

ООО Издательская группа
«Медиа Сфера»

Акционерное общество
«ЭКОлаб»

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

КЛИНИЧЕСКАЯ ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА

Том 70
7 • 2025

Russian Clinical Laboratory Diagnostics

ЕЖЕМЕСЯЧНЫЙ

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ

ЖУРНАЛ

ИЮЛЬ

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:
+7-(908)-763-75-80
E-mail: klinlab@internet.ru

Зав. редакцией:
Л.А.Шанкина

Технический редактор:
Ч.А.Сафаров

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

Сдано в набор 18.06.2025
Подписано в печать 25.06.2025

Формат 60 × 88½
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 Российского
индекса научного цитирования (РИНЦ) и в
следующих международных информационно-
справочных изданиях: Abstracts of Micology,
Adis International Ltd Reactions Weekly, Chemical
Abstracts (Print), Chemical Titles, EBCOhost Biological
Abstracts (Online), Elsevier BV EMBASE, Elsevier
BV Scopus, Excerpta Medica, Abstract Journals,
Index Medicus, Index to Dental Literature, OCLC
Article First, Reactions Weekly (Print), Thomson Reuters
Biological Abstracts (Online), Thomson Reuters
BIOSIS Previews, VINITI RAN Referativnyi Zhurnal,
Ulrich's International Periodicals Directory

Индекс Ф81645 — для подписчиков
Подписка через Интернет:
<https://www.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. 2025. Том 70. № 7.
459-525

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 Кхалил 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*);

Шатохин Ю. В. д.м.н., профессор (*Ростов-на-Дону, Россия*);

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

LLC Publishing Group
"Media Sphera"

Joint Stock Company
"EKOlab"

D KLINICHESKAYA LABORATORNAYA diagnostika

Volume 70

7 • 2025

Russian Clinical Laboratory Diagnostics

SCIENTIFIC PRACTICAL MONTHLY JOURNAL

JULY

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:

+7-(908)-763-75-80

E-mail: klinlab@internet.ru

Managing editor:

L.A. Shankina

Technical editor:

Ch.A. Safarov

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

WWW страница: <https://clinlabdia.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 Russian index of scientific quotation (RINZ) and in following I&R editions: Abstracts of Microbiology, Adis International Ltd. Reactions Weekly, Chemical Abstracts (print), Chemical Titles, EBCOhost Biological Abstracts (Online), Elsevier BV EMBASE, Elsevier BV Scopus, Excerpta Medica, Abstract Journals, Index Medicus, Index to Dental Literature, OCLC Article First, Reactions Weekly (Print), Thomson Reuters Biological Abstracts (Online), Thomson Reuters BIOSIS Previews, VINITI RAN Referativnyi Zhurnal, Ulrich's International Periodicals Directory

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 (*Nakhchivan, Azerbaijan*);

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

Yuriy V. Shatokhin, Dr. Sci. (Med.), Professor (*Rostov-on-Don, Russia*);

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

СОДЕРЖАНИЕ

БИОХИМИЯ

Даренская М.А., Ступин Д.А., Семеняев А.А., Колесников С.И., Тухиева Д.В., Колесникова Л.И.
Матрикные металлопротеиназы и факторы воспаления у женщин с варикозом вен малого таза 463

*Новикова Е.А., Семёнова Н.В., Каравчева А.Н., Никитина О.А., Марянян А.Ю., Колесников С.И.,
Баирова Т.А., Бельских А.В., Беляева Е.В., Самбялова А.Ю., Ерикова О.А., Колесникова Л.И.*
Система глутатиона у женщин и уровень метаболита этанола фосфатидилэтанола в
первом триместре беременности 470

ИММУНОЛОГИЯ

Гимранова И.А., Акмалова Г.М., Гареев Е.М., Швец Д.Ю., Хисамова Н.Ф.
Иммунологические параллели у пациентов с гингивитом и хроническим генерализованным пародонтитом 477

*Таллерова А.В., Ревишвили А.Ш., Земсков В.М., Алексеев А.А., Козлова М.Н., Соловьева М.С.,
Шишкина Н.С., Куликова А.Н., Демидова В.С., Земсков А.М., Васильев О.С.*
МикроРНК в клинической лабораторной диагностике и лечении термических поражений
(обзор литературы) 484

МИКРОБИОЛОГИЯ

Клименко Е.С., Белькова Н.Л., Смуррова Н.Е., Погодина А.В., Даренская М.А., Рычкова Л.В.
Состояние кишечной микробиоты у подростков с ожирением и нормальной массой тела 496

