N.V., Tereshchenko I.V. Problems of antimicrobial resistance in an oncology hospital: diagnostics of carbapenemase production, genotypes of nosocomial strains of *A. baumannii*, *P. aeruginosa* and *K. pneumoniae*. *Zlokachestvennye opukholi*. 2020. 10 (3s1): 39-48. DOI: 10.18027/2224-5057-2020-10-3s1-39-48. (in Russian)
- Petukhova I.N., Grigoryevskaya Z.V., Sytov A.V., Bagirova N.S., Aginova V.V., Kononets P.V. Sepsis, septic shock. Infectious agent: is there a difference in approaches? What to do with carbapenem-resistant pathogens? *Zlokachestvennye opukholi*. 2022; 12 (3s1): 76-87. DOI: 10.18027/2224-5057-2022-12-3s1-76-87. (in Russian)

5. Yakovlev S.V., Suvorova M.P., Bykov A.O. Infections caused by carbapenem-resistant Enterobacteriaceae: epidemiology, clinical significance and opportunities for optimizing antibacterial therapy. *Antibiotiki i khimioterapiya*. 2020; 65(5-6): 41-69. DOI: 10.37489/0235-2990-2020-65-5-6-41-69. (in Russian)
6. Beloborodov V.B., Goloshchapov O.V., Gusarov V.G., Dekhnich A.V., Zamyatin M.N., Zubareva N.A. et al. Diagnosis and antimicrobial therapy of infections caused by multidrug-resistant strains microorganisms (update 2022). Methodological recommendations of the Russian non-profit public organization "Association of Anesthesiologists-Resuscitators", Interregional public organization "Alliance of Clinical Chemotherapists and Microbiologists", Interregional Association for Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy (MACMAC), public organization "Russian Sepsis Forum". *Vestnik anesteziologii i reanimatologii*. 2022; 19(2): 84-114. (in Russian)
7. Paul M., Carrara E., Retamar P., Tangden T., Bitterman T., Bonomo R.A., et al. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID) guidelines for the treatment of infections caused by multidrug-resistant Gram-negative bacilli (endorsed by European society of intensive care medicine). *Clin. Microbiol. Infection*. 2022; 28: 521-47. DOI: 10.1016/j.cmi.2021.11.025.
8. Tamma P.D., Aitken S.L., Bonomo R.A., Mathers A.J., van Duin D., Clancy C.J. Infectious Diseases Society of America Guidance on the Treatment of Extended-Spectrum β -Lactamase Producing Enterobacterales (ESBL-E), Carbapenem-Resistant Enterobacterales (CRE), and *Pseudomonas aeruginosa* with Difficult-to-Treat Resistance. *CID*. 2021; 72: e169-83. DOI: 10.1093/cid/ciaa1478.
9. Tamma P.D., Aitken S.L., Bonomo R.A., Mathers A.J., van Duin D., Clancy C.J. Infectious Diseases Society of America Guidance on the Treatment of AmpC β -Lactamase-Producing Enterobacterales, Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii*, and *Stenotrophomonas maltophilia* Infections. *CID*. 2022; 74: 2089-2114. DOI: 10.1093/cid/ciab1013.
10. Artyukh T.V. Studying the synergy of antibacterial drugs using the "checkerboard" method and "kill time" analysis. *Vesti Natsyynal'noi akademii nauk Belarusi. Seryya biolagichnykh nauk*. 2022; 67 (3): 332-42. DOI: 10.29235/1029-8940-2022-67-3-332-342. (in Russian)
11. Trizna E.Yu., Yarullina D.R., Kayumov A.R. Workshop on the genetic basis of resistance to antibacterial drugs. Educational and methodological manual [Praktikum po geneticheskim osnovam ustoychivosti k antibakterial'nykh preparatam. Uchebno-metodicheskoe posobie]. Kazan': Kazanskiy federal'nyi universitet; 2020. (in Russian)
12. White R.L., Burgess D.S., Manduru M., Bosso J.A. Comparison of three different *in vitro* methods of detecting synergy: Time-kill, Checkerboard and E-test. *AAC*. 1996; 40 (8): 1914-8.
13. Yim H., Woo H., Song W., Park M.-J., Kim H.S., Lee K.M. et al. Time-kill synergy tests of tigecycline combined with imipenem, amikacin, and ciprofloxacin against clinical isolates of multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli*. *Ann. Clin. Lab. Science*. 2011; 41 (1): 39-43.
14. Sun L., Sun J., Ding S. *In vitro* research of combination therapy for multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infections. *J. Intern. Med. Res*. 2022; 50(6):1-8. DOI: 10.1177/03000605221106705.
15. Papoutsaki V., Galani I., Papadimitriou E., Karantani I., Karaiskos I., Giamarellou H. Evaluation of *in vitro* methods for testing tigecycline combinations against carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* isolates. *J. Global. Antimicrob. Resistance*. 2020; 20: 98-104. DOI: 10.1016/j.jgar.2019.07.028.
16. Liu E., Jia P., Li X., Zhou M., Kudinha T., Wu T. et al. *In vitro* and *in vivo* effect of antimicrobial agent combinations against carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* with different resistance mechanisms in China. *Infection and Drug Resistance*. 2021; 14: 917-28. DOI: 10.2147/IDR.S292431.
17. Zhou C., Wang Q., Jin L., Wang R., Yin Y., Sun S. et al. *In vitro* synergistic activity of antimicrobial combinations against blaKPC and blaNDM-producing Enterobacterales with blaIMP or mcr genes. *Front. Microbiol.* 2020; 11: 533209. DOI: 10.3389/fmicb.2020.533209.
18. Elemam A., Rahimian J., Doymaz M. *In vitro* evaluation of antibiotic synergy for polymyxin B-resistant carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*. *J. Clin. Microbiol.* 2010; 48 (10): 3558-62. DOI: 10.1128/JCM.01106-10
19. Kuai J., Zhang Y., Lu B., Chen H., Zhang Y., Li H. et al. *In vitro* synergistic activity of ceftazidime-avibactam in combination with aztreonam or meropenem against clinical enterobacterales producing bla_{KPC} or bla_{NDM}. *Infection and Drug Resistance*. 2023; 16: 3171-82. DOI: 10.2147/IDR.S408228.
20. Samonis G., Maraki S., Karageorgopoulos D.E., Voloumanou E.K., Falagas M.E. Synergy of fosfomycin with carbapenems, colistin, netilmicin, and tigecycline against multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, and *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis*. 2012; 31: 695-701. DOI: 10.1007/s10096-011-1360-5.
21. Baktavatchalam Y.D., Shankar A., Sethuvel D. P.M., Asokan K., Kanthan K., Veeraghavan B. Synergistic activity of fosfomycin-meropenem and fosfomycin-colistin against carbapenem resistant *Klebsiella pneumoniae*: an *in vitro* evidence. *Future. Sci. OA*. 2020; 6(4): ESO461. DOI: 10.2144/fsoa-2019-0074.
22. Ribeiro A.C.d.S., Chikhani Y.C.d.S.A., Valiatti T.B., Valencio A., Kurihara M.N.L., Santos F.F. et al. *In vitro* and *in vivo* synergism of fosfomycin in combination with meropenem or polymyxin B against KPC-2-producing *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates. *Antibiotics*. 2023; 12: 237. DOI: 10.3390/antibiotics12020237.
23. Dobrova E., Ivanov I., Donchev D., Ivanova K., Hristova R., Dobrinov V. et al. *In vitro* investigation of antibiotic combinations against multi- and extensively drug-resistant *Klebsiella pneumoniae*. *Open Access Maced. J. Med. Sci.* 2022; 10 (B): 1308-14. DOI: 10.3889/oamjms.2022.8934.
24. Memar M.Y., Adibkia K., Farajnia S., Kafil H.S., Khalili Y., Azargun R., Ghotaslou R. *In vitro* effect of imipenem, fosfomycin, colistin, and gentamicin combination against carbapenem-resistant and biofilm-forming *Pseudomonas aeruginosa* isolated from burn patients. *Iranian. J. Pharmaceut. Res*. 2021; 20(2): 286-96. DOI: 10.22037/ijpr.2020.111824.13380.
25. Lima D.A.F.d.S., Passeri do Nascimento M.M., Vitali L.H., Martinez R. *In vitro* activity of antimicrobial combinations against multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 2013; 46(3): 299-303. DOI: 10.1590/0037-9682-0012-2013.
26. Sanal L., Sen S., Cesur S., Yilmaz N. *In vitro* synergistic efficacy of various antibiotic combinations against multi-drug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolates obtained from patients in intensive care units. *Acta Medica Mediterranea*. 2016; 32: 1041. DOI: 10.19193/0393-6384_2016_4_129.
27. Leite G.C., Neto L.V.P., Gaudereto J.J., de Maio Carrilho C.M.D., Rossi F., Levin A.S., Costa S.F. Effect of antibiotics combination and comparison of methods for detection of synergism in multiresistant gram-negative bacteria. *J. Infect. Dis. Ther.* 2015; 3 (2):1000207. DOI: 10.4172/2332-0877.1000207.
28. Palombo M., Bovo F., Amadesi S., Gaibani P. Synergistic activity of cefiderocol in combination with piperacillin-tazobactam, fosfomycin, ampicillin-sulbactam, imipenem-relebactam and ceftazidime-avibactam against carbapenem-resistant gram-negative bacteria. *Antibiotics*. 2023; 12: 858. DOI: 10.3390/antibiotics12050858.
29. Pasteran F., Cedano J., Baez M., Albornoz E., Rapoport M., Osteria J. et al. A new twist: the combination of sulbactam/avibactam enhances sulbactam activity against carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* (CRAB) isolates. *Antibiotics*. 2021. 10: 577. DOI: 10.3390/antibiotics10050577.
30. Dagi H.T., Kus H., Arslan U., Tuncer I. *In vitro* synergistic activity of sulbactam in combination with imipenem, meropenem and cefoperazone against carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates. *Mikrobiyol. Bul.* 2014; 48(2): 311-5. DOI: 10.5578/mb.7104.
31. Ozseven A.G., Cetin E.S., Aridogan B.C., Ozseven L. *In vitro* synergistic activity of carbapenems in combination with other antimicrobial agents against multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *African. J. Microbiol. Res*. 2012; 6(12): 2985-92. DOI: 10.5897/AJMR12.038.
32. Qu J., Yu R., Wang Q., Feng C., Lv X. Synergistic antibacterial activity of combined antimicrobials and the clinical outcome of patients with carbapenemase-producing *Acinetobacter baumannii* infection. *Frontiers in Microbiology*. 2020; 11: 541423. DOI: 10.3389/fmicb.2020.541423.
33. Zhang H., Zhu Y., Yang N., Kong Q., Zheng Y. Lv N. et al. *In vitro* and *in vivo* activity of combinations of polymyxin B with other antimicrobials against carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Infection and Drug Resistance*. 2021; 14: 4657-66. DOI: 10.2147/IDR.S334200.

34. Tapalsky D.V. Extremely antibiotic-resistant gram-negative bacteria: distribution and antimicrobial strategies. Diss.... Minsk; 2019. (in Russian)
35. Yavas S., Yetkin M.A., Kayaaslan B., Bastug A., Aslaner H., But A. et al Investigating the *in vitro* synergistic activities of several antibiotic combinations against carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates. *Turk. J. Med. Sci.* 2016; 46: 892-96. DOI: 10.3906/sag-1408-14.
36. Temocin F., Erdinc F.S., Tulek N., Demirelli M., Ertem G., Kinikli S., Koksal E. Synergistic effects of sulbactam in multi-drug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Brazil J. Microbiol.* 2015; 46 (4): 1119-24. DOI: 10.1590/S1517-838246420140101.
37. Zia A., Saleem S., Imran M., Arshad M.U., Ghazal A. In vitro efficacy of imipenem with tigecycline and amikacin against extensively drug resistant *Acinetobacter baumannii*. *PJMHS.* 2019;13 (1): 60-3.
38. Ranu Soni, Varsha Gupta, Satinder Gombar, Jagdish Chander, Priya Datta. Comparative evaluation of *in vitro* synergy testing methods in carbapenem-resistant *Acinetobacter* species. *J. Microbiol. Infect. Dis.* 2019; 9 (1): 23-33. DOI: 10.5799/jmid.537162.
39. Chebotar' I.V., Bocharova Yu.A., Gur'ev A.S., Mayansky N.A. Bacteria survival strategies in contact with antibiotics. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika.* 2020; 65 (2): 116-21. DOI: 10.18821/0869-2084-2020-65-2-116-121. (in Russian)
40. Tapalsky D.V., Timoshkova E.V., Petrovskaya T.A., Osipkina O.V., Karpov I.A. Microbiological efficiency of the combinations of two carbapenems against antibiotic resistant *Klebsiella pneumoniae* strains. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika.* 2021; 66 (5): 304-9. DOI: 10.51620/0869-2084-2021-66-5-304-309. (in Russian)

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2024

Ильин И.И.^{1,2}, Марданлы С.Г.^{1,2}, Марданлы А.Г.³, Ротанов С.В.⁴



ТЕХНОЛОГИЯ ПРЯМОЙ ПЦР ПРИ ВЫЯВЛЕНИИ *GARDNERELLA VAGINALIS*

¹АО «ЭКОлаб», 142530, Электрогорск, Россия;

²ГОУ ВО МО «Государственный гуманитарно-технологический университет» (ГОУ ВО МО «ГГТУ»), 142611, Орехово-Зуево, Россия;

³Нахчыванский государственный университет (НГУ), AZ7012, Нахчывань, Азербайджанская республика;

⁴ФБУН «ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора (ФБУН «ГНЦ ПМБ» Роспотребнадзора), 142279, Серпухов, Оболенск, Россия

Введение. Для ускоренного получения качественного результата при выявлении ДНК *Gardnerella vaginalis* разработана новая технология постановки реакции амплификации – прямая ПЦР (direct polymerase chain reaction), при которой исключается предварительный этап экстракции и очистки ДНК возбудителя – образец непосредственно добавляется к реакционной ПЦР-смеси.

Цель исследования - апробация инновационной технологии прямой ПЦР для выявления ДНК *Gardnerella vaginalis* при клинической лабораторной диагностике или быстрого получения ампликонов с целью последующего исследования нуклеотидных последовательностей.

Материал и методы. Использованы информационные базы в Интернете, содержащие сведения о генах ДНК *Gardnerella vaginalis*; стандартные реагенты и 120 клинических образцов, содержащих *Gardnerella vaginalis*. Анализ нуклеотидных последовательностей проведён с помощью AlignX; специфичность олигонуклеотидов оценена с помощью BLAST.

Результаты и обсуждение. Эффективность разработанных условий постановки прямой ПЦР сопоставлена с результатами исследования в ПЦР предварительно выделенной и очищенной ДНК (с новыми посчитанными олигонуклеотидами и набором реагентов сравнения «РеалБест ПЦР-12 ИППП»). Выявляемость ДНК *Gardnerella vaginalis* при исследовании 120 клинических образцов составила в прямой ДНК - 96,7%, в классической ПЦР с предварительно выделенной и очищенной ДНК с новыми разработанными условиями постановки и с набором реагентов сравнения – по 98,3%. **Заключение.** Новая ускоренная технология прямой ПЦР успешно апробирована, она может быть рекомендована для качественной диагностики ДНК *Gardnerella vaginalis*. Условия применения новой технологии будут совершенствоваться и будут апробированы на возбудителях иных ИППП.

Ключевые слова: ПЦР; прямая ПЦР; выделение нуклеиновых кислот; ИППП; *Gardnerella vaginalis*

Для цитирования: Ильин И.И., Марданлы С.Г., Марданлы А.Г., Ротанов С.В. Технология прямой ПЦР при выявлении *Gardnerella vaginalis*. Клиническая лабораторная диагностика. 2024; 69 (12): 686-692.

DOI: https://doi.org/10.51620/0869-2084-2024-69-12-686-692

EDN: CIKDON

Для корреспонденции: Ильин Илья Игоревич, микробиолог научно-производственного отделения ПЦР АО «ЭКОлаб», аспирант кафедры фармакологии и фармацевтических дисциплин ГГТУ; e-mail: ekolab-ilin@mail.ru

Финансирование. Исследование финансировало АО «ЭКОлаб».

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 17.10.2024

Принята к печати 23.10.2024

Опубликовано 20.11.2024

Ilyin I.I.^{1,2}, Mardanly S.G.^{1,2}, Mardanly A.G.³, Rotanov S.V.⁴

DIRECT PCR TECHNOLOGY FOR THE DETECTION OF *GARDNERELLA VAGINALIS*

¹JSC «EKOLab», 142530, Elektrogorsk, Russia;

²State Educational Institution of Higher Education of the Moscow Region «State Humanitarian University of Technology» (GGTU), 142611, Orekhovo-Zuyevo, Russia;

³Nakhchivan State University (NSU), AZ7012, Nakhchivan, Azerbaijan Republic;

⁴Federal budgetary institution of Science «State Scientific Centre of Applied Microbiology and Biotechnology of Rospotrebnadzor (FSBI «SSC PMB» of Rospotrebnadzor), 142279, Serpukhov, Obolensk, Russia

Introduction. To accelerate the production of high-quality results in the detection of *Gardnerella vaginalis* DNA, a new technology for setting up an amplification reaction was developed – direct PCR (direct polymerase chain reaction), which eliminates the preliminary stage of extraction and purification of the DNA of the pathogen - the sample is directly added to the reaction PCR mixture.

Purpose of the study. Testing of innovative direct PCR technology for the detection of *Gardnerella vaginalis* DNA in clinical laboratory diagnostics or rapid production of amplicons for subsequent study of nucleotide sequences.

Material and methods. Information bases on the Internet containing information about the genetic composition of *Gardnerella vaginalis* DNA were used; standard reagents and 120 clinical samples containing *Gardnerella vaginalis*. The analysis of nucleotide sequences was performed using AlignX; the specificity of oligonucleotides was evaluated using BLAST. **Discussions and results.** The effectiveness of the developed conditions for direct PCR was compared with the results of a PCR study of pre-isolated and purified DNA (with newly counted oligonucleotides and a set of «RealBest PCR-12 STI» comparison reagents). The detectability of

Gardnerella vaginalis DNA in the study of 120 clinical samples was 96.7% in direct DNA and 98.3% in classical PCR with pre-isolated and purified DNA with newly developed staging conditions and with a set of comparison reagents.

Conclusion. The new direct PCR technique has been successfully tested and is suitable for qualitative diagnosis of the presence of *Gardnerella vaginalis* DNA. The technology will be improved and tested on other STIs.

Key words: PCR; direct PCR; nucleic acid isolation; STI; *Gardnerella vaginalis*

For citation: Ilyin I.I., Mardanly S.G., Mardanly A.G., Rotanov S.V. Direct PCR technology for the detection of *Gardnerella vaginalis*. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2024; 69 (12): 686-692 (in Russ.).

DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2-84-2024-69-12-686-692>

EDN: CIKDON

For correspondence: Ilyin Ilya Igorevich, microbiologist of the scientific and production department of PCR of JSC «EKOLab», postgraduate student of the Department of Pharmacology and Pharmaceutical Disciplines State educational institution of higher professional education in the Moscow Region «State University of Humanities and Technology» (GGTU); e-mail: ekolab-ilin@mail.ru

Information about authors:

Ilyin I.I., <https://orcid.org/0009-0003-0316-7260>;

Mardanly S.G., <https://orcid.org/0000-0003-3650-2363>;

Mardanly A.G., <https://orcid.org/0009-0000-0754-0956>;

Rotanov S.V., <https://orcid.org/0000-0002-3222-1401>.

Funding. The study was funded by JSC «EKOLab».

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

Received 17.10.2024

Accepted 23.10.2024

Published 20.11.2024

Введение. Дисбиоз влагалища относят к невоспалительным заболеваниям женской репродуктивной системы, поскольку при этой патологии часто могут не определяться такие симптомы как боли, воспаление и отёк; происходит изменение видового и количественного состава микрофлоры: значительное уменьшение количества *Lactobacillus* spp., потребляющих гликоген с образованием молочной кислоты, перекиси водорода и вырабатывающих антимикробные пептиды, и тесно связанное с этим размножение условно-патогенной анаэробной микрофлоры, в составе которой преобладают: *Gardnerella vaginalis*, *Bacteroides* spp., *Prevotella* spp., *Atopobium vaginae*. Клиницисты в подобных случаях ставят диагноз бактериального вагиноза - БВ (по МКБ-10 – № 89 – «Другие невоспалительные болезни влагалища»). Возникновению указанной патологии может способствовать нарушение менструального цикла или изменение уровня циркуляции половых гормонов, нерациональное применение антибиотиков и местных спермицидных средств, нарушение правил личной гигиены, частые спринцевания, использование внутриматочной спирали, снижение иммунной защиты, острые и хронические инфекционные заболевания, повышенная лучевая нагрузка, заражение возбудителями инфекций, передаваемых половым путём (ИППП) [1, 2].

Частота распространения БВ в популяции колеблется в пределах 12-80% в зависимости от особенностей контингентов обследуемых женщин. Субъективные жалобы женщин с БВ связаны с образованием обильных выделений из половых путей, часто с неприятным «рыбным» запахом, сопровождающихся дискомфортом, зудом или жжением. Диагноз устанавливается на основании определения врачом трёх из четырёх критериев Amsel:

- гомогенные беловато-серые выделения из половых путей, с неприятным «рыбным» запахом;
- pH влагалищных выделений выше 4,5 (при исследовании лакмусовой полоской);

- положительный аминотест (появление или усиление неприятного «рыбного» запаха при добавлении 10% раствора КОН к нанесённому на предметное стекло отделяемому влагалищу);

- выявление «ключевых» клеток при микроскопии влагалищных выделений (отдельно расположенных клеток эпителия слизистой оболочки влагалища, на поверхности которых в большом количестве прикрепляются гарднереллы и другие патогены; при окраске по Граму или метиленовым синим эти эпителиальные клетки приобретают зернистый вид и нечёткие очертания) [3].

Gardnerella vaginalis является индигенным представителем условно-патогенной микрофлоры влагалища, которая может вызывать клинику БВ только при наличии дополнительных благоприятных условий; более того, в количествах до 10^3 КОЕ/мл гарднереллы расценивают как представителя нормальной микрофлоры.

При незащищённых половых контактах с женщинами, страдающими БВ, у мужчин (особенно иммунокомпromетированных или страдающих хроническими заболеваниями мочеполового тракта) могут развиваться явления уретрита или простатита; но примерно в 10% случаев в мочеполовом тракте у мужчин *G. vaginalis* могут сохраняться бессимптомно, делая их резервуаром и источником возбудителя инфекции.

Согласно современной классификации, род *Gardnerella* spp. включает как минимум 13 генетических видов. Новая таксономическая классификация рода *Gardnerella* spp. создана с учётом биохимических свойств микроорганизма, на основе анализа генов и их генетической близости (рис. 1).

Согласно новым разработкам в области молекулярной генетики, бывший вид *Gardnerella vaginalis* многими исследователями поднят в таксономии до рода, а его отличные в метаболическом и патогенном потенциале генотипы составляют отдельные виды внутри этого рода. Генетические отличия рода *Gardnerella* spp. включают: наборы уникальных гене-

тических маркёров для каждого из видов, что свидетельствует о различиях в их патогенном потенциале; значительный групповой коровый геном, состоящий из 746 генов; частую гомологичную внутригрупповую рекомбинацию генов [4]. Выделяют следующие

виды рода *Gardnerella* spp.: *Gardnerella vaginalis*, *Gardnerella leopoldii*, *Gardnerella swidsinskii*, *Gardnerella piotii* и 9 пока безымянных видов *Gardnerella* spp. (из-за малого числа известных нуклеотидных последовательностей).

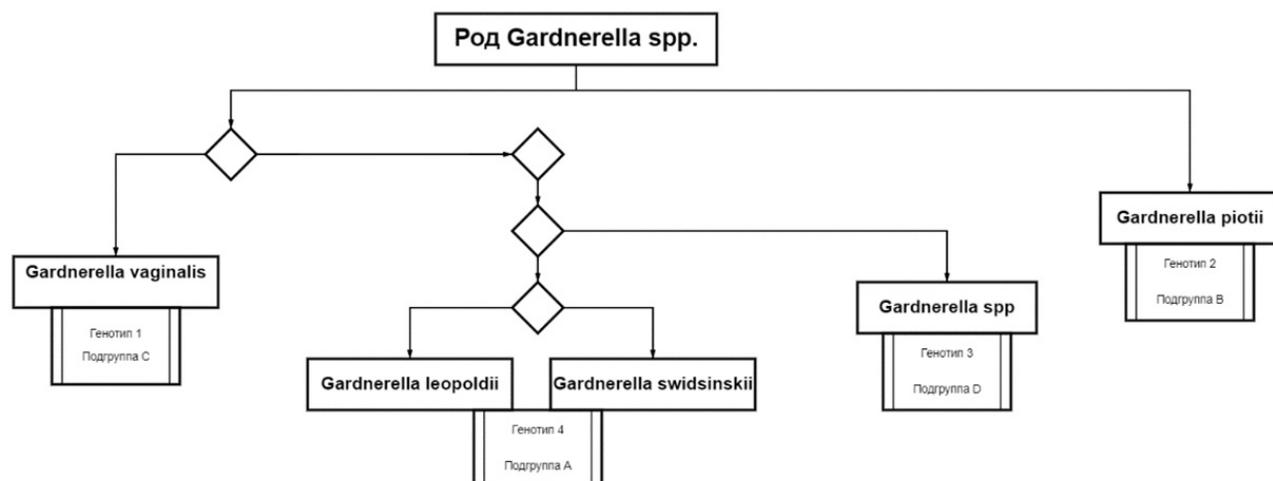


Рис. 1. Новая таксономическая классификация рода *Gardnerella* spp., включающая классификацию по генетическим видам (*Gardnerella vaginalis* и другие), генотипам 1-4 и подгруппам (A, B, C, D).

Для детекции и количественной оценки состава микробиоты отделяемого из половых путей в настоящее время в дополнение к исследованию нативных и окрашенных микропрепаратов применяют современные молекулярно-генетические методы исследования, обладающие высокой чувствительностью и специфичностью (как в формате моно-, так и мультиплексных исследований в классической или реал-тайм полимеразной цепной реакции, ПЦР) [5-7]. Метод ПЦР основан на выявлении в исследуемой пробе с помощью парных праймеров специфических для изучаемого вида микроорганизмов участков нуклеиновых кислот (ДНК или РНК) с последующим многократным увеличением – амплификацией их количества благодаря комплементарному присоединению дезокси-нуклеотид-трифосфатов под регулирующим действием фермента Таq-полимеразы и циклического изменения температуры в реакционной среде с помощью амплифицирующего аппарата - термоциклера. По окончании ПЦР производят детекцию продуктов амплификации одним из способов: гибридизационно-ферментным, гель-электрофоретическим, гибридизационно-флуоресцентным [7].

При подготовке исследуемой пробы к проведению анализа методом ПЦР используют различные методы выделения нуклеиновых кислот (ДНК или РНК) из исследуемого материала и одновременного удаления или нейтрализации посторонних примесей (экспресс-методы температурного лизиса с последующим центрифугированием, сорбентные методы выделения на твёрдофазном носителе, спиртовая преципитация). Каждый метод извлечения нуклеиновых кислот имеет свои особенности и показания к применению. Для ускорения процесса лабораторного исследования разработана

новая технология в рамках постановки реакции амплификации - прямая ПЦР (direct polymerase chain reaction) - при которой исключается этап экстракции и очистки пробы; исследуемый образец непосредственно добавляют к реакционной ПЦР-смеси.

Цель исследования - апробация технологии прямого метода ПЦР (*direct polymerase chain reaction*) в качестве инновационной методики детекции ДНК *Gardnerella vaginalis* с целью клинической лабораторной диагностики или быстрого получения продуктов амплификации (ампликонов) и последующего исследования нуклеотидных последовательностей.

Материал и методы. При постановке ПЦР использованы:

- подобранные олигонуклеотиды (парные праймеры) нужного дизайна (синтезированы фирмой «ДНК-Синтез», Россия);
- набор реагентов для выделения ДНК методом магнитной адсорбции (набор «МагнитЭк», АО «ЭКО-лаб» [8]);
- концентрат 2-х ПЦР буфера (0,5 М Tris Cl, pH 8,6; 0,05 М KCl; 15 мМ MgCl₂; 1% Tween 20);
- вода деионизированная, свободная от нуклеаз («Merck», «Millipore», Германия);

Амплификация, детекция, обработка полученных результатов проведена с помощью амплификатора модели Bio-Rad CFX 96, ФСЗ 2008/03399, фирмы ООО «Био-Рад Лаборатории» (США) [9].

Клинические образцы биологического материала в виде мазков ($n=120$), содержащих ДНК *Gardnerella vaginalis*, получены от компании «INVITRO» (г. Москва); до начала исследования их хранились при температуре -20°C .

В качестве эндогенного внутреннего контроль-

ного образца (ВКО) в выделении использован ген β -глобулина человека. Детекция ВКО по окончании реакции амплификации свидетельствует о правильном проведении всех этапов исследования: хранения, экстракции, амплификации.

Детекция нуклеиновых кислот для сопоставления результатов амплификации с разработанными олигонуклеотидами проведена при помощи набора реагентов «РеалБест ПЦР-12 ИППП» (РУ № РЗН 2021/14056, фирмы «Вектор-Бест», Россия), согласно положениям инструкции по его применению.

Анализ нуклеотидных последовательностей, представленных в базе данных GenBank проведён с помощью программы VectorNTI Suite 9.0.0 (AlignX). Специфичность подобранных олигонуклеотидов изучена с помощью компьютерной программы BLAST online [10].

Оценка аналитической надёжности с определением специфичности и чувствительности проведена согласно ГОСТ Р 53079.1-2008 и ГОСТ Р 53022.2-2008.

Результаты и обсуждение. Для отработки основных положений технологии прямой ПЦР (*direct polymerase chain reaction*) просчитаны последовательности олигонуклеотидов, специфичные исключительно к *G. vaginalis*, подобран состав реакционной смеси для ПЦР и программа амплификации.

Олигонуклеотиды. В рамках подбора специфических олигонуклеотидов проанализированы основные представители рода *Gardnerella* spp.

Согласно данным, просчитанным по оценке Ньюджента, клинически важными для человека считаются *Gardnerella vaginalis*, *Gardnerella swidsinskii*, *Gardnerella piotii*, поскольку их связывают с клинической картиной БВ. Клиническое значение *Gardnerella leopoldii* и *Gardnerella* spp. при БВ не доказано [4].

При разработке последовательности парных олигонуклеотидов для ПЦР решено взять за основу геном *Gardnerella vaginalis* внутри нового рода *Gardnerella* spp. Примерами специфических генов внутри генетического вида *Gardnerella vaginalis* можно назвать: *16S*; *23S*; *Sialidase A*; *vly*; *cpn60* и прочие. Часть этих генов достаточно консервативны, например: *Sialidase A* (благодаря ему синтезируется фермент сиалидаза, разрушающий слизистые барьеры влагалища, что, в свою очередь, является клинически значимым фактором патогенеза). Иные гены, такие как: *vly* (благодаря которому происходит синтез токсина-фактора вирулентности вагинолизина) считаются достаточно варибельными [11].

Для изучения и подбора специфических олигонуклеотидов для ПЦР отобраны последовательности нуклеотидов вышеназванных генов различных штаммов *G. vaginalis* из базы данных GenBank NCBI. Проведено множественное выравнивание нуклеотидных последовательностей; для полученных версий выравненных последовательностей нуклеотидов каждого гена, созданы варианты дизайнов праймеров для амплификации. При утверждении дизайнов учитывали: температуру гибридизации олигонуклеотидов, температуру отжига, последовательность азотистых оснований подбираемых праймеров, длину подбираемых нуклеотидов [12]. Подобранные варианты олигонуклеотидов проверены на сходство и специфику к геномам *G. vaginalis* по алгоритмам BLAST.

В результате проведённой разработки получено не-

сколько вариантов праймеров и зондов для различных генов, но по результатам серии опытных постановок большинство подобранных олигонуклеотидов отсеяны. Основной причиной отсеивания являлась недостаточная специфичность подобранных олигонуклеотидов по отношению к *G. vaginalis* (у отсеянных вариантов отмечена перекрёстная реактивность с другими представителями рода *Gardnerella* spp.).

Итогами подбора олигонуклеотидов явилось: выбор гена *Sialidase A* как наиболее консервативного для *G. vaginalis*:

- прямой праймер 5'-AAGAATGCGCAACAAAGT-GGCTAGT-3';
- обратный праймер 3'-CGTCGTCCGAGTAG-ATTTGCGCTATA-5'
- зонд 5'-TTGCAAGCGAAAGTCAGCCATTATTTGC-3'.

На основе данных нуклеотидных последовательностей синтезированы рабочие праймеры и зонды для непосредственной постановки ПЦР. Разработанные олигонуклеотиды специфичны лишь к *G. vaginalis* среди всех представителей рода *Gardnerella* spp. Последовательности нуклеотидов совпали при сопоставлении с геномом эталонного штамма *G. vaginalis* ATCC 14019. (NCBI Ap: NC_014644.1)

Буфер для ПЦР. Подобрана специальная буферная смесь для проведения амплификации (в том числе и технологии прямой ПЦР), включающая:

- $MgCl_2$, ионы которого образуют растворимые комплексы с дезоксирибонуклеозидтрифосфатами (dNTPs), формируя субстрат для ДНК-полимеразы. Экспериментальным путём выбрана концентрация 15 мМ на смесь;
- 0,5 М Tris-Cl, поддерживающий необходимую pH буферного раствора. С учётом существенного изменения pH при нагревании во время процесса амплификации, выбрана pH=8,6;
- термостабильная Taq-полимераза, устойчивая к воздействию высоких температур, в дальнейшем экспериментально успешно опробованная для прямой ПЦР;

- «присадки», улучшающие результат ПЦР, к которым можно отнести неионный детергент Tween 20 в концентрации 1% и KCL в концентрации 0,05 М.

Разработанный состав буфера обеспечивает проведение амплификации нуклеиновых кислот как с этапом их предварительной очистки, так и без неё.

Программа амплификации. Выбранный вариант амплификации (рис. 2) включает этапы:

- первоначальный прогрев реакционной смеси при 55 °C в течение 15 минут;
- денатурацию ДНК, необходимую для разрушения водородных связей между двумя цепями ДНК, из-за чего они расходятся;
- отжиг праймеров, обеспечивающий связь одноцепочечных матриц с праймерами;
- элонгацию праймеров (Taq-полимераза обеспечивает синтез второй цепи ДНК, начиная от праймера).