Каюмов К.А., Алексеев Д.В., Бочкарёва П.В., Антипов В.А., Лямин А.В., Исматуллин Д.Д., Козлов А.В.
Сравнение эффективности работы автоматических анализаторов гемокультур при работе с
малыми объемами инокулируемой крови 505

ОРГАНИЗАЦИЯ ЛАБОРАТОРНОЙ СЛУЖБЫ

Ивойлов О.О., Кочетов А.Г.
Тотальная автоматизация медицинской лаборатории: возможности, риски, эффективность
(обзор литературы) 512

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

<i>Darenskaya M.A., Stupin D.A., Semendyaev A.A., Kolesnikov S.I., Tukhieva D.V., Kolesnikova L.I.</i> Matrix metalloproteinases and inflammation factors in women with pelvic varicose veins	463
<i>Novikova E.A., Semenova N.V., Karacheva A.N., Nikitina O.A., Marianian A.Yu., Kolesnikov S.I., Bairova T.A., Belskikh A.V., Belyaeva E.V., Sambyalova A.Yu., Ershova O.A., Kolesnikova L.I.</i> Glutathione system in women and the level of ethanol metabolite phosphatidylethanol in the first trimester of pregnancy	470

IMMUNOLOGY

<i>Gimranova I.A., Akmalova G.M., Gareev E.V., Shvets D.Yu., Hisamova N.F.</i> Immunological parallels in patients with gingivitis and chronic generalized periodontitis	477
<i>Tallerova A.V., Revishvili A.Sh., Zemskov V.M., Alekseev A.A., Kozlova M.N., Solovyeva M.S., Shishkina N.S., Kulikova A.N., Demidova V.S., Zemskov A.M., Vasilyev O.S.</i> MicroRNAs in clinical laboratory diagnostics and treatment of thermal injuries (review of literature)	484

MICROBIOLOGY

<i>Klimenko E.S., Belkova N.L., Smurova N.E., Pogodina A.V., Darenskaya M. A., Rychkova L.V.</i> Gut microbiota status in adolescents with obesity and normal weight	496
<i>Kayumov K. A., Alekseev D. V., Bochkareva P. V., Antipov V. A., Lyamin A. V., Ismatullin D. D., Kozlov A.V.</i> Comparison of the efficiency of automatic blood culture analyzers when working with small volumes of inoculated blood	505

ORGANIZATION LABORATORY SERVICE

<i>Ivoylov O.O., Kochetov A.G.</i> Total medical laboratory automation: opportunities, risks, effectiveness (review of literature).	512
---	-----

БИОХИМИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2025



<https://elibrary.ru/rqloxl>

Даренская М.А.¹, Ступин Д.А.^{1,2}, Семендейев А.А.², Колесников С.И.¹,
Тухиева Д.В.², Колесникова Л.И.¹

МАТРИКСНЫЕ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗЫ И ФАКТОРЫ ВОСПАЛЕНИЯ У ЖЕНЩИН С ВАРИКОЗОМ ВЕН МАЛОГО ТАЗА

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

²ФГБОУ «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, 664022, Иркутск, Россия

Проблема варикозной болезни вен таза (ВБВТ) у женщин приобретает большую значимость по причине высокой частоты распространённости, тяжести клинических проявлений (тазовая боль, диспареуния, ациклические кровотечения и т.д.), негативного влияния на качество жизни и репродуктивную функцию. Выделяют патогенетические детерминанты венозных расстройств, среди которых важное место занимают воспаление, гипоксия тканей, митохондриальная дисфункция, развитие реакций окислительного стресса, эндотелиальная дисфункция. Матриксные металлопротеиназы (ММП), синтезируемые фибробластами, эпителиальными клетками, фагоцитами, лимфоцитами, выполняют широкий спектр функций, в основном, связанных с обменом белков межклеточного матрикса. Важным повреждающим фактором в отношении эндотелия сосудов выступает воспалительный процесс.

Цель работы - определить уровень матриксных металлопротеиназ, их ингибитора, факторов воспаления в крови периферических вен и вен малого таза женщин с различной степенью тяжести ВБВТ.

Материал и методы. Обследованы 183 женщины репродуктивного возраста с диагностированной ВБВТ, разделённые на группы в зависимости от степени тяжести (легкая, средняя, тяжелая). Контрольная группа состояла из 30 практически здоровых женщин. Применён иммуноферментный метод исследования.