Результаты экспериментальных постановок. Экспериментальным путём проверена эффективность предложенных разработок и избранной программы для амплификации нуклеиновых кислот. Работоспособность подобранной ПЦР-системы проверена на выделенных

и очищенных клинических образцов ДНК *G. vaginalis*. Всего выделено 120 образцов, содержащих ДНК *G. vaginalis*, при помощи разрабатываемой методики для маг-

нитной адсорбции с набором реагентов МагнитЭК [8]. Выделенные образцы исследованы в ПЦР с просчитанными праймерами и предложенным буфером.

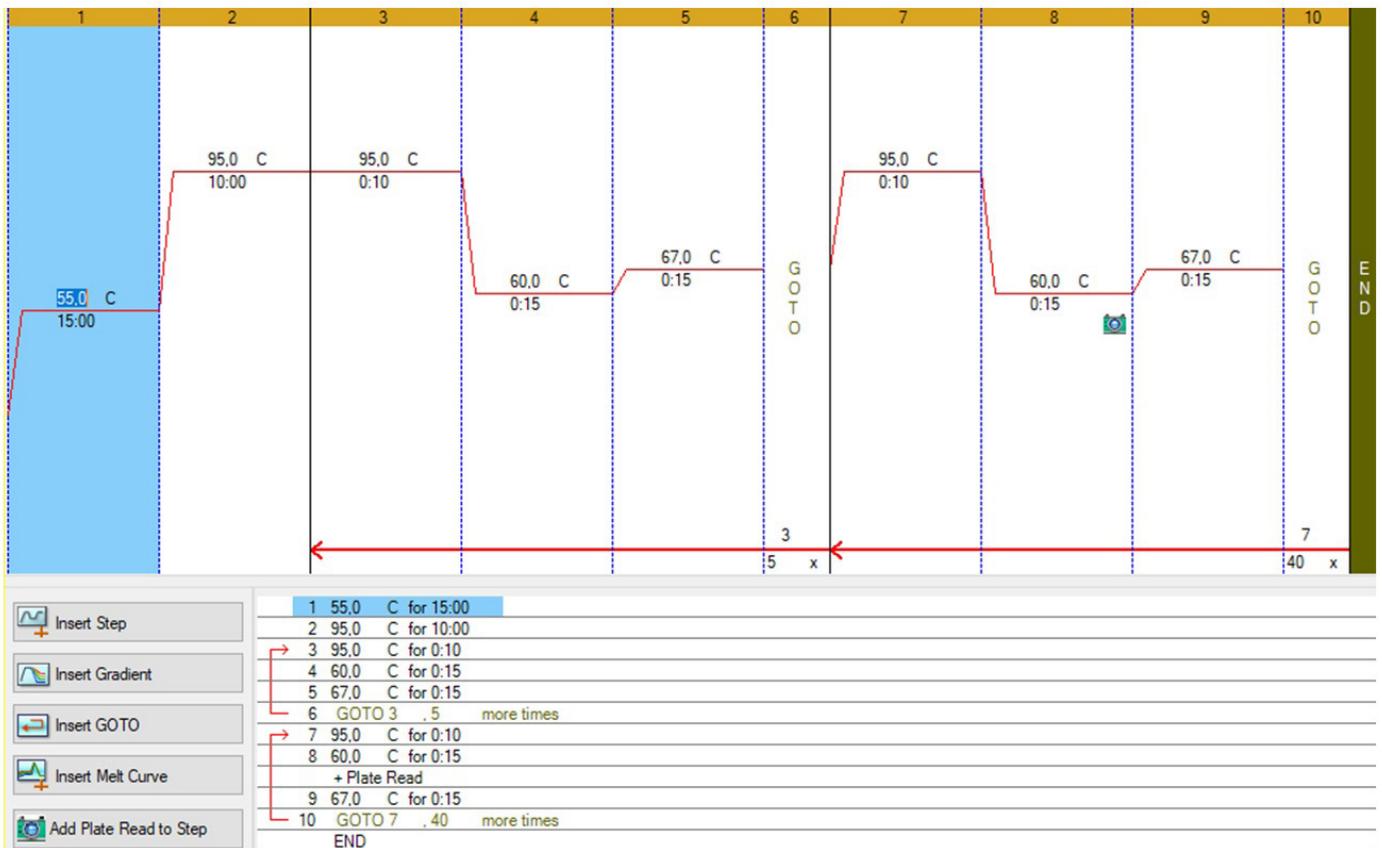


Рис.2. Программа амплификации нуклеиновых кислот для прибора Bio-Rad CFX 96 как для классической ПЦР с предварительной экстракцией нуклеиновых кислот, так и для прямой ПЦР.

В результате апробации разработанной ПЦР-системы положительные результаты получены со 118

(98,3%) образцов. Наглядным примером может послужить рис. 3.

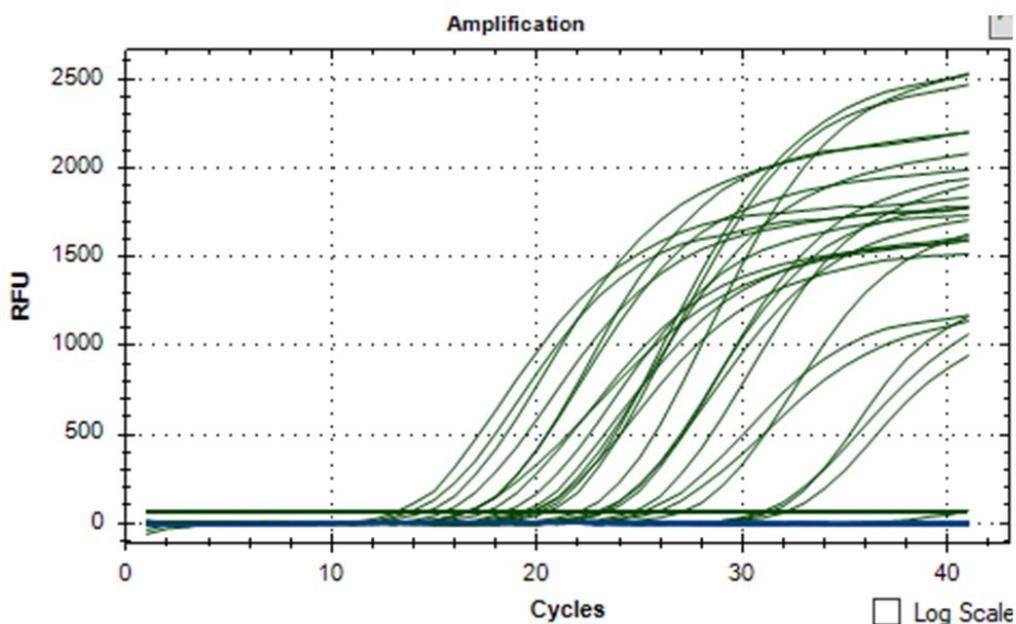


Рис. 3. Доказанная работоспособность набора реагентов ПЦР-системы на образцах, содержащих их ДНК *Gardnerella vaginalis*.

Для контроля работоспособности разработанной ПЦР-системы все выделенные образцы последовательно исследованы в ПЦР при помощи коммерческого набора сравнения «РеалБест ПЦР - 12 ИППП» (РУ № РЗН 2021/14056). Результаты детекции искомой

ДНК совпали, положительные результаты получены с теми же 118 (98,3%) образцами. Скорее всего, два (1,7%) отрицательных результата получены с двумя образцами, не содержащими ДНК *G. vaginalis* (см. таблицу).

Оценка работоспособности и диагностической эффективности разработанной ПЦР-системы в сравнении с результатами ПЦР коммерческого набора

| Реагенты для постановки ПЦР | Результаты исследования ДНК <i>G. vaginalis</i> | |
|--|---|---|
| | Положительный (ДНК выявлено) (абс., %) | Отрицательный (ДНК не выявлено) (абс., %) |
| Реагенты разработанной ПЦР-системы | 118 (98,3%) | 2 (1,7%) |
| Набор реагентов «РеалБест ПЦР-12 ИППП» | 118 (98,3%) | 2 (1,7%) |

В качестве дополнительного контроля специфичности просчитанных олигонуклеотидов, разработанная смесь для детекции ДНК *G. vaginalis* апробирована на перекрёстную реактивность с другими часто встречающимися возбудителями ИППП, такими как: *Mycoplasma hominis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Trichomonas vaginalis*, *Chlamydia trachomatis*. Во всех постановках ПЦР с определением перекрёстной реактивности результаты исследования отрицательные, что демонстрирует высокую специфичность разработанных олигонуклеотидов в отношении ДНК *G. vaginalis*, отсутствие генетического родства с возбудителями

иных ИППП, зачастую протекающих у обследуемого пациента сочетано с БВ.

Результат апробации прямой ПЦР на *G. vaginalis*.
 После получения результатов, связанных с разработкой олигонуклеотидов для ДНК *G. vaginalis*, подборкой состава реакционной смеси и программы амплификации с образцами выделенной и очищенной ДНК проведены исследования в прямой ПЦР. Результаты исследования ДНК *Gardnerella vaginalis* с новой технологией прямой ПЦР сопоставлены с результатами исследования ДНК, предварительно выделенной и очищенной с использованием метода магнитной адсорбции [8].

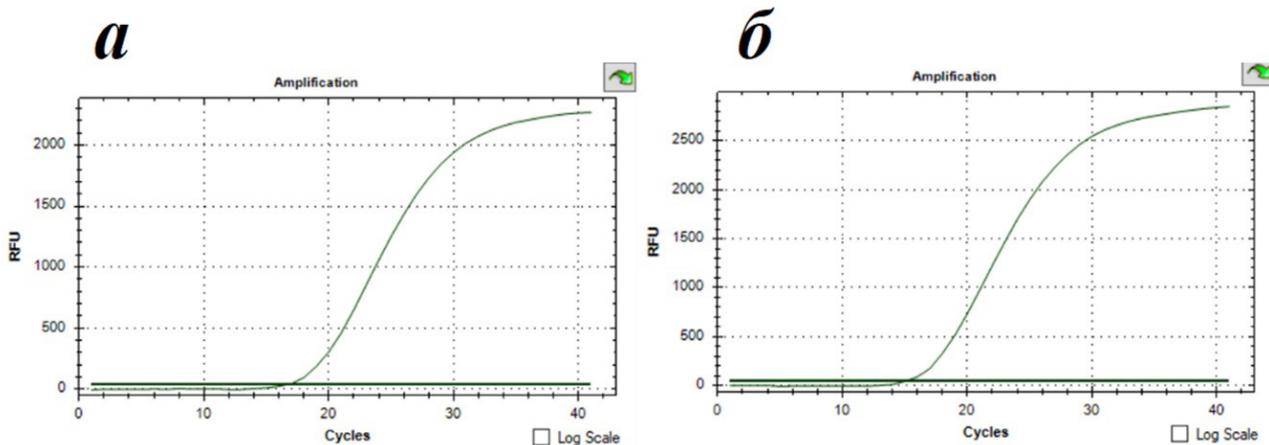


Рис. 4. Амплификации ДНК *Gardnerella vaginalis* напрямую и после этапа её предварительной экстракции. а - прямая ПЦР без этапа экстракции ДНК; б - классическая ПЦР с этапом выделения нуклеиновых кислот при помощи метода магнитной адсорбции.

Как следует из рис. 4, а, б, подготовка и реализация технологии прямой ПЦР в проведении амплификации нуклеиновых кислот успешные. С применением новой ускоренной технологии положительные результаты детекции ДНК *G. vaginalis* получены со 116 (96,7%) клиническими образцами, тогда как с образцами ДНК, прошедшими процедуру выделения, в 118 (98,3%). В ряде случаев, таких, как на представленном рис. 4, показатели Ct и RFU для образцов, прошедших предварительную экстракцию, незначительно лучше, чем в прямой ПЦР. Все эти факты и показатели свидетельствуют о полезности этапа очистки для получения качественного результата исследования в ПЦР. Но при этом проделанная работа имеет важное значение, поскольку при её выполнении доказана сама возможность

детекции ДНК *G. vaginalis* и получения её ампликонов в качественных клинических или исследовательских целях методом ПЦР-РВ без предварительного этапа экстракции.

Инновационная методика прямой ПЦР позволяет ускорить детекцию ДНК *G. vaginalis* в рамках качественной диагностики гарднереллёза и обеспечить более быстрый процесс получения копий ДНК данной бактерии для последующих исследований.

Заключение. Быстрая и эффективная диагностика инфекционных заболеваний методом ПЦР, как и ускоренное получение копий ДНК для научного исследования зачастую очень важны. Классический вариант ПЦР включает предварительный этап экстракции и очистки нуклеиновых кислот для их последующей амплифика-

ции, что занимает различное время в зависимости от избранного метода выделения нуклеиновых кислот.

Для ускорения исследования ДНК *G. vaginalis* путём амплификации для разных целей апробирован метод прямой ПЦР (direct polymerase chain reaction), при котором исследуемый образец вносится непосредственно в реакционную смесь для проведения ПЦР. Для реализации этого подхода просчитаны специфичные к *G. vaginalis* олигонуклеотиды для ПЦР, разработан буфер для ПЦР, подобрана программа амплификации.

Апробация прямой ПЦР успешно воспроизведена при исследовании 120 клинических образцов, содержащих ДНК изучаемого патогена; результаты исследования сопоставлены с результатами разработанной методики выделения и классической амплификации после экстракции. Расхождение в эффективности выявления составили 2 (1,7%) случая.

Разработанную методику прямой ПЦР можно рекомендовать к использованию при качественной детекции ДНК *G. vaginalis* для целей клинической диагностики или быстрого получения ампликонов.

Необходимо продолжить научные исследования для нивелирования различий в результатах прямой ПЦР по сравнению с результатами амплификации после выделения нуклеиновых кислот. Этот технологический подход необходимо апробировать при исследовании нуклеиновых кислот других возбудителей инфекций, передаваемых половым путём, таких как *Candida albicans*, *Human papillomavirus* и прочих.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бактериальный вагиноз. Клинические рекомендации М.: Минздрав РФ, Российское общество дерматовенерологов и косметологов; 2022. Режим доступа: https://cr.minzdrav.gov.ru/recommend/206_2 (дата обращения 24.06.2024).
2. Рахматулина М.Р., Плахова К.И. Бактериальный вагиноз, ассоциированный с *Atopobium vaginae*. *Акушерство и гинекология*. 2012; 3: 88-92.
3. Герасимова А. Ключевые клетки в мазке женщин: что это и чем опасны. Электронный ресурс: Университетская клиника. Режим доступа: <https://unclinic.ru/kljuchevye-kletki-mazke-zhenshhin/> (дата обращения 10.09.2024).
4. Крысанова А.А. *Gardnerella vaginalis*: генотипическое и фенотипическое разнообразие, факторы вирулентности и роль в патогенезе бактериального вагиноза. *Журнал акушерства и женских болезней*. 2019; 68 (1): 59-68.
5. Боровкова Л. В., Челнокова Е.В. Современные методы диагностики и лечения инфекций, передающихся половым путем. *Медицинский альманах*. 2010; 11 (2): 150-5.
6. Кулаков В.И., Серов В.Н., Абакарова П.Р., Антонов А.Г. Рациональная фармакотерапия в акушерстве и гинекологии. Руководство для практических врачей. Кулаков В.И., Серов В.Н., ред. М.: Литтерра; 2006.
7. Основы полимеразной цепной реакции. Методическое пособие. М.: ООО «ДНК-Технология». https://dna-technology.ru/sites/default/files/pcr_a5_083-4.pdf (дата обращения 10.09.2024).
8. Жигалева О.Н., Ильин И.И., Марданлы С.Г., Марданлы С.С. Разработка набора реагентов для выделения нуклеиновых кислот из клинического материала на основе магнитной адсорбции. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2023; 68 (10): 650-7. DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2023-68-10-650-657>.
9. Федеральная служба по надзору в сфере здравоохранения: Государственный реестр медицинских изделий и организаций (индивидуальных предпринимателей), осуществляющих производство и изготовление медицинских изделий (ПУ на изделие «Термоциклер для амплификации нуклеиновых кислот 1000 с принадлежностями»), 2024. Режим доступа: <https://www.roszdravnadzor.gov.ru/services/misearch> (дата обращения 29.05.2024).
10. Жигалева О.Н., Марданлы С.Г., Усачева А.Н. Роль ПЦР в исследованиях взаимосвязи вируса герпеса 6 типа и развития заболеваний. *Известия ГГТУ. Медицина, фармация*. 2023; 3: 4-7. DOI: 10.51620/2687-1521-2023-3-15-4-7.
11. Панфёрова Ю.А. Анализ *in silico* гена *vly*, кодирующего цитоллизин, вагинолизин, у штаммов *Gardnerella vaginalis* различного географического происхождения. *Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН*. 2019; 3: 8.
12. Ребриков Д.В. ПЦР в реальном времени. М.: *Лаборатория знаний*; 2019.