Результаты. Легкая степень тяжести ВБВТ характеризовалась повышенными значениями ММП-9, сниженным уровнем ТИМП-1, начальными изменениями цитокинового баланса (повышенное содержание IL-4, IL-6, соотношения IL6/IL10) в венах малого таза; более низким содержанием ТИМП-1, повышенным уровнем IL-4, IL-6 - на уровне периферических вен. Среднетяжелая степень тяжести отличалась высокими значениями ММП-8, ММП-9, сниженным уровнем ТИМП-1, более высокими значениями IL-1 β , IL-6, соотношения IL-6/IL10, низким уровнем IL-10 вне зависимости от локализации кровотока. При тяжёлой степени ВБВТ изменения носили сходный со среднетяжелой степенью заболевания характер, но были более интенсивными. **Заключение.** Развитие ВБВТ у женщин ассоциируется с ростом уровня матриксных металлопротеиназ, снижением концентрации их ингибитора и прогрессирующим цитокиновым дисбалансом по мере нарастания степени тяжести заболевания. Полученные данные могут быть использованы для оптимизации диагностики и разработки методов коррекции варикоза вен таза у женщин.

Ключевые слова: матриксные металлопротеиназы; воспаление; цитокины; варикоз вен малого таза; женщины; репродуктивный возраст

Для цитирования: Даренская М.А., Ступин Д.А., Семендейев А.А., Колесников С.И., Тухиева Д.В., Колесникова Л.И. Матриксные металлопротеиназы и факторы воспаления у женщин с варикозом вен малого таза. Клиническая лабораторная диагностика. 2025; 70 (7): 463-469.

DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2025-70-7-463-469>

EDN: RQLOXL

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

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Поступила 13.12.2024

Принята к печати 09.03.2025

Опубликовано 25.06.2025

Darenskaya M.A.¹, Stupin D.A.^{1,2}, Semendyaev A.A.², Kolesnikov S.I.¹, Tukhieva² D.V.², Kolesnikova L.I.¹

MATRIX METALLOPROTEINASES AND INFLAMMATION FACTORS IN WOMEN WITH PELVIC VARICOSE VEINS

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

²Irkutsk State Medical University, 664022, Irkutsk, Russia

Pelvic varicose veins (PVV) problem in women is becoming increasingly important due to its high prevalence, severity of clinical manifestations (pelvic pain, dyspareunia, acyclic bleeding, etc.), and negative impact on quality of life and reproductive function. Pathogenetic determinants of venous disorders are defined. These include inflammation, tissue hypoxia, mitochondrial dysfunction,

development of oxidative stress reactions, and endothelial dysfunction. Matrix metalloproteinases (MMPs) synthesized by fibroblasts, epithelial cells, phagocytes, and lymphocytes perform a wide range of functions, mainly related to the metabolism of proteins in the intercellular matrix. An important damaging factor in relation to vascular endothelium is the inflammatory process, largely due to insufficient functioning of the immune system.

The aim of work was to determine the level of matrix metalloproteinases, their inhibitor and inflammatory factors inflammation in the blood of peripheral veins and veins of the small pelvis in women with varying severity of PVV.

Material and methods. 183 women of reproductive age with diagnosed PVV, divided into groups depending on the severity (mild, moderate, severe) were examined. 30 practically healthy women as a control were used. Enzyme immunoassay methods of research were used. **Results.** Mild severity of PVV was characterized by elevated MMP-9 values, reduced TIMP-1 levels, initial changes in cytokine balance (increased IL-4, IL-6, IL6/IL10 ratio) in the pelvic veins; lower TIMP-1 levels, elevated IL-4 and IL-6 levels in the peripheral veins. Moderate severity was distinguished by high MMP-8, MMP-9 values, reduced TIMP-1 levels, higher IL-1 β , IL-6 values, IL-6/IL10 ratio, and low IL-10 levels regardless of the blood flow localization. In severe of PVV, the changes were similar to those in moderate severity, but were more intense.

Conclusion. Thus, the development of PVV in women is associated with an increase in the level of matrix metalloproteinases, a decrease in the concentration of their inhibitor, and a progressive cytokine imbalance as the severity of the disease increases. The data obtained can be used to optimize diagnostics and develop methods for correcting pelvic varicose veins in women.

Key words: matrix metalloproteinases; inflammation; cytokines; pelvic varicose veins; women; reproductive age

For citation: Darenkaya M.A., Stupin D.A., Semendyaev A.A., Kolesnikov S.I., Tukhieva D.V., Kolesnikova L.I. Matrix metalloproteinases and inflammation factors in women with pelvic varicose veins. Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics). 2025; 70 (7): 463-469 (in Russ.)