REFERENCES

1. Bacterial vaginosis. Clinical guidelines [Bakterial'nyi vaginoz. Klinicheskie rekomendatsii]. Moscow: Minzdrav RF, RODVK; 2022. Access mode: https://cr.minzdrav.gov.ru/recommend/206_2 (accessed: 24.06.2024). (in Russian)
2. Rakhmatulina M.R., Plakhova K.I. Bacterial vaginosis associated with *Atopobium vaginae*. *Akusherstvo i ginekologiya*. 2012; 3: 88-92. (in Russian)
3. Gerasimova A. Key cells in women's smears: what are they and why are they dangerous? Electronic resource: Universitetskaya klinika. Access mode: <https://unclinic.ru/kljuchevye-kletki-mazke-zhenshhin/> (accessed: 10.09.2024). (in Russian)
4. Krysanova A.A. *Gardnerella vaginalis*: genotypic and phenotypic diversity, virulence factors and role in the pathogenesis of bacterial vaginosis. *Zhurnal akusherstva i zhenskikh bolezney*. 2019; 68 (1): 59-68. (in Russian)
5. Borovkova L.V., Chelnokova E.V. Modern methods of diagnosis and treatment of sexually transmitted infections. *Meditsinskiy al'manakh*. 2010; 11 (2): 150-5. (in Russian)
6. Kulakov V.I., Serov V.N., Abakarova P.R., Antonov A.G. Rational pharmacotherapy in obstetrics and gynecology. A guide for practitioners [Ratsional'naya farmakoterapiya v akusherstve i ginekologii. Rukovodstvo dlya prakticheskikh vrachey]. Kulakov V.I., Serov V.N., eds. Moscow: Litterra; 2006. (in Russian)
7. Basics of polymerase chain reaction: Methodological manual [Osnovy polimeraznoy tsepnoy reaktsii. Metodicheskoe posobie]. Moscow: DNK-Tekhnologiya; 2024. Access mode: https://dna-technology.ru/sites/default/files/pcr_a5_083-4.pdf (accessed: 10.09.2024). (in Russian)
8. Zhigaleva O.N., Ilin I.I., Mardanly S.G., Mardanly S.S. Development of a set of reagents for the isolation of nucleic acids from clinical material based on magnetic adsorption. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2023; 68 (10): 650-7. DOI: 10.51620/0869-2084-2023-68-10-650-657. (in Russian)
9. Federal Service for Surveillance in Healthcare: State register of medical devices and organizations (individual entrepreneurs) engaged in the production and manufacture of medical devices (Registration certificate for a medical product «Thermal cyclers for amplification of nucleic acids 1000 with accessories»), 2024. Access mode: <https://www.roszdravnadzor.gov.ru/services/misearch> (accessed 29.05.2024). (in Russian)
10. Zhigaleva O.N., Mardanly S.G., Usacheva A.N. The role of PCR in studies of the relationship between herpes virus type 6 and the development of diseases. *Izvestiya GGTU. Meditsina, farmatsiya*. 2023; 3: 4-7. DOI: 10.51620/2687-1521-2023-3-15-4-7. (in Russian)
11. Panferova Yu.A. *In silico* analysis of the *vly* gene encoding the cytolytic vaginalisin in *Gardnerella vaginalis* strains of different geographical origins. *Byulleten' Orenburgskogo nauchnogo tsentra Ural'skogo otdeleniya RAN*. 2019; 3: 8. (in Russian)
12. Rebrikov D.V. PCR in real time [PTSR v peal'nom vremeni]. Moscow: Laboratoriya znaniy; 2019. (in Russian)

ИММУННЫЕ СЫВОРОТКИ



Высокая специфичность
Не дают перекрестных реакций



Сыворотки получены на базе собственного вивария



Удобное применение
Сухие и жидкие формы



Быстрый результат:
через 2-3 минуты

Сыворотки диагностические сальмонеллезные

125 наименований

Сыворотки диагностические эшерихиозные

107 наименований

Сыворотки диагностические шигеллезные

49 наименований

Сыворотки диагностические менингококковые

9 наименований

- ✔ Все комплекты иммунных сывороток получены на базе имеющегося у предприятия вивария
- ✔ Контроль качества продукции осуществляется с помощью собственного музея патогенных микроорганизмов
- ✔ Все сыворотки имеют РУ РЗН



г. Электрогорск
ул. Буденного, д.1



ekolab.ru



ekolab-sbyt@mail.ru
8-800-333-33-47



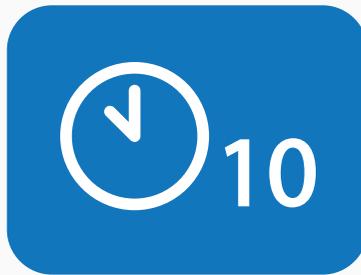
ЭКОлаб

производитель диагностических наборов и лекарственных препаратов

ЭКСПРЕСС-ДИАГНОСТИКА ВИРУСНЫХ ГЕПАТИТОВ



Все расходные материалы в комплекте



Быстрый результат через 10 минут



Срок годности 25 месяцев

ИХА-НВsAg

Качественное выявление поверхностного антигена вируса гепатита В



Исследуемый образец

СЫВОРОТКА · ПЛАЗМА · КРОВЬ

2 капли крови

или 40 мкл сыворотки

Кат. № 97.01

ИХА-антиВГС

Качественное определение суммарных антител к антигенам вируса гепатита С



Исследуемый образец

СЫВОРОТКА · ПЛАЗМА · КРОВЬ

1 капля крови

или 40 мкл сыворотки

Кат. № 94.01



г. Электрогорск
ул. Буденного, д.1



ekolab.ru



ekolab-sbyt@mail.ru
8-800-333-33-47

ИФА-Столбняк-IgG

Набор реагентов "ИФА-Столбняк-IgG" предназначен для количественного определения иммуноглобулинов класса G к столбнячному анатоксину в сыворотке и плазме крови людей методом иммуноферментного анализа



Определение уровня поствакцинального и гуморального иммунитета

96 определений

Кат. № 30.01

Определение концентрации IgG в диапазоне

0,01-5,0 МЕ/мл

Общее время анализа при 37°C

1 час 10 минут



Все реагенты готовы к использованию



Цветовая индикация реагентов



Срок годности 18 месяцев



г. Электрогорск
ул. Буденного, д.1



ekolab.ru



ekolab-sbyt@mail.ru
8-800-333-33-47

ИФА-Дифтерия-IgG

Набор реагентов "ИФА-Дифтерия-IgG" предназначен для количественного определения иммуноглобулинов класса G к дифтерийному анатоксину в сыворотке и плазме крови людей методом иммуноферментного анализа (ИФА)



Определение уровня поствакцинального и гуморального иммунитета

96 определений

Кат. № 42.33

Определение концентрации IgG в диапазоне

0,001-2,0 МЕ/мл

Общее время анализа при 37°C

1 час 10 минут



Все реагенты готовы к использованию



Цветовая индикация реагентов



Срок годности 18 месяцев



г. Электрогорск
ул. Буденного, д.1



ekolab.ru



ekolab-sbyt@mail.ru
8-800-333-33-47

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2024

Чеснокова М.Г.^{1,2}, Чесноков В.А.³, Жеребцов В.В.³, Миронов А.Ю.^{4,5}



АНАЛИЗ СОСТОЯНИЯ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ПОЛОСТИ РТА ПАЦИЕНТОВ С КАНДИДОЗНЫМ СТОМАТИТОМ И МИКРОБИОМА ПОВЕРХНОСТИ СЪЕМНЫХ ЗУБНЫХ ПРОТЕЗОВ ПРИ ОРТОПЕДИЧЕСКОЙ РЕАБИЛИТАЦИИ

¹ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Омский государственный медицинский университет, 644099, г. Омск, Россия;

²ФГБОУ «Омский государственный технический университет» Министерства науки и высшего образования Омский государственный технический университет, 644050, Омск, Россия;

³ООО «Стоматология доктора Жеребцова», 644024, Омск, Россия;

⁴Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г. Н. Габричевского Роспотребнадзора, 125212, Москва, Россия;

⁵Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий ФМБА, 115682, Москва, Россия

Нарушения микробиоценоза полости рта при различной стоматологической патологии представляют несомненный интерес. Микотическая колонизация полости рта способствует более тяжёлому течению хронических воспалительных заболеваний слизистой оболочки полости рта. Актуально изучение состояния слизистой оболочки полости рта в период ортопедической реабилитации пациентов с кандидозным стоматитом при использовании в качестве стоматологических ортопедических конструкций полных съёмных пластиночных протезов.

Цель исследования - провести анализ состояния слизистой оболочки полости рта и микробиома съёмных зубных протезов у пациентов при ортопедической реабилитации. **Материал и методы.** Обследованы пациенты с кандидозным стоматитом с различными сроками ношения протеза. Определено состояние слизистой оболочки поверхности протезного ложа полости рта, оценён характер микробиома поверхности протеза с проведением видовой и количественной характеристики ассоциантов. **Результаты.** Установлено, что при длительном ношении протезов происходит потеря подслизистого слоя слизистой оболочки, приводящее к затруднению использования протеза. Микробиологическое исследование биоматериала поверхности зубных протезов показало широкий видовой и количественный спектр микробиоты. Отмечены статистически значимые различия содержания микроорганизмов в биоматериале пациентов при различной продолжительности ношения съёмных протезов.

Заключение. Для ортопедической стоматологии представляется актуальным необходимость мониторинга присутствия дрожжеподобных грибов как членов разнообразной и многосторонней ассоциации микробиома.

Ключевые слова: слизистая оболочка ротовой полости; микробиом; дрожжеподобные грибы; кандидозный стоматит; съёмные зубные протезы

Для цитирования: Чеснокова М.Г., Чесноков В.А., Жеребцов В.В., Миронов А.Ю. Анализ состояния слизистой оболочки полости рта пациентов с кандидозным стоматитом и микробиома поверхности съёмных зубных протезов при ортопедической реабилитации. *Клиническая лабораторная диагностика.* 2024; 69 (12): 693-699.

DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2024-69-12-693-699>

EDN: CTZAWU

Для корреспонденции: Чеснокова Марина Геннадьевна, д-р мед. наук, проф. каф. микробиологии, вирусологии и иммунологии; e-mail: chesnokova_marin@mail.ru

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 30.09.2024

Принята к печати 10.10.2024

Опубликовано 20.11.2024

Chesnokova M.G.^{1,2}, Chesnokov V.A.³, Zherebtsov V.V.³, Mironov A.Yu.^{4,5}

ANALYSIS OF THE STATE OF THE ORAL MUCOSA OF PATIENTS WITH CANDIDAL STOMATITIS AND THE MICROBIOME OF THE SURFACE OF REMOVABLE DENTURES DURING ORTHOPEDIC REHABILITATION

¹FGBOU VO «Omsk State Medical University» of the Ministry of Health of the Russian Federation, 644099, Omsk, Russia;

²FGBOU VO «Omsk State Technical University», of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation, 644050, Omsk, Russia;

³LLC «Dentistry of Doctor Zherebtsov», 644024, Omsk, Russia;

⁴FBUN G. N. Gabrichevsky Moscow Research Institute for Epidemiology and Microbiology. Rospotrebnadzor, 125212, Moscow, Russia;

⁵Federal scientific and clinical center for specialized types of medical care and medical technologies FMBA, 125371, Moscow, Russia

Disturbances of the microbiocenosis of the oral cavity in various dental pathologies are of undoubted interest. Mycotic colonization of the oral cavity contributes to a more severe course of chronic inflammatory diseases of the oral mucosa. It is relevant to study the condition of the oral mucosa during the period of orthopedic rehabilitation of patients with candidal stomatitis when using complete removable laminar dentures as dental orthopedic structures. Purpose of the study: to analyze the state of the oral mucosa and the microbiome of removable dentures in patients undergoing orthopedic rehabilitation. Patients with candidal stomatitis with different periods of wearing a prosthesis were examined.

The condition of the mucous membrane of the surface of the prosthetic bed of the oral cavity was determined and the nature of the microbiome of the surface of the prosthesis was assessed with qualitative and quantitative characteristics of the associates. It has been established that with prolonged wearing of prostheses, loss of the submucosal layer of the mucous membrane occurs, which leads to difficulty in using the prosthesis.

Microbiological study of the biomaterial of the surface of dentures showed a wide species and quantitative spectrum of microbiota. Statistically significant differences in the content of microorganisms in the biomaterial of patient groups were noted for different durations of wearing removable dentures.

Of relevance for prosthetic dentistry is the need to monitor the presence of yeast-like fungi as members of a diverse and multifaceted microbiome association.

Key words: oral mucosa; microbiome; yeast-like fungi; candidal stomatitis; removable dentures

For citation: Chesnokova M.G., Chesnokov V.A., Zherebtsov V.V., Mironov A.Yu. Analysis of the state of the oral mucosa of patients with candidal stomatitis and the microbiome of the surface of removable dentures during orthopedic rehabilitation. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2024; 69 (12): 693-699 (in Russ.).

DOI: <https://doi.org/10.51620.0869-2084-2024-69-12-693-699>

EDN: CTZAWU

For correspondence: Chesnokova Marina Gennad'evna, doctor of medicine; e-mail: chesnokova_marin@mail.ru

Information about authors:

Chesnokova M.G., <https://orcid.org/0000-0001-9055-977X>;

Chesnokov V.A., <https://orcid.org/0000-0003-4100-9354>;

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

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

Acknowledgment. *The study had no sponsor support.*

Received 30.09.2024

Accepted 10.10.2024

Published 20.11.2024

Особую актуальность в стоматологической практике представляет комплексность проведения диагностических исследований, позволяющая выявить и оценить в полной мере характер и спектр нарушений стоматологического статуса пациента. Нарушения микробиоты полости рта при различной стоматологической патологии представляют несомненный интерес, учитывая формирование ассоциативных взаимоотношений между отдельными представителями микробиома [1-3]. Кандидоз слизистой оболочки полости рта, вызываемый грибами рода *Candida*, является важнейшей междисциплинарной проблемой. Возникновение данной патологии может быть обусловлено комплексом разнообразных факторов, включающим заболевания различных органов и систем, применение антибиотиков, кортикостероидов, иммунодефицитные состояния [4-6]. Представляют актуальность клинические проявления, являющиеся косвенными признаками колонизации слизистой оболочки полости рта грибами рода *Candida* с локализацией на слизистой оболочке полости рта, губ, языка, наличие трещин, заед в углах рта, гиперемия слизистой щек, нёба, языка [7-9].

В период ортопедической реабилитации пациента при использовании в качестве стоматологических ортопедических конструкций полные съёмные пластинчатые протезы в процессе эксплуатации передают жевательное давление через слизистую оболочку протезного ложа на альвеолярный отросток челюстей и способствуют появлению атрофии костной ткани протезного ложа с последующим уменьшением его площади и пунктов анатомической ретенции. Нарушение микроциркуляции крови

под базисом протеза ведёт к прогрессированию атрофии в тканях протезного ложа. Развитие последующего нарушения фиксации и стабилизации полного съёмного протеза провоцирует механическое повреждение мягких тканей протезного ложа с возникновением воспалительного процесса на слизистой оболочке полости рта [10,11].

В клинической картине оральное кандидозное заболевание обладает хроническими формами с длительным рецидивирующим течением [12]. У пациентов с кандидозным стоматитом регистрируют наличие определённой стоматологической и соматической патологии, наиболее часто встречаются такие соматические заболевания как хронические заболевания желудочно-кишечного тракта, сахарный диабет, гипертоническая болезнь, хронический тонзиллит, заболевания щитовидной железы, аллергические реакции [13-15].

Грибы играют всё большую роль в патологии полости рта человека, вступая в ассоциации с бактериями и вирусами. В ряде случаев происходит изменение свойств ассоциантов, что обуславливает сложность диагностики, возникновение новых клинических форм, устойчивость к общепринятой терапии [16-18].

Предыдущие исследования посвящены проведению микологического анализа поверхности съёмных зубных протезов у пациентов при ортопедической реабилитации и детальному изучению биоплёнки клинических штаммов грибов рода *Candida* на зубных протезах с применением современных методов исследования - сканирующей электронной микроскопии и лазерной интерференционной микроскопии [19-21].

Микотическая колонизация полости рта способствует более тяжёлому течению хронических воспалительных заболеваний слизистой оболочки полости рта и появлению новых симптомов, в следствие чего необходимо проведение методов лабораторной диагностики.

В контексте вышесказанного представляет актуальность и интерес микробиологический анализ протеза, на поверхности которого происходит колонизация микробиома полости рта на определённых стадиях ортопедической реабилитации.

Цель исследования: провести анализ состояния слизистой оболочки полости рта и микробиома съёмных зубных протезов у пациентов при ортопедической реабилитации.

Материал и методы. Обследованы 92 пациента с диагнозом по МКБ-10 K00.01 (полная адентия), возрастом от 60 до 70 лет. До обследования получено информированное добровольное согласие пациентов, обратившихся по поводу полного отсутствия зубов на одной или обеих челюстях на участие в исследовании.

Стоматологические методы применяли на стоматологическом приёме. Пациентов разделили на две группы по продолжительности ношения полных съёмных акриловых зубных протезов. В 1-ю группу вошли 45 пациентов с кандидозным стоматитом со сроком ношения протеза до трёх лет, 2-я группа представлена 47 пациентами с кандидозным стоматитом со сроком эксплуатации протеза более трёх лет. Диагноз кандидоза слизистой оболочки полости рта подтверждён клинически и лабораторно. Проводили осмотр состояния слизистой оболочки полости рта, увлажнённости и цвет, сохранность (наличие изъязвлений, пролежней, странгуляционных полос от давления протезом).

Оценивали качество имеющегося зубного протеза, рельеф поверхности альвеолярного отростка, степень атрофии альвеолярной кости и её характер (равномерность, неравномерность), деформации. Определение состояния слизистой оболочки полости рта пациентов регистрировали согласно классификации Суппле, ориентированной на состояние слизистой оболочки поверхности протезного ложа, учитывали критерии податливости (гребни альвеол с наличием податливой слизистой оболочки протезного ложа, атрофированная слизистая поверхность, выступающая гребни альвеол и нёбо, неравномерная слизистая оболочка на нижнечелюстных структурах и твёрдом нёбе, подвижные тяжи слизистой поверхности, перемещающиеся при минимальном давлении).

Видовую идентификацию клинических изолятов осуществляли изучая морфологические, тинкториальные, культуральные, биохимические, антигенные свойства в соответствии с определителем Берджи. Количественное содержание микроорганизмов выражали через десятичный логарифм величины выросших колоний (lg КОЕ/мл).

Биометрический анализ осуществлён с использованием пакетов Statistica 6.0, БИОСТАТИСТИКА. Во всех процедурах статистического анализа критический уровень значимости p принимался равным 0,05. При этом значения p могли ранжироваться по трём уровням достигнутых статистически значимых различий: $p < 0,05$; $p < 0,01$; $p < 0,001$.

Результаты. Проведённый анализ клинических

проявлений у обследованных пациентов показал различный характер их выраженности в группах обследования. Следует отметить отсутствие при обследовании пациентов травматических повреждений слизистой оболочки, эрозий, пролежней. Наличие кандидозного хейлита («заед») регистрировали при осмотре преимущественно во 2-й группе обследования в 34,04% случаев. Признак гиперемии слизистой оболочки в преобладающем числе случаев (44,68%) выявлен во 2-й группе. Пигментация поверхности протеза отмечена преимущественно во 2-й и 1-й группах обследования – соответственно, 70,21%, 44,68%. Аналогичная тенденция отмечена и по клиническим признакам – наличие налёта на поверхности протеза, наличие налёта на языке, наличие налёта на слизистой оболочке под протезом.

Отсутствие достаточной фиксации протеза наиболее часто отмечено во 2-й группе пациентов (51,06%), что можно объяснить более поздним сроком ношения протеза. По показателю балансирование протеза установлен достаточно высокий уровень среди всех групп пациентов с преобладающим уровнем во 2-й группе (31,91%) в сравнении с пациентами, носившими съёмные протезы менее трёх лет ($p < 0,001$). Полученные данные свидетельствуют о том, что балансирование протеза сопровождается длительными сроками ношения протеза. Наличие налёта на языке отмечено преимущественно во 2-й, 1-й группах – соответственно, у 46,80%, 31,1% пациентов. Аналогичная тенденция прослежена по отношению к признакам гиперемия слизистой оболочки, наличию налёта на поверхности протеза, наличию налёта на слизистой оболочке под протезом, пигментации поверхности протеза, отёку слизистой оболочки под протезом. Сухость слизистой оболочки рта чаще регистрировали у пациентов 2-й группы в 10,64% случаев.

Определение состояния слизистой оболочки полости рта пациентов по Суппле позволило установить преимущественное выявление первого типа слизистой оболочки у пациентов 1-й группы обследования - 44,44% случаев (рис. 1). Второй тип состояния слизистой оболочки полости рта пациентов регистрировали при обследовании пациентов как в 1-й (22,22%), так и во 2-й (19,15%) группах. Клиническое обследование пациентов 2-й группы показало преимущественное соответствие слизистой оболочки третьему типу (38,3% случаев). Четвёртый тип состояния слизистой оболочки определён преимущественно во 2-й группе обследования (14,89% случаев).

Полученные данные указывают на преимущественное преобладание первого типа слизистой оболочки полости рта у пациентов, пользовавшихся протезом менее трёх лет.

Микробиологическое исследование биоматериала поверхности зубных протезов на этапах ортопедической реабилитации выявило широкий видовой и количественный спектр микробиоты. Идентифицированы микроорганизмы, являющиеся представителями различных родов и семейств. В микробиоме установлены виды, относящиеся к родам *Staphylococcus*, *Micrococcus*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Klebsiella*.

При микробиологическом исследовании биоматериала поверхности зубных протезов в 1-й группе пациентов получены результаты, свидетельствующие об отсутствии микроорганизмов родов *Bifidobacterium*

и *Lactobacillus*, идентифицированы микроорганизмы рода *Micrococcus* в 15,5% случаев в концентрации

$3,43 \pm 0,2$ lg КОЕ/мл, перцентиль (P 10,00) -3,00, перцентиль 90,00 (P 90,00) - 4,00 lg КОЕ/мл (рис. 2).

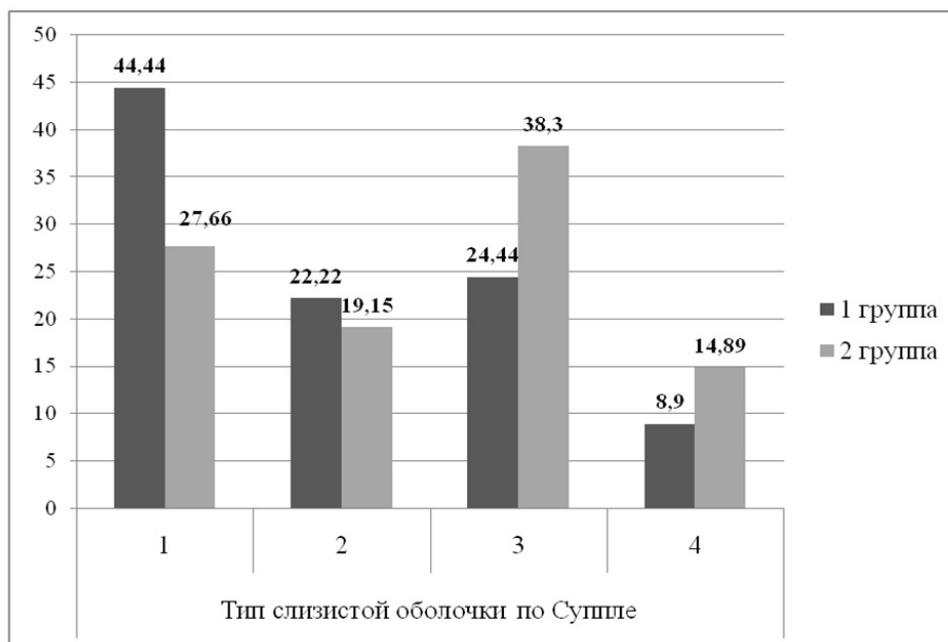


Рис. 1. Распределение пациентов по типу слизистой оболочки по Суппле. По оси абсцисс – тип слизистой оболочки по Суппле (1-4), по оси ординат – выявление у пациентов обследованных групп (в %).

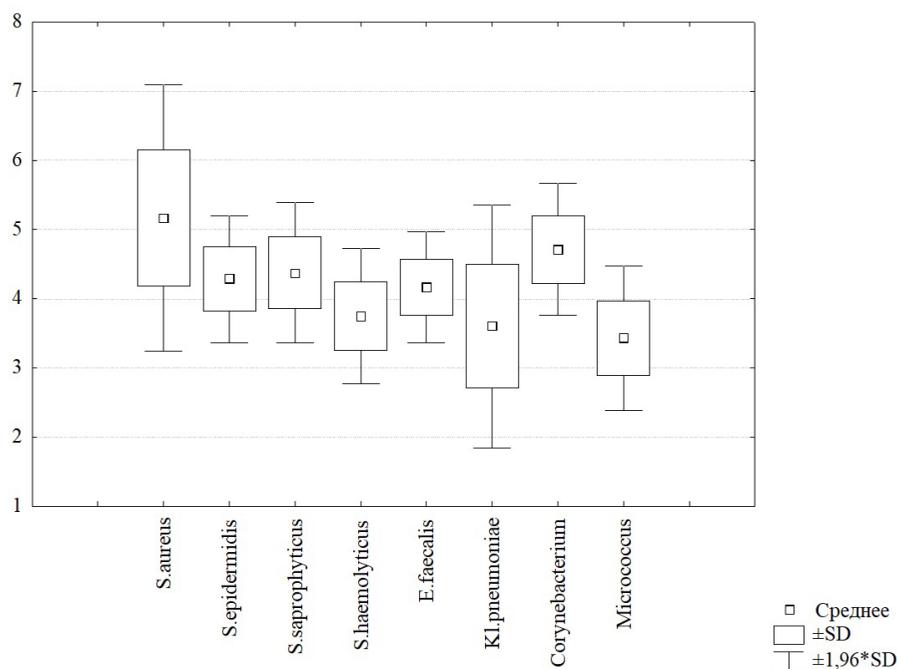


Рис. 2. Концентрация ассоциатов микробиома поверхности протезов пациентов 1-й группы при ортопедической реабилитации. По оси абсцисс - микроорганизмы; по оси ординат - концентрация выявленных микроорганизмов, десятичный логарифм величины колоний (lg КОЕ/мл).

Staphylococcus epidermidis определен в 31,11% случаев при среднем содержании $4,29 \pm 0,12$ lg КОЕ/мл, медиане 4,00, P 10,00-4,00 lg, P 90,00-5,00 lg КОЕ/мл, *Staphylococcus saprophyticus* в 17,78% случаев при содержании $4,37 \pm 0,18$ lg КОЕ/мл, медиане 4,00, P 10,00-4,00 lg, P 90,00-5,00 lg КОЕ/мл. *Staphylococcus*

haemolyticus выявлен в 8,89%, медиана 4,00, в концентрации $3,75 \pm 0,25$ lg КОЕ/мл, P 10,00-3,00 lg, P 90,00-4,00 lg КОЕ/мл. *Staphylococcus aureus* найден в биоматериале в 13,33% случаев при среднем значении концентрации $5,17 \pm 0,4$ lg КОЕ/мл, медиане 5,50, P 10,00-4,00 lg, P 90,00-6,00 lg КОЕ/мл. Бактерии ро-

да *Enterococcus* идентифицированы до вида *E. faecalis* в 13,33% случаев в концентрации $4,17 \pm 0,17$ lg КОЕ/мл, медиане 4,0, P 10,00-4,00, P 90,00-5,00 lg КОЕ/мл. Выявленные бактерии рода *Klebsiella* относились к виду *K. pneumoniae* в 11,11% исследованного биоматериала в концентрации $3,6 \pm 0,4$ КОЕ/мл, медиане 3,0, P 10,00-3,00, P 90,00-5,00 lg КОЕ/мл. *Corynebacterium* spp. выявлены в 15,55% случаев в концентрации $4,71 \pm 0,18$ lg КОЕ/мл, медиане 5,0, P 10,00-4,00 lg, P 90,00-5,00 lg КОЕ/мл.

Микологические исследования показали присутствие грибов рода *Candida*, относящихся к виду *Candida albicans* в 28,89% случаев при среднем содержании $3,69 \pm 0,17$ lg КОЕ/мл, медиане 4,0, P 10,00-3,00 lg, P 90,00-4,00 lg КОЕ/мл.

При обследовании пациентов 2-й группы наиболее часто на поверхности протезов идентифициро-

ваны микроорганизмы рода *Staphylococcus* виды *S. epidermidis* в 36,17%, *S. saprophyticus* в 25,53% случаев, *S. haemolyticus* в 10,64% случаев. *S. aureus* выявлены в 19,15% случаев, *Micrococcus* spp. выявлены в исследуемом биоматериале в 19,15% случаев. В исследуемом микробиоме идентифицированы *K. pneumoniae* в 14,89% случаев, зарегистрирована элиминация бактерий родов *Bifidobacterium* и *Lactobacillus*.

Определение количества выявляемых микроорганизмов позволило установить, что ряд членов изучаемого микробиома выделялись в высоком содержании, следует отметить, что преобладали по уровню концентрации *S. epidermidis* $5,71 \pm 0,11$ КОЕ/мл, медиане 6,0, P 10,00-5,00, P 90,00-6,00 КОЕ/мл, *Micrococcus* spp. в концентрации $1,07 \pm 0,28$ КОЕ/мл, P 10,00-0,00, P 90,00-4,00 КОЕ/мл (рис. 3).

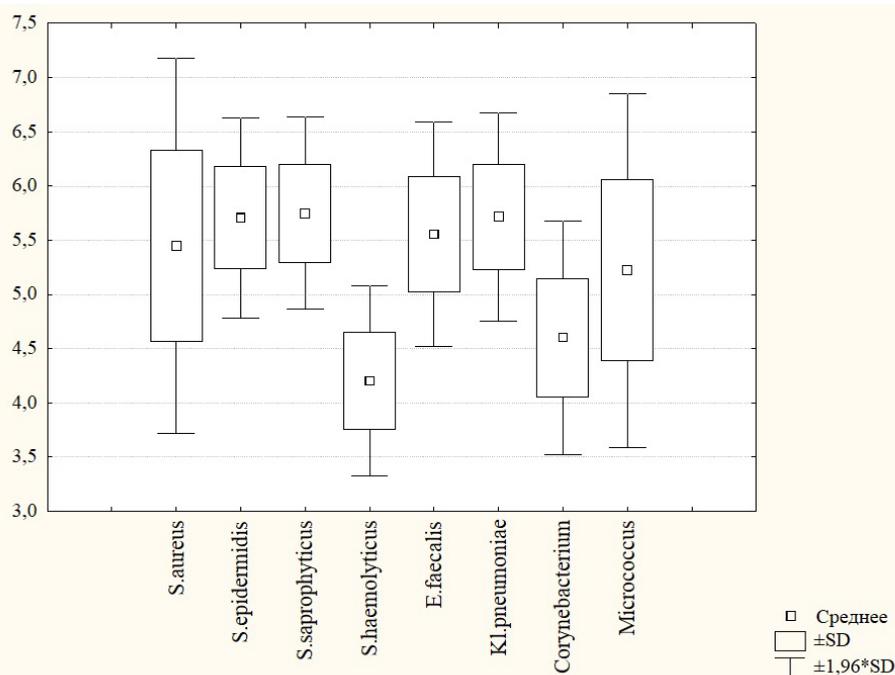


Рис. 3. Концентрация ассоциантов микробиома поверхности протезов пациентов 2-й группы обследования при ортопедической реабилитации. По оси абсцисс - микроорганизмы; по оси ординат - концентрация выделенных микроорганизмов, десятичный логарифм величины колоний (lg КОЕ/мл).

K. pneumoniae выявлена в количестве $5,71 \pm 0,18$ lg КОЕ/мл, медиане 6,0, P 10,00-5,00, P 90,00-6,00 lg КОЕ/мл. *S. aureus* выявлен в количестве $5,44 \pm 0,29$ lg КОЕ/мл, медиане 6,0, P 10,00-4,00, P 90,00-6,00 lg КОЕ/мл, *S. saprophyticus* - в количестве $5,75 \pm 0,13$ lg КОЕ/мл, медиане 6,0, P 10,00-5,00, P 90,00-6,00 lg КОЕ/мл. *S. haemolyticus* при содержании $4,2 \pm 0,2$, медиане 4,0, P 10,00-4,00, P 90,00-5,00 lg КОЕ/мл. *Enterococcus* spp. идентифицированы до вида *E. faecalis* в 19,15% случаев в количестве $5,55 \pm 0,17$ lg КОЕ/мл, медиане 6,0, P 10,00-5,00, P 90,00-6,00 lg КОЕ/мл. Представители рода *Corynebacterium* spp. выделены в 10,64% случаев в количестве $4,6 \pm 0,24$ lg КОЕ, медиане 5,0 lg КОЕ/мл, P 10,00-4,00 lg КОЕ/мл, P 90,00-5,00 lg КОЕ/мл.

Присутствие грибов рода *Candida* вида *Candida albicans* регистрировали в 40,43% случаев при среднем содержании $5,89 \pm 0,07$ lg КОЕ/мл, медиане 6,0, P 10,00-

5,00, P 90,00-6,00 lg КОЕ/мл.

Отмечены статистически значимые различия содержания микроорганизмов в биоматериале групп пациентов при различной продолжительности ношения съёмных протезов. Во 2-й группе зарегистрировано повышение концентрации *S. epidermidis* ($Z = -2,041241$; $p = 0,041227$) и грибов *Candida albicans* ($Z = -2,47487$; $p = 0,0133$) (рис. 4).

Обсуждение. Анализ клинических проявлений у обследованных пациентов с кандидозным стоматитом показал различный характер их выраженности. Наличие кандидозного хейлита («заед»), гиперемии слизистой оболочки, пигментацию поверхности протеза, наличие налёта на поверхности протеза, языке, на слизистой оболочке под протезом, отсутствие достаточной фиксации протеза регистрировали преимущественно во 2-й группе, что можно объяснить более

поздним сроком ношения протеза. Получены данные о преимущественном преобладании первого типа слизистой оболочки полости рта у пациентов, пользовавшихся протезом менее трёх лет, третьего и четвёртого

типа - у пациентов 2-й группы. При длительном ношении протезов происходит потеря подслизистого слоя слизистой оболочки, что ведёт к затруднению использования протеза.