DOI: https://doi.org/10.51620/0869-2084-2025-70-7-463-469

EDN: RQLOXL

For correspondence: Darenkaya Marina Alexandrovna, Doctor of Biological Sciences, Leading researcher, Head of the Laboratory of Pathophysiology; e-mail: marina_darenkaya@inbox.ru

Information about authors:

Darenkaya M.A.,	https://orcid.org/0000-0003-3255-2013 ;
Stupin D.A.,	https://orcid.org/0000-0002-0687-4804 ;
Semendyaev A.A.,	https://orcid.org/0000-0002-4107-6285 ;
Kolesnikov S.I.,	https://orcid.org/0000-0003-2124-6328 ;
Tukhieva D.V.,	https://orcid.org/0009-0006-4238-8797 ;
Kolesnikova L.I.,	https://orcid.org/0000-0003-3354-2992 .

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

Acknowledgment. The study had no sponsor support.

Received 13.12.2024

Accepted 09.03.2025

Published 25.06.2025

Введение. Проблема варикозной болезни вен таза (ВБВТ) у женщин приобретает большую значимость по причине высокой распространённости, тяжести клинических проявлений (тазовая боль, диспареуния, ациклические кровотечения и т. д.), негативного влияния на качество жизни и репродуктивную функцию [1]. Специфических патогномоничных признаков, присущих регионарному варикозному процессу, не существует, что обуславливает необходимость подтверждения диагноза результатами объективного морфологического исследования [2]. К значимым проблемам диагностики ВБВТ относят отсутствие информативных биохимических маркеров и характерной для начальной стадии симптоматики [2,3].

Среди основных предрасполагающих к ВБВТ факторов выделяют генетическую обусловленность, возраст женщины, наличие многочисленных беременностей в анамнезе, малоподвижный образ жизни и т. д. [1]. Развитие ВБВТ часто обсуждают с точки зрения пролонгированного влияния на стенку вен динамической гиперволемии и гипертензии, обуславливающих морфологические и гемодинамические (венозный рефлюкс, тазовая венозная гипертензия) изменения [1,4]. Исследование механизмов заболевания только с этих позиций не раскрывает полной картины нарушений и, соответственно, затрудняет проведение своевременных коррекционных мероприятий [5,6]. Определены пато-

генетические детерминанты венозных расстройств, среди которых важное место занимают воспаление, гипоксия тканей, митохондриальная дисфункция, развитие реакций окислительного стресса (ОС), эндотелиальная дисфункция [7,8].

Матрикные металлопротеиназы (ММП), синтезируемые фибробластами, эпителиальными клетками, фагоцитами, лимфоцитами, выполняют широкий спектр функций, в основном связанных с обменом белков межклеточного матрикса [9]. ММП участвуют в реализации ряда физиологических процессов, таких как морфогенез, эмбриогенез, резорбция и ремоделирование тканей, репарация тканей, дифференцировка и пролиферация клеток, неоангиогенез и т. д. [10]. Отмечается их решающая роль в процессах опухолевой трансформации и метастазирования [11]. Выявлен рост их активности при таких патологических состояниях, как ревматоидный артрит, гломерулонефрит, пародонтиты и т. д. [9,10]. Выделяют более 20 ферментов, входящих в состав семейства ММП (в соответствии с субстратной специфичностью, строением, локализацией), и семейство тканевых ингибиторов ММП (ТИМП) [9]. Результаты ряда исследований свидетельствуют о взаимосвязи уровня ММП и морфофункциональных изменений венозной стенки [10,12,13]. Важным повреждающим фактором в отношении эндотелия сосудов выступает воспалительный процесс, во многом обусловленный

действием хронической эндотоксиковой агрессии [14]. Нарушения в системе иммунитета при ВБВТ способствуют усугублению течения заболевания [1,4,12,14]. Дизрегуляция указанных механизмов возможна как на системном, так и на локальном уровнях [14].

Цель работы - определить уровень матриксных металлопротеиназ, их ингибитора и факторов воспаления в плазме крови из периферических вен и вен малого таза у женщин с различной степенью тяжести ВБВТ.

Материал и методы. Обследованы 183 женщины репродуктивного возраста (средний возраст - 38,3±4,3 года) с диагностированной ВБВТ и 30 практически здоровых женщин (контрольная группа) (средний возраст 39,0±2,95 года).

Верификация диагноза и установление степени тяжести ВБВТ происходило в ходе клинико-инструментального обследования (ультразвуковое ангиосканирование тазовых вен и лечебно-диагностическая лапароскопия) [15]. Общая группа женщин разделена на подгруппы в зависимости от степени тяжести заболевания: легкая ($n=79$), средняя ($n=63$), тяжелая ($n=41$) степень. Все три подгруппы женщин сопоставимы по основному характеру жалоб, возрасту, частоте гинекологической и экстрагенитальной патологии. Контрольная группа состояла из женщин, которым на основании добровольного согласия выполнена хирургическая стерилизация.