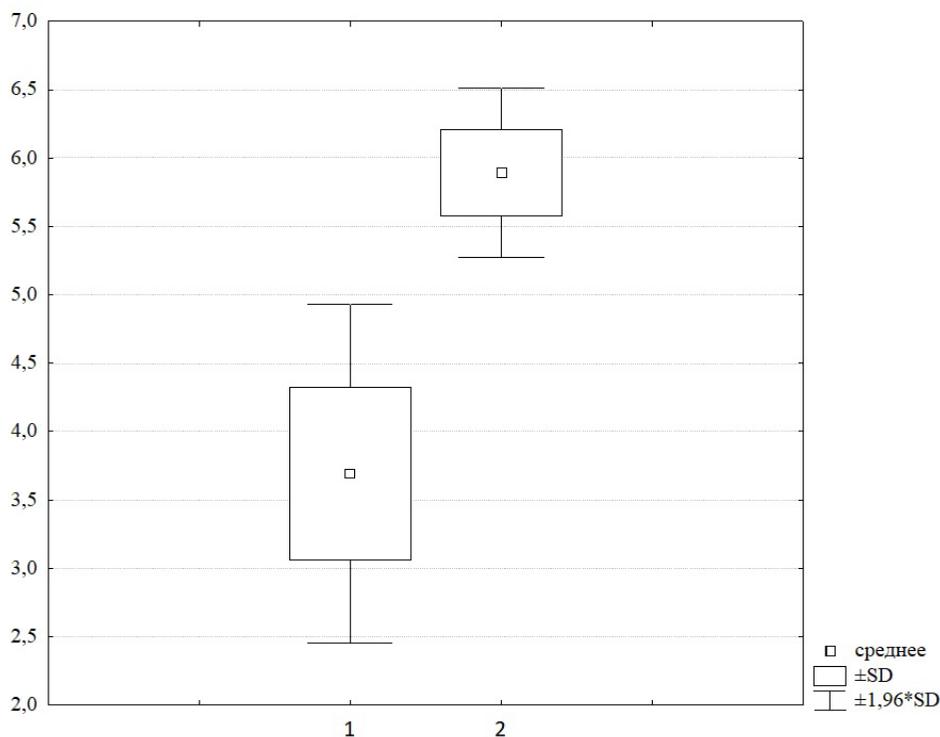


Рис. 4. Уровень концентрации дрожжеподобных грибов на поверхности протезов пациентов обследованных групп при ортопедической реабилитации. По оси абсцисс - группы обследованных пациентов (1,2); по оси ординат - концентрация выделенных грибов вида *Candida albicans*, десятичный логарифм величины выросших колоний (lg КОЕ/мл).

Микробиологическое исследование биоматериала поверхности зубных протезов показало более частое выявление и увеличение концентрации представителей изучаемого микробиома во 2-й группе пациентов. Установлены статистически значимые различия содержания микроорганизмов в биоматериале при различной продолжительности ношения съёмных протезов, выраженное повышение концентрации *S. epidermidis* и грибов *Candida albicans* при длительном использовании протеза.

Установлены особенности микробной колонизации поверхности полных съёмных зубных протезов в наблюдаемых группах пациентов с кандидозным стоматитом при различной продолжительности ношения, зарегистрировано низкое содержание бактерий рода *Corynebacterium*, элиминацию бактерий родов *Bifidobacterium* и *Lactobacillus*.

При возрастании срока эксплуатации протеза происходит угнетение жизнедеятельности представителей нормальной микрофлоры полости рта с нарушением равновесия между ассоциантами.

Заключение. Установление характера и спектра изменений бактериально-микотических ассоциаций микробиома поверхности съёмного пластиночного протеза в контексте с анализом клинических проявлений и оценкой состояния слизистой оболочки полости рта у пациентов с кандидозным стоматитом позволяют оценить в полной мере характер выявленных нарушений и своевременно разработать и корректировать тактику

лечебных и профилактических мероприятий в процессе ортопедической реабилитации.

Представляет особую актуальность для ортопедической стоматологии необходимость мониторинга присутствия грибов, как членов разнообразной и многосторонней ассоциации микробиома слизистой оболочки полости рта при проведении реабилитационных мероприятий. Получение и дальнейшее расширение знаний о взаимосвязи условно-патогенных и патогенных микроорганизмов, формирующих биоплёнку на слизистой оболочке полости рта и поверхности зубного протеза, является перспективным направлением, которое следует учитывать в терапии разнообразной патологии полости рта.

ЛИТЕРАТУРА (П.П. 4-8 СМ. REFERENCES)

1. Чеснокова М.Г., Чесноков В.А., Миронов А.Ю. Оценка поверхности биоплёнки клинических штаммов дрожжеподобных грибов на зубных протезах с применением сканирующей электронной микроскопии и лазерной интерференционной микроскопии. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2024; 69 (6): 278-85.
2. Чесноков В.А., Чеснокова М.Г., Миронов А.Ю., Турчанинов Д.В., Крига А.С. Байесовские подходы к определению кариесогенных стрептококков в зубной бляшке у детей с дистальной окклюзией при ортодонтическом лечении. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2013; 8: 54-8.
3. Чеснокова М.Г., Чесноков С.А., Миронов А.Ю. Микобиота зубной

- бляшки у детей с зубочелюстными аномалиями при ортодонтическом лечении. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2023; 68(4): 237-42.
9. Бабич В.В., Быстрова Ю.А. Особенности ортопедического лечения при полном отсутствии зубов. *Российский стоматологический журнал*. 2021; 25(3): 247-52.
10. Чеснокова М.Г., Чесноков В.А., Миронов А.Ю., Турчанинов Д.В. Байесовские подходы к определению грибов *Candida albicans* слизистой оболочки полости рта на этапах проведения ортопедической реабилитации. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2023; 68(12): 744-50.
11. Садыков М.И., Быкова Ю.В. Оптимизация ортопедического лечения пациентов с истонченной слизистой оболочкой беззубой нижней челюсти. *The Scientific Heritage*. 2021;81-2(81): 50-2.
12. Кошелев К.А., Евстифеева Е.А., Белоусов Н.Н., Филиппченкова С.И., Мурашова Л.А. Отдаленные результаты стоматологического ортопедического лечения в аспекте изменения. *Проблемы стоматологии*. 2019; 15(3): 152-7.
13. Чеснокова М.Г., Чесноков В.А., Миронов А.Ю. Анализ уровня ортопедической реабилитации при изучении микробиома и оценке степени фиксации съёмных пластиночных протезов. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2022; 67(10): 588-93.
14. Чеснокова М.Г., Чесноков В.А., Миронов А.Ю. Видовой спектр микробиома поверхности съёмных зубных протезов пациентов на этапах проведения ортопедической реабилитации. *Успехи медицинской микологии*. 2023; 24: 174-7.
15. Чепуркова О.А., Чеснокова М.Г., Недосеко В.Б. Выбор антимикотических препаратов, используемых в комплексном лечении хронического генерализованного пародонтита, осложненного дрожжеподобными грибами рода *Candida* spp. *Клиническая стоматология*. 2008; 1(45): 32-5.
16. Чепуркова О. А., Чеснокова М. Г., Недосеко В. Б., Миронов А. Ю. Кандида-ассоциированный пародонтит. Диагностика, лечение. Омск: Вариант-Омск; 2012.
17. Миронов А.Ю., Шепелин И.А. Биоплёнки: Справочник бактериолога. М.: ООО «Типография-Копиринг»; 2021.
18. Харсеева Г. Г., Фролова Я. Н., Миронов А. Ю. Биоплёнки патогенных бактерий: биологические свойства и роль в хронизации инфекционного процесса. *Успехи современной биологии*. 2015; 135(4): 346-54.
19. Чесноков В.А., Чеснокова М.Г. Микобиота слизистой оболочки полости рта и поверхности съёмных акриловых пластиночных протезов при ортопедической реабилитации. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2016;61(2): 126-8.
20. Чеснокова М.Г., Чесноков В.А., Миронов А.Ю. Применение сканирующей электронной микроскопии с целью изучения биоплёнок *Candida albicans* на поверхности базисных пластмасс съёмных ортопедических конструкций. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2019; 64(5): 308-13.
21. Чеснокова М.Г., Чесноков В.А., Миронов А.Ю., Блесман А.И., Полонянкин Д.А. Анализ микрорельефа биоплёнки грибов *Candida albicans* базисных пластмасс методом лазерной модуляционной интерференционной микроскопии. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2022; 67(7): 407-13.
22. Чесноков В.А., Чеснокова М.Г. Микобиота слизистой оболочки полости рта и поверхности съёмных акриловых пластиночных протезов при ортопедической реабилитации. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2016;61(2): 126-8. (in Russian)
23. Chesnokov V.A., Chesnokova M.G., Mironov A.Yu. Mycobiota of dental plaque in children with dental anomalies during orthodontic treatment. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2023; 68(4): 237-42. (in Russian)
24. Fangtham M., Magder L.S., Petri M.A. Oral candidiasis in systemic lupus erythematosus. *Lupus*. 2014; 23: 684-90.
25. Sharon V., Fazel N. Oral candidiasis and angular cheilitis. *Dermatologic Therapy*. 2010; 23(3): 230-42.
26. Rodrigues C. F., Černáková L. Farnesol and tyrosol: secondary metabolites with a crucial quorum-sensing role in *Candida* biofilm development. *Genes*. 2020; 11(4): 444.
27. Masuoka J, Hazen KC. Differences in the acid-labile component of *Candida albicans* mannan from hydrophobic and hydrophilic yeast cells. *Glycobiology*. 1999; 9(11): 1281-6.
28. Cavalheiro M., Teixeira M. C. *Candida* biofilms: threats, challenges, and promising strategies. *Frontiers in medicine*. 2018; 5: 28.
29. Babich V.V., Bystrova Yu.A. Features of orthopedic treatment in complete absence of teeth. *Rossiyskiy stomatologicheskii zhurnal*. 2021; 25(3): 247-52. (in Russian)
30. Chesnokov V.A., Chesnokova M.G., Mironov A.Yu., Turchaninov D.V. Bayesian approaches to identifying the fungi *Candida albicans* in the oral mucosa at the stages of orthopedic rehabilitation. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2023; 68(12): 744-50. (in Russian)
31. Sadykov M.I., Bykova Yu.V. Optimization of orthopedic treatment of patients with thinned mucous membrane of the edentulous mandible. *The Scientific Heritage*. 2021; 81-2(81): 50-2. (in Russian)
32. Koshelev K.A., Evstifeeva E.A., Belousov N.N., Filippchenkova S.I., Murashova L.A. Long-term results of dental orthopedic treatment in terms of change. *Problemy stomatologii*. 2019; 15(3): 152-7. (in Russian)
33. Chesnokova M.G., Chesnokov V.A., Mironov A.Yu. Analysis of the level of orthopedic rehabilitation when studying the microbiome and assessing the degree of fixation of removable laminar dentures. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2022; 67(10): 588-93. (in Russian)
34. Chesnokova M.G., Chesnokov V.A., Mironov A.Yu. Species spectrum of the surface microbiome of removable dentures of patients at the stages of orthopedic rehabilitation. *Uspekhi meditsinskoj mikologii*. 2023; 24: 174-7. (in Russian)
35. Chepurkova O.A., Chesnokova M.G., Nedoseko V.B. Selection of antimycotic drugs used in the complex treatment of chronic generalized periodontitis complicated by yeast-like fungi of the genus *Candida* spp. *Klinicheskaya stomatologiya*. 2008; 1(45): 32-5. (in Russian)
36. Chepurkova O.A., Chesnokova M.G., Nedoseko V.B., Mironov A.Yu. *Candida* associated parodontitis. Diagnostics. Treatment. Омск: Variant-Omsk; 2012. (in Russian)
37. Mironov A.Yu., Shepelin I.A. Biofilms: A Bacteriologist's Handbook. Moscow: Tipografiya-Kopiring; 2021. (in Russian)
38. Kharseeva G.G., Frolova Ya.N., Mironov A.Yu. Biofilms of pathogenic bacteria: biological properties and role in the chronicity of the infectious process. *Uspekhi sovremennoy biologii*. 2015; 135(4): 346-54. (in Russian)
39. Chesnokov V.A., Chesnokova M.G. Mycobiota of the oral mucosa and the surface of removable acrylic laminar prostheses for orthopedic rehabilitation. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2016; 61(2): 126-8. (in Russian)
40. Chesnokova M.G., Chesnokov V.A., Mironov A.Yu. Application of scanning electron microscopy to study the biofilms of *Candida albicans* on the surface of base plastics of removable orthopedic structures. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2019; 64(5): 308-13. (in Russian)
41. Chesnokova M.G., Chesnokov V.A., Mironov A.Yu., Blesman A.I., Polonyankin D.A. Analysis of the microrelief of the *Candida albicans* biofilm of base plastics using laser modulation interference microscopy. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2022; 67(7): 407-13. (in Russian)

REFERENCES

1. Chesnokova M.G., Chesnokov V.A., Mironov A.Yu. Evaluation of the biofilm surface of clinical strains of yeast-like fungi on dentures using scanning electron microscopy and laser interference microscopy. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2024; 69 (6): 278-85. (in Russian)
2. Chesnokov V.A., Chesnokova M.G., Mironov A.Yu., Turchaninov D.V., Kriga A.S. Bayesian approaches to the determination of cariogenic streptococci in dental plaque in children with distal occlusion during orthodontic treatment. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2024; 69 (12): 693-699. (in Russian)

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2024

Аркатова Е.А.¹, Летяева О.И.², Сидоренко О.А.¹

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ВИДОВОГО И КОЛИЧЕСТВЕННОГО СОСТАВА МИКРОБИОТЫ КОЖИ ЛИЦА У ЗДОРОВЫХ ЖЕНЩИН



¹ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, 344022, Ростов-на-Дону, Россия;

²ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, 454092, Челябинск, Россия

Уникальная структура кожи обуславливает не только морфофункциональные особенности, но и состояние микробиоценоза. Отсутствие единого подхода к оценке состава микробиоты у здоровых лиц определило цель настоящего исследования - проведение сравнительного анализа видового и количественного состава микробиоты с поверхности здоровой кожи лица и более глубоких слоёв эпидермиса, дермы и сально-волосяного аппарата кожи.

Материал и методы. Исследованы видовой и количественный состав микробиоты в образцах биоматериала, полученных при обследовании женщин (n=31) репродуктивного возраста 18-45 лет с клинически здоровой кожей лица двумя способами взятия материала: тампоном с поверхности кожи и инвазивным методом (панч-биопсия). Анализ полученных образцов биоматериала проводили методом газовой хроматографии — масс-спектрометрии (ГХ-МС).

Результаты. Сравнительный анализ состава микробиоты с поверхности здоровой кожи лица и более глубоких слоёв эпидермиса, дермы и сально-волосяного аппарата кожи выявил существенные различия для большинства (34) из определяемых микроорганизмов: значения проб тампоном превышают соответствующие значения для способа панч-биопсии, за исключением *Fusobacterium/Haemophilus*, *Bifidobacterium* spp, *Eubacterium* spp, *Nocardia* spp. и *Propionibacterium freudenreichii*, для которых наблюдается противоположная ситуация. Установлены возрастные отличия в составе микробиоты глубоких слоёв кожи здоровых женщин репродуктивного возраста.

Заключение. Дальнейшее исследование и расшифровка микробиоты глубоких слоёв кожи будет способствовать более эффективной диагностике и выявлению связей между состоянием микробиоты и возникновением ряда кожных заболеваний, а также поможет в разработке более эффективных методов терапии.

Ключевые слова: микробиота; микробиом кожи; заболевания кожи; патогенность; газовая хроматография - масс-спектрометрия; микробные маркеры

Для цитирования: Аркатова Е.А., Летяева О.И., Сидоренко О.А. Сравнительный анализ видового и количественного состава микробиоты кожи лица у здоровых женщин. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2024; 69 (12): 700-706.

DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2024-69-12-700-706>

EDN: DABXPZ

Для корреспонденции: Аркатова Екатерина Анатольевна, ассистент кафедры кожных и венерических болезней; e-mail: arcatova@gmail.com

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 16.09.2024

Принята к печати 30.09.2024

Опубликовано 20.11.2024

Arkatova E.A.¹, Letyaeva O.I.², Sidorenko O.A.¹

COMPARATIVE ANALYSIS OF THE QUALITATIVE COMPOSITION OF FACIAL SKIN MICROBIOTA IN HEALTHY WOMEN

¹The Rostov State Medical University, 344022, Rostov-on-Don, Russia;

²South Ural State Medical University, 454092, Chelyabinsk, Russia

The unique structure of the skin determines not only its morphofunctional characteristics but also the condition of the microbiocenosis. The lack of a unified approach to assessing the qualitative and quantitative composition of the microbiota in healthy individuals has defined the objective of the present study - to conduct a comparative analysis of the qualitative and quantitative composition of the microbiota from the surface of healthy facial skin, as well as from the deeper layers of the epidermis, dermis, and sebaceous-hair apparatus of the skin.

Material and methods. The specific and quantitative composition of the microbiota in samples of biomaterial obtained during the examination of women (31 people) of reproductive age 18-45 years old with clinically healthy facial skin were studied using two methods of collecting material: a swab from the skin surface and an invasive method (punch biopsy). The analysis of the obtained biomaterial samples was carried out using gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS).

Results. A comparative analysis of the composition of the microbiota from the surface of healthy facial skin and the deeper layers of the epidermis, dermis and pilosebaceous apparatus of the skin revealed significant differences for the majority (34) of the identified microorganisms: the values of swab samples exceed the corresponding values for the punch biopsy method, with the exception of *Fusobacterium/Haemophilus*, *Bifidobacterium* spp, *Eubacterium* spp, *Nocardia* spp and *Propionibacterium freudenreichii*, for which the opposite situation is observed. Age-related differences in the composition of the microbiota of the deep layers of the skin of healthy women of reproductive age have been established.

Conclusions. Further research and decoding of the microbiota of the deep layers of the skin will contribute to a more effective diagnostics and identification of links between the state of the microbiota and the occurrence of a number of skin diseases, as well as help in the development of more effective therapeutic methods.

Key words: *microbiota; skin microbiome; skin diseases; pathogenicity; gas chromatography - mass spectrometry; microbial markers*

For citation: Arkatova E.A., Letyaeva O.I., Sidorenko O.A. Comparative analysis of the qualitative and quantitative composition of facial skin microbiota in healthy women. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2024; 69 (12): 700-706 (in Russ.).

DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2024-69-12-700-706>

EDN: DABXPZ

For correspondence: *Arkatova Ekaterina Anatolevna*, assistant of the Department of Skin and Venereal Diseases; e-mail: arkatova@gmail.com

Information about authors:

Arkatova E.A., <https://orcid.org/0000-0001-6966-4153>;

Letyaeva O.I., <https://orcid.org/0000-0002-9085-6229>;

Sidorenko O.A., <https://orcid.org/0000-0002-7387-2497>;

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

Financing. *The study had no sponsor support.*

Received 16.09.2024

Accepted 30.09.2024

Published 20.11.2024

Организм человека колонизируют триллионы микроорганизмов, которые выстраивают взаимоотношения как между различными видами, так и с организмом хозяина [1-3]. Микроорганизмы, колонизирующие кожу, включают бактерии, грибы, вирусы и простейших [4]. В коже обитает не менее 19 основных филов, из которых доминирующими являются *Actinobacteria* (51,8%), *Firmicutes* (24,4%), *Proteobacteria* (16,5%), *Bacteroidetes* (6,3%) [5]. Оценка микробиоценозов современными лабораторными, физико-химическими и молекулярно-генетическими методами приобрела популярность у исследователей [6,7]. В частности, все большее применение в научно-исследовательских, клинических, бактериологических, и других лабораториях находит метод газовой хроматографии и хромато-масс-спектрометрии [8-11]. Благодаря использованию этих методов стал возможен более детальный анализ микробиоты кожи и её роли в формировании дерматологического здоровья [12,13] и иммунного гомеостаза [14,15]. Вследствие этого современные представления об изменениях в структуре микробного сообщества кожи при атопическом дерматите [16], псориазе [17], акне [18], розацеа [19], себорейном дерматите [20] значительно расширились. Уникальные особенности кожи, её стратификация обуславливают формирование особых условий при исследовании микробиоты, в особенности в определённых анатомических областях, таких как лицо [21]. Микробиом кожи широко представлен на её поверхности, контактирующей с внешней средой, а также в более глубоких слоях эпидермиса, дермы и придатков кожи (волосяные фолликулы, сальные и потовые железы) [22,23]. Состав поверхностной эпидермальной микробиоты находится под влиянием воздействия окружающей среды и экспозом-факторов (косметика, стресс, курение, воздействие ультрафиолета, а также питание и загрязнение окружающей среды) [24,25] и менее стабилен, чем состав дермального сообщества. В настоящее время наиболее часто биоматериал для исследования микробиоты кожи человека забирают тампоном с её поверхности [26-29]. Однако это позволяет собрать только поверхностную эпидермальную микробиоту [30]. Существенным недостатком этого способа взятия биоматериала является неспособность охватить

весь видовой спектр микробиоты кожи ввиду невозможности доступа к более глубоким слоям эпидермиса, дермы, волосяных фолликулов, сальных и потовых желез. Это не позволяет в полной мере оценить спектр микрофлоры, колонизирующей кожные покровы человека. Более точно изучить микробиом кожи возможно при помощи биопсии, но в связи с инвазивностью этот метод используется редко [31]. Отмечены отличия в составе микробиома в образцах биоматериала разных слоёв кожи, полученных с помощью тампонов и биопсий у одного и того же человека [32]. При секвенировании ДНК дермы и дермальной жировой ткани обнаружено разнообразное и частично различное микробное сообщество в различных слоях кожи [33]. С учётом этих данных, вопрос изучения микробиоты всех слоёв кожи различных анатомических зон как у здоровых людей, так и пациентов с кожными заболеваниями остаётся малоизученным и актуальным. Это свидетельствует о значимости исследования микробиома кожи при использовании различных методов взятия биоматериала.

Цель исследования - сравнительный анализ видового и количественного состава микробиоты с поверхности и более глубоких слоёв эпидермиса, дермы и сально-волосяного аппарата кожи лица здоровых женщин.

Материал и методы. Исследовали образцы биоматериала, полученные при обследовании женщин ($n=31$) репродуктивного возраста 18-45 лет с клинически здоровой кожей лица за период 2017-2023 годов. Все женщины в течение минимум трёх дней до проведения исследования не использовали каких-либо топических средств и не были подвержены антимикробной терапии в течение последних 6 месяцев. Имеется информированное согласие всех обследованных женщин по форме, утверждённой локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» (Протокол №18/17 от 26.11.2017 г.). Критерии невключения в исследование: наличие клинических проявлений дерматозов в области лица на момент исследования, а также сведений о вышеупомянутых дерматозах в анамнезе, нежелание участвовать в исследовании. Критерии исключения из исследования: желание прекратить участие в исследовании.

Для сравнения видового и количественного состава

ва микробиоты поверхностных и более глубоких слоёв эпидермиса, дермы и сально-волосного аппарата кожи лица у всех женщин брали биоматериал из околоушно-жевательной области лица. Применяли два способа взятия материала: тампоном с поверхности кожи и инвазивным методом (панч-биопсия). В ходе исследования получено и проанализировано 62 образца кожи: 31 образец – тампоном с поверхности кожи лица, 31 – биоптат кожи лица более глубоких слоёв эпидермиса, дермы и сально-волосного аппарата кожи.

Перед проведением отбора проб за несколько (минимум трое) суток женщины не наносили на область лица любые наружные лечебные и косметические средства, а непосредственно перед взятием материала не мыли лицо в течение 2-3 часов. Производили взятие биоматериала стерильным тампоном несколькими вращательными движениями таким образом, чтобы на тампоне с большой долей вероятности остался исследуемый материал (кожное сало, чешуйки эпидермиса) и помещали в эппендорфы без консерванта. Далее брали биоптат кожи лица с помощью стерильного одноразового устройства для биопсии кожи (Derma-punch Sterylab, Италия) диаметром 2 мм с того же участка, погружаясь на глубину 2-4 мм (снимали до жирового слоя). Полученные образцы кожи помещали в эппендорфы без консерванта. Все образцы замораживали в морозильной камере при $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ $-23\text{ }^{\circ}\text{C}$ и доставляли в лабораторию с соблюдением температурного режима.

Идентификацию микроорганизмов в биоматериале проводили с помощью газовой хроматографии - масс-спектрометрии (ГХ-МС, разрешение на применение новой медицинской технологии ФС № 2010/038 от 24.02.10, выдано Федеральной службой по надзору в сфере здравоохранения и социального развития). Использован газовый хроматограф Agilent Technologies 6890 N (США). Анализ и обоснование принадлежности молекулярных маркёров к конкретным видам микроорганизмов осуществляли по методике «Оценка микробиологического статуса человека методом хроматомасс-спектрометрии», утверждённой Росздравнадзором № 2010/038 от 24.02.2010 г. с внесёнными изменениями для кожных проб.

Статистический анализ данных проводили с помощью программного пакета Statistica 12 (StatSoft). Сравнительный анализ проведён с использованием W -критерия Вилкоксона для зависимых переменных. Для анализа в подгруппах по возрасту применялся критерий Манна-Уитни для независимых переменных.

Результаты. При исследовании микробиоты кожи лица здоровых женщин установлено, что видовое разнообразие микроорганизмов бактериальной, вирусной и грибковой природы шире представлено в поверхностных слоях кожи лица (44 вида), чем в глубоких (36 наименований) (см. таблицу). При этом *Helicobacter pylori*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Peptostreptococcus anaerobius* 17642, бактерии родов *Acinetobacter*, *Bacteroides*, *Prevotella*, *Streptococcus*, *Porphyromonas*, а также вирус Эпштейна-Барр обнаруживали только на поверхности эпидермиса. Бактерии родов *Bifidobacterium*, *Nocardia*, *Eubacterium* выявляли только в глубоких слоях кожи. Следует отметить, что 10 видов микроорганизмов не определены ни на поверхности, ни в глубине кожи здоровых женщин.

Среди микроорганизмов, встречающихся как в поверхностных, так и глубоких слоях кожи здоровых женщин, обсеменённость поверхности кожных покровов бактериями родов *Actinomyces*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Propionibacterium*, *Propionibacterium*, *Rhodococcus*, *Streptomyces*, *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Peptostreptococcus*, *Propionibacterium*, *Micromycetes* (ситостерол), а также вирусом *Herpes simplex* существенно превышала таковую ($p < 0,01$, $p < 0,05$) в более глубоких слоях эпидермиса, дермы, волосных фолликулов, сальных и потовых желёз. Однако численность таких микроорганизмов как *Propionibacterium freudenreichii* и *Fusobacterium/Haemophylus*, напротив, в поверхностных слоях кожи значительно ниже ($p < 0,01$, $p < 0,05$), чем в глубоких. Ряд представителей указанных родов бактерий в глубоких слоях кожи не определены. Микроорганизмы только трёх родов *Bifidobacterium*, *Eubacterium* и *Nocardia* отсутствовали на поверхности кожных покровов, но выявлялись лишь в более глубоких слоях кожи.

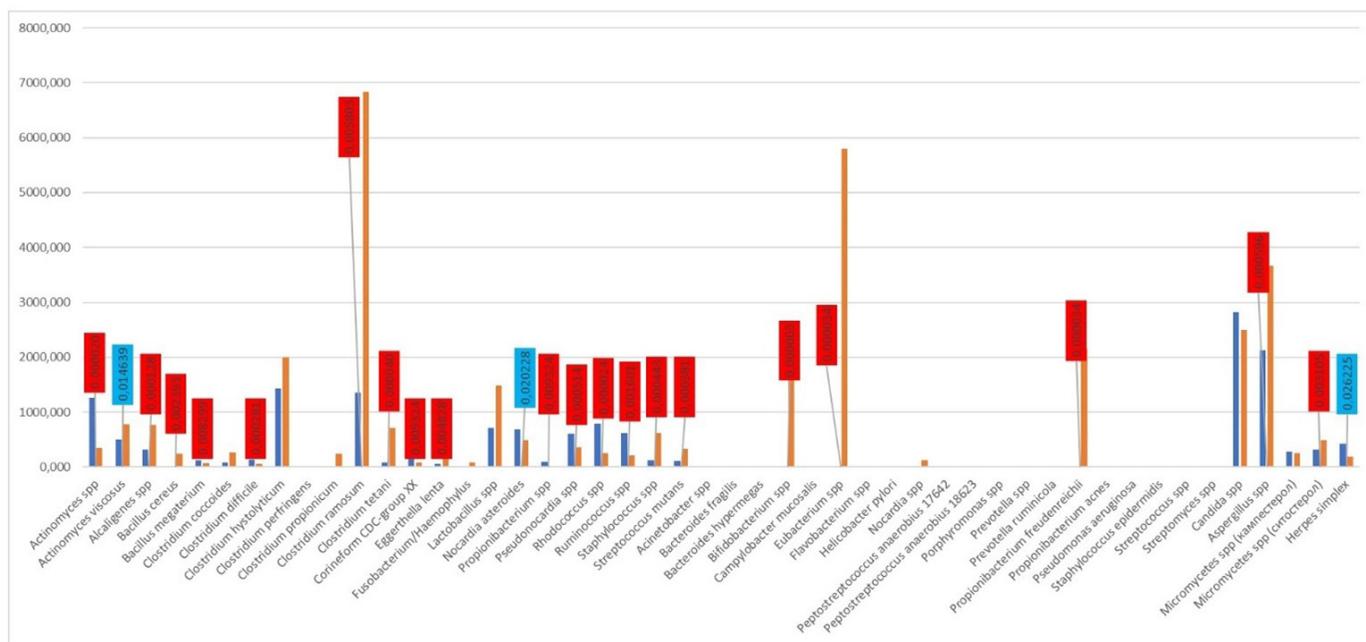
При проведении сравнительного анализа состава микробиоты глубоких слоёв кожи лица здоровых женщин различных возрастов обнаружено (см. рисунок), что у женщин возрастной группы до 24-х лет включительно выявляли значительно чаще ($p < 0,01$, $p < 0,05$) *Actinomyces* spp., *Bacillus megaterium*, *Clostridium difficile*, *Corineform CDC-group XX*, *Nocardia asteroides*, *Propionibacterium* spp., *Pseudonocardia* spp., *Rhodococcus* spp., *Ruminococcus* spp., *Candida* spp., *Herpes simplex*. У пациенток в возрасте 25 лет и старше чаще обнаруживали *Actinomyces viscosus*, *Alcaligenes* spp., *Bacillus cereus*, *Clostridium coccoides*, *Clostridium histolyticum*, *Clostridium propionicum*, *Clostridium ramosum*, *Clostridium tetani*, *Eigertella lenta*, *fusobacterium haemophylus*, *Lactobacillus* spp., *Staphylococcus* spp., *Streptococcus mutans*, *Eubacterium* spp., *Bifidobacterium* spp., *Propionibacterium freudenreichii*, *Aspergillus* spp., *Micromycetes* spp. (кустоцетол). Такие микроорганизмы как *Clostridium propionicum*, *Fusobacterium/haemophylus*, *Nocardia* spp. обнаруживали только у женщин 25 лет и старше.

Обсуждение. Лишь в немногих исследованиях изучено распределение микробиоты в образцах биопсии кожи на всю толщину [30] или субэпидермально [22,32,33]. Предыдущие попытки проанализировать образцы биопсии кожи с помощью секвенирования 16S рРНК обнаружили схожие микробные профили для эпидермальных и дермальных микробных сообществ кожи, а также доминирование протеобактерий в микробиоте кожи на всех глубинах отбора проб [30]. Отмечено разнообразное и частично отличное микробное сообщество в каждом отделе кожи, высокие доли *Proteobacteria*, включая *Burkholderiales*, *Pseudomonadales* и *Actinobacteria*. Однако установлено, что доля *Firmicutes* ниже в глубоких слоях кожи лица, чем поверхностных [22]. При отборе биоматериала с поверхности кожных покровов обнаружено широкое родовое разнообразие микроорганизмов. При исследовании биопсийного материала глубоких слоёв кожи *Clostridiales* и *Bacteroidetes* выявляли чаще, чем на поверхности кожи [32]. Состав и разнообразие бактериальных сообществ дермального и эпидермального компартов значительно отличались между собой

Микрофлора поверхностных и глубоких слоёв кожи лица здоровых женщин

| № п/п | Микроорганизмы | Количество микроорганизмов, изолированных из различных слоёв кожи (М±m, кл/гх10 ⁵) | | Уровень значимости отличий |
|-------|--|--|-----------|----------------------------|
| | | поверхностные | глубокие | |
| 1 | <i>Actinomyces</i> spp. | 1437±590 | 761±105 | 0,007259** |
| 2 | <i>Bacillus cereus</i> | 414±177 | 129±81 | 0,000021** |
| 3 | <i>Bacillus megaterium</i> | 277±100 | 94±32 | 0,000698** |
| 4 | <i>Clostridium coccoides</i> | 460±178 | 182±57 | 0,000362** |
| 5 | <i>Clostridium difficile</i> | 449±159 | 91±28 | 0,000054** |
| 6 | <i>Clostridium hystolyticum</i> | 2396±395 | 1738±261 | 0,009689** |
| 7 | <i>Clostridium perfringens</i> | 179±87 | 1,0±0,7 | 0,000001** |
| 8 | <i>Clostridium propionicum</i> | 246±37 | 135±70 | 0,000021** |
| 9 | <i>Clostridium ramosum</i> | 9153±3425 | 4359±1148 | 0,006079** |
| 10 | <i>Clostridium tetani</i> | 10506±5097 | 432±125 | 0,000003** |
| 11 | <i>Propionibacterium</i> spp. | 100±16 | 55±13 | 0,002310** |
| 12 | <i>Rhodococcus</i> spp. | 1307±427 | 497±64 | 0,000311** |
| 13 | <i>Streptococcus mutans</i> | 778±355 | 234±37 | 0,000189** |
| 14 | <i>Peptostreptococcus anaerobius 18623</i> | 477±136 | 2,0±0,2 | 0,000001** |
| 15 | <i>Propionibacterium acnes</i> | 58±11 | 0,13±0,09 | 0,000001** |
| 16 | <i>Staphylococcus epidermidis</i> | 69±20 | 12±9 | 0,000021** |
| 17 | <i>Streptomyces</i> spp. | 33±11 | 4,8±2,5 | 0,000021** |
| 18 | <i>Micromyces</i> spp. (цитостерол) | 622±187 | 414±30 | 0,024846* |
| 19 | <i>Herpes simplex</i> | 608±228 | 298±45 | 0,002026** |
| 20 | <i>Lactobacillus</i> spp. | 1259±399 | 1140±183 | 0,327172 |
| 21 | <i>Nocardia asteroides</i> | 673±318 | 580±55 | 0,377862 |
| 22 | <i>Pseudonocardia</i> spp. | 583±278 | 470±116 | 0,101775 |
| 23 | <i>Candida</i> spp. | 3136±1047 | 2645±158 | 0,195883 |
| 24 | <i>Corineform CDC-group XX</i> | 142±18 | 124±31 | 0,116947 |
| 25 | <i>Eggerthella lenta</i> | 153±67 | 133±23 | 0,517836 |
| 26 | <i>Ruminococcus</i> spp. | 532±160 | 401±65 | 0,202744 |
| 27 | <i>Propionibacterium freudenreichii</i> | 552±79 | 1182±256 | 0,046697* |
| 28 | <i>Fusobacterium/Haemophilus</i> | 8,0±3,4 | 49±33 | 0,000021** |
| 29 | <i>Staphylococcus</i> spp. | 398±117 | 401±75 | 0,867708 |
| 30 | <i>Actinomyces viscosus</i> | 594±209 | 657±59 | 0,189194 |
| 31 | <i>Alcaligenes</i> spp. | 418±201 | 562±60 | 0,054801 |
| 32 | <i>Aspergillus</i> spp. | 2961±1421 | 2970±248 | 0,753867 |
| 33 | <i>Micromyces</i> spp. (кампестерол) | 253±113 | 265±23 | 0,550044 |
| 34 | <i>Acinetobacter</i> spp. | 3±1 | 0 | 0,000001** |
| 35 | <i>Bacteroides fragilis</i> | 33±11 | 0 | 0,000001** |
| 36 | <i>Bacteroides hypermegas</i> | 1,0±0,5 | 0 | 0,000060** |
| 37 | <i>Helicobacter pylori</i> | 64±11 | 0 | 0,000001** |
| 38 | <i>Porphyromonas</i> spp. | 2±1 | 0 | 0,000012** |
| 39 | <i>Prevotella</i> spp. | 44±17 | 0 | 0,000001** |
| 40 | <i>Prevotella ruminicola</i> | 46±13 | 0 | 0,000001** |
| 41 | <i>Peptostreptococcus anaerobius 17642</i> | 62±16 | 0 | 0,000001** |
| 42 | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 1,0±0,5 | 0 | 0,000001** |
| 43 | <i>Streptococcus</i> spp. | 488±150 | 0 | 0,000001** |
| 44 | Вирус Эпштейна-Барр | 153±32 | 0 | 0,000001** |
| 45 | <i>Bifidobacterium</i> spp. | 0 | 938±183 | 0,000293** |
| 46 | <i>Eubacterium</i> spp. | 0 | 3183±686 | 0,000655** |
| 47 | <i>Nocardia</i> spp. | 0 | 65±45 | 0,067890 |
| 48 | <i>Campylobacter mucosalis</i> | 0 | 0 | |
| 49 | <i>Flavobacterium</i> spp. | 0 | 0 | |
| 50 | <i>Chlamidia trachomatis</i> | 0 | 0 | |
| 51 | <i>Enterococcus</i> spp. | 0 | 0 | |
| 52 | <i>Kingella</i> spp. | 0 | 0 | |
| 53 | <i>Mycobacterium</i> spp. | 0 | 0 | |
| 54 | <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> | 0 | 0 | |
| 55 | <i>Streptomyces farmamarensis</i> | 0 | 0 | |
| 56 | <i>Enterobacteriaceae</i> | 0 | 0 | |
| 57 | Цитомегаловирус | 0 | 0 | |