Общими критериями включения для групп с ВБВТ и контрольной являлись: женский пол, репродуктивный возраст (20–45 лет), информированное согласие на участие. Для группы с ВБВТ критериями включения был установленный диагноз ВБВТ по данным клинико-инструментального обследования. Критериями исключения служили: сопутствующая соматическая патология, гинекологические заболевания. Для контрольной группы критериями включения были: отсутствие патологии венозной системы, острых или обострения хронических заболеваний. Для групп контроля и с ВБВТ критериями исключения являлись: беременность, прием препаратов венотонизирующего, ангиопротективного, антиоксидантного действия или гормональных контрацептивов в последние полгода.

Получение информированного согласия на участие в исследовании являлось обязательной процедурой при включении женщин в одну из групп. Соблюдались этические принципы согласно Хельсинкской декларации Всемирной Медицинской Ассоциации (1964, ред. 2013). Исследование одобрено Комиссией по биомедицинской этике при ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека».

Дуплексное ангиосканирование проводили на аппарате Voluson GE10 Healthcare (Австрия), с использованием конвексного датчика 4-8 МГц и вагинального датчика 7 МГц. Анатомо-гемодинамическое состояние яичниковых вен характеризовали в соответствии с максимальным диаметром просвета магистрального ствола вен, длительностью рефлюксного кровотока в общем стволе яичниковых вен в состоянии покоя, вовлеченностью венозных сплетений малого таза [4,15]. У женщин контрольной группы анатомо-гемодинамические показатели в магистральном стволе яичниковых вен соответствовали нормальным параметрам.

Взятие крови у пациенток из периферической вены (локтевая вена) осуществляли утром натощак в

объеме 9 мл однократно; из коллатеральных притоков яичниковых вен кровь брали во время выполнения лапароскопии на оборудовании «Karl Storz» (Германия) и «Cooper Surgical» (США) с использованием трехмерной видеорегистрации «Laser Optic System» (США, Германия).

Использовали вакуумные системы сбора крови S-Monovette с K3-EDTA (Sarstedt, Германия). Сразу после сбора кровь центрифугировали, отбирали плазму, образцы хранили в замороженном виде при температуре -80 °C до момента проведения анализа. Определение содержания в плазме крови матриксных металлопротеиназ-8 и 9 (ММП-8, ММП-9), тканевого ингибитора металлопротеиназы-1 (tissue metalloproteinase inhibitor, TIMP-1) проводили методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием тест-систем «Invitrogen ELISA Kit» (Fisher Scientific, Нидерланды). Учет результатов производили на планшетном спектрофотометре Infinite F50 (TECAN).

Содержание Th_1 -проводоспособительных цитокинов (IL-1 β , IL-6) и Th_2 -противовоспалительных цитокинов (IL-4, IL-10) определяли методом ИФА с помощью тест-наборов ЗАО «Вектор-Бест» (Россия). Измерения проводили на микропланшетном фотометре Multiskan Ascent. Рассчитывали провоспалительный индекс (ПВИ) в виде соотношения IL-6/IL-10.

Исследование выполнено с использованием оборудования ЦКП «Центр разработки прогрессивных персонализированных технологий здоровья» ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», Иркутск.

Статистический анализ осуществлялся с использованием программы IBM SPSS Statistics 26. Для определения близости к нормальному распределению количественных признаков использован визуально-графический метод, критерий Колмогорова-Смирнова и Шапиро-Уилка. Для описания количественных признаков приведены описательные статистики: медиана (Me), верхний и нижний квартили (Q_{25} ; Q_{75}). Сравнение трех и более несвязанных совокупностей с нормальным распределением данных проведено с помощью однофакторного дисперсионного анализа (one-way ANOVA) с предварительной проверкой гомогенности дисперсий тестом Левена. 1 этап: сравнение одновременно всех групп между собой с помощью F-критерия Фишера или F-критерия Уэлша. 2 этап: post-hoc анализ (апостериорные попарные сравнения) с помощью критерия Геймса-Хоэлла или критерия Шеффе. Сравнение данных, отклоняющихся от нормального распределения, выполнено с использованием критерия Манна-Уитни, для трех и более совокупностей - с помощью критерия Краскела-Уоллиса с post-hoc анализом (апостериорными попарными сравнениями, проводимыми с помощью критерия Данна с поправкой Бонферрони на множественность сравнений). Критический уровень значимости принимался равным 5% (0,05).

Результаты. Содержание ММП-8, 9 и их ингибитора в крови из периферических вен и вен малого таза у женщин с ВБВТ представлены в табл