Примечание.* - достоверность отличий ($p \leq 0,05$) показателей микрофлоры кожи поверхностных и глубоких слоёв для каждого микроорганизма; ** - достоверность отличий ($p < 0,01$) показателей микрофлоры кожи поверхностных и глубоких слоёв для каждого микроорганизма.



Сравнительный анализ состава микробиоты глубоких слоёв кожи лица здоровых женщин разных возрастных подгрупп (до 24-х лет включительно и 25-ти лет и старше).

По оси абсцисс - наименования микроорганизмов, по оси ординат – количество микроорганизмов (кл/г x10⁵).

Красными флажками отмечены достоверные отличия показателей микробиоты кожи поверхностных и глубоких слоёв для каждого микроорганизма со значимостью 99%, голубыми - с вероятностью 95% ($p \leq 0,05$).

■ - до 24 лет включительно ■ - 25 лет и старше.

[33]. Обнаружена значительно меньшая изменчивость консервативного сообщества дермального компартмента в сравнении с изменчивым сообществом эпидермального компартмента. При этом бактериальное сообщество дермального слоя показало относительную скудность почти во всех таксономических группах. В совокупности эти результаты свидетельствуют о том, что дерма, с её менее сложным и менее изменчивым бактериальным сообществом, колонизирована более специфично [33]. В целом, интерпретация результатов исследований микробиоты кожи и использование этих данных для более глубокого понимания функциональных и механистических свойств микробиоты остается сложной задачей.

По данным исследования микробиоты кожи лица здоровых женщин репродуктивного возраста микробное сообщество поверхностных слоёв кожи значительно отличалось от сообщества у тех же лиц на уровне более глубоких слоёв эпидермиса, дермы и сально-волосяного аппарата кожи с точки зрения обилия, видового разнообразия, равномерности распределения. Эти сведения согласуются с опубликованными ранее результатами [32,33]. Отсутствие многих микроорганизмов и снижение численности для большинства наименований в глубоких слоях кожи свидетельствует о меньшем разнообразии видового и количественного состава глубокой микробиоты кожи в сравнении с её поверхностью. Возможно, что эти различия связаны не только с влиянием экспозом-факторов, но и уровнем эндогенных половых стероидов. Полученные данные расширяют

наши представления о состоянии микробиоценоза кожи лица у здоровых женщин и могут быть использованы при проведении клинической лабораторной диагностики различных заболеваний кожи лица. Однако исследование биопсийного материала связано с определенными сложностями ввиду инвазивности метода, что не позволяет в полной мере использовать его в широкой клинической практике.

Заключение. По результатам сравнительного анализа видового и количественного состава микробиоты поверхностных и более глубоких слоёв кожи здоровых женщин обнаружены достоверные отличия для большинства микроорганизмов. Эти данные позволяют предположить наличие изменений в составе глубокой микробиоты при различных дерматозах лица, с расположением элементов сыпи в более глубоких слоях эпидермиса, дермы и сально-волосяного аппарата. Выявление связей между состоянием микробиоты более глубоких слоёв кожи и возникновением таких заболеваний, как акне, розацеа и др. поможет в разработке более эффективных методов терапии, что имеет важное значение в клинической практике. Исследование микробиоты, колонизирующей эпидермис и более глубокие слои кожи, может быть использовано при проведении клинической лабораторной диагностики заболеваний кожи.

ЛИТЕРАТУРА (П.П. 1-5, 12-24, 26-30, 32-33
 СМ. REFERENCES)

6. Самойлова М.В., Косырева Т.Ф., Анурова А.Е., Абрамович Р.А., Миронов А.Ю., Жиленкова О.Г., Затевалов А.М., Воропаева Е.А. Оценка микробиоценоза полости рта на основе гх-мс-определения плазмалогена и бактериального эндотоксина в ротовой жидкости *Клиническая лабораторная диагностика*. 2019; 64 (3): 186-92. DOI: 10.18821/0869-2084-2019-64-186-192.
7. Платонова А.Г., Осипов Г.А., Бойко Н.Б., Кириллова Н.В., Родионов Г.Г. Хромато-масс-спектрометрическое исследование микробных жирных кислот в биологических жидкостях человека и их клиническая значимость. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2015; 12: 46-55.
8. Миронов А.Ю. Газовая хроматография и масс-спектрометрия в диагностике анаэробов. *Альманах клинической медицины*. 2012; 26: 45-51.
9. Истратов В.Г., Миронов А.Ю. Современные методы хроматографического и масс-спектрометрического исследования анаэробной инфекции. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2001; 11: 36.
10. Истратов В.Г., Миронов А.Ю., Осман Х.А. Новые методические подходы к диагностике септических состояний с помощью методов газовой хроматографии и хромато-масс-спектрометрии. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2004; 9: 65.
11. Воробьев А.А., Миронов А.Ю., Истратов В. Г., Осман К.А. Оценка диагностических критериев сифилитической инфекции методами газовой хроматографии и масс-спектрометрии. *Вестник РАМН*. 2005; 2: 22-26.
25. Лягяева О.И. Микробиота кожи с точки зрения фундаментальной медицины. *Эффективная фармакотерапия*. 2020; 27: 22-7. DOI: 10.33978/2307-3586-2020-16-27-22-2.
31. Аравийская Е.Р., Соколовский Е.В. Микробиом: новая эра в изучении здоровой и патологически измененной кожи. *Вестник дерматологии и венерологии*. 2016; 3: 102-9. DOI: 10.1186/gb-2012-13-11-r101.
12. Harris-Tryon T.A., Grice E.A. Microbiota and maintenance of skin barrier function. *Science*. 2022; 376: 940-5. DOI: 10.1126/science.abo0693.
13. Zheng Y., Hunt R.L., Villaruz A.E., Fisher E.L., Liu R., Liu Q., et al. Commensal *Staphylococcus epidermidis* contributes to skin barrier homeostasis by generating protective ceramides. *Cell Host Microbe*. 2022; 30: 301. DOI: 10.1016/j.chom.2022.01.004.
14. Belkaid Y., Harrison O.J. Homeostatic immunity and the microbiota. *Immunity*. 2017; 46 (4): 562-76. DOI: 10.1016/j.immuni.2017.04.008.
15. Logan A.C., Jacka F.N., Prescott S.L. Immune-microbiota interactions: dysbiosis as a global health issue. *Curr. Allergy Asthma Rep*. 2016; 16:13. DOI: 10.1007/s11882-015-0590-5.
16. Edslev S.M., Agner T., Andersen P.S. Skin microbiome in atopic dermatitis. *Acta dermato-venereologica*. 2020; 100 (12): 358-66. DOI: 10.2340/00015555-3514.
17. Langan E.A., Kunstner A., Miodovnik M., Zillikens D., Thaçi D., Baines J.F., et al. Combined culture and metagenomic analyses reveal significant shifts in the composition of the cutaneous microbiome in psoriasis. *Br. J. Dermatol*. 2019 Dec; 181(6): 1254-64. DOI: 10.1111/bjd.17989.
18. Barnard E., Shi B., Kang D., Craft N., Li H. The balance of metagenomic elements shapes the skin microbiome in acne and health. *Sci Rep*. 2016; 6. DOI: 10.1038/srep39491.
19. Rainer B.M., Thompson K.G., Antonescu C., Florea L., Mongodin E.F., Bui J., et al. Characterization and analysis of the skin microbiota in rosacea: a case-control study. *Am. J. Clin. Dermatol*. 2019. DOI: 10.1007/s40257-019-00471-5.
20. Park T., Kim H.J., Myeong N.R., Lee H.G., Kwack I., Lee et al. Collapse of human scalp microbiome network in dandruff and seborrheic dermatitis. *Exp. Dermatol*. 2017; 26: 835-8. DOI: 10.1111/exd.13293.
21. Findley K., Oh J., Yang J., Conlan S., Deming C., Meyer J.A., et al. Topographic diversity of fungal and bacterial communities in human skin. *Nature*. 2013; 498: 367-70. DOI: 10.1038/nature12171.
22. Nakatsuji T., Chiang H.I., Jiang S.B., Nagarajan H., Zengler K., Gallo R.L. The microbiome extends to subepidermal compartments of normal skin. *Nat. Commun*. 2013; 4:1431. DOI: 10.1038/ncomms2441.
23. Lousada M.B., Edelkamp J., Lachnit T., Fehrholz M., Jimenez F., Paus R. Laser capture microdissection as a method for investigating the human hair follicle microbiome reveals region-specific differences in the bacteriome profile. *BMC Res. Notes*. 2023; 16, 29. DOI: 10.1186/s13104-023-06302-5.
24. Dréno B., Bettoli V., Araviiskaia E. The influence of exposure on acne. *Eur. Acad. Dermatol. Venereol*. 2018; 32(5): 812-9. DOI: 10.1111/jdv.14820.
25. Letyaeva O.I. Skin microbiota from the point of view of fundamental medicine. *Эффективная фармакотерапия*. 2020; 27: 22-7. DOI: 10.33978/2307-3586-2020-16-27-22-27. (in Russian)
26. Costello E.K., Lauber C.L., Hamady M., Fierer N., Gordon J.I., Knight R. Bacterial community variation in human body habitats across space and time. *Science*. 2009; 326(5960): 1694-7. DOI: 10.1126/science.1177486.
27. Gao Z., Perez-Perez G.I., Chen Y., Blaser M.J. Quantitation of major human cutaneous bacterial and fungal populations. *Journal of clinical microbiology*. 2010; 48(10): 3575-81. DOI: 10.1128/JCM.00597-10.
28. Zeeuwen P.L., Boekhorst J., van den Bogaard E.H., de Koning H.D., van de Kerkhof P.M., Saulnier D.M., et al. Microbiome dynamics of human epidermis following skin barrier disruption. *Genome biology*. 2012; (13): 1-18. DOI: 10.1186/gb-2012-13-11-r101.
29. Oh J., Byrd A.L., Deming C., Conlan S., Kong H.H., Segre J.A. Biogeography and individuality shape function in the human skin metagenome. *Nature*. 2014; 514 (7520): 59-64. DOI: 10.1038/nature13786.
30. Grice E.A., Kong H.H., Renaud G., Young A.C., Bouffard G.G., Blakesley R.W., et al. A diversity profile of the human skin microbiota. *Genome research*. 2008; 18(7): 1043-50. DOI: 10.1101/gr.075549.107.
31. Araviyskaya E.R., Sokolovskiy E.V. Microbiome: A new era in the study of healthy and pathologically altered skin. *Вестник дерматологии и венерологии*. 2016; 3: 102-9. DOI: 10.1186/gb-2012-13-11-r101. (in Russian)
32. Prast-Nielsen S., Tobin A.M., Adamzik K., Powles A., Hugerth L.W., Sweeney C., et al. Investigation of the skin microbiome: swabs vs. bi-

REFERENCES

1. El-Sayed A., Aleya L., Kamel M. Microbiota and epigenetics: Promising therapeutic approaches? *Environ. Sci. Pollut. Res. Int*. 2021; 28:49343-61. DOI: 10.1007/s11356-021-15623-6.
2. El-Sayed A., Aleya L., Kamel M. Microbiota's role in health and diseases. *Environ. Sci. Pollut. Res*. 2021; 27:36967-83. DOI: 10.1007/s11356-021-14593-z.
3. El-Sayed A., Aleya L., Kamel M. The link among microbiota, epigenetics, and disease development. *Environ. Sci. Pollut. Res*. 2021; 28:28926-64. DOI: 10.1007/s11356-021-13862-1.
4. Byrd A., Belkaid Y., Segre J. The human skin microbiome. *Nat. Rev. Microbiol*. 2018; 16: 143-55. DOI: 10.1038/nrmicro.2017.157.
5. Cundell A.M. Microbial ecology of the human skin. *Microb. Ecol*. 2018; 76:113-120. DOI: 10.1007/s00248-016-0789-6.
6. Samoylova M.V., Kosyрева T.F., Anurova A.E., Abramovich R.A., Mironov A.Yu., Zhilenkova O.G., et al. Oral cavity microbiocenosis assessment on the basis of bacterial endotoxin and plasmalogens in a saliva by method gas-liquid chromatography-mass spectrometry. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2019; 64 (3): 186-92. DOI: 10.18821/0869-2084-2019-64-3-186-192. (in Russian)
7. Platonova A.G., Osipov G.A., Boiko N.B., Kirillova N.V., Rodionov G.G. The chromatography-mass spectrometry analysis of microbial fatty acids in human biological fluids and their clinical significance. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2015; 60(12): 46-55. (in Russian)
8. Mironov A.Yu. Gas chromatography and mass spectrometry in diagnosis anaerobes. *Al'manakh klinicheskoy meditsiny*. 2012; 26: 45-51. (in Russian)
9. Istratov V.G., Mironov A.Yu. Modern methods of chromatographic and mass-spectrometric study of anaerobic infection. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2001; 11: 36. (in Russian)
10. Istratov V.G., Mironov A.Yu., Osman H.A. New methodological approaches to the diagnosis of septic conditions using gas chromatography and chromatograph mass spectrometry. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2004; 9: 65. (in Russian)
11. Vorob'yov A.A., Mironov A.Yu., Istratov V.G., Osman K.A. Evaluation of diagnostic criteria for syphilitic infection using gas chromatography and mass spectrometry. *Vestnik Rossiyskoy akademii meditsinskikh nauk*. 2005; 2: 22-6. (in Russian)

MICROBIOLOGY

- opsies. *Br. J. Dermatol.* 2019; 181(3): 572-9. DOI: 10.1111/bjd.17691.
33. Bay L., Barnes C.J., Fritz B.G., Thorsen J., Restrup M.E.M., Rasmussen L., et al. Universal dermal microbiome in human skin. *mBio.* 2020; 11(1): e02945-19. DOI: 10.1128/mBio.02945-19.

ИФА-D-димер

Набор реагентов предназначен для количественного определения концентрации D-димера в плазме крови человека методом иммуноферментного анализа (ИФА) на твердофазном носителе при "ручной" постановке или с использованием анализаторов



Все реагенты
готовы к использованию



Цветовая индикация
калибраторов



Срок годности
2 года

Для ручной постановки

Кат. № 61.10.1

Для ИФА-анализаторов

Кат. № 61.10.2



г. Электрогорск
ул. Буденного, д.1



ekolab.ru



ekolab-sbyt@mail.ru
8-800-333-33-47

БИОТИН +

РЕКЛАМА

гиалуроновая кислота + витамин С

Комплекс для кожи,
волос и ногтей



от выпадения
волос



для улучшения
состояния кожи



для укрепления
ногтей

www.ekolab.ru

доступно
на маркетплейсах



БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНАЯ ДОБАВКА. НЕ ЯВЛЯЕТСЯ ЛЕКАРСТВЕННЫМ СРЕДСТВОМ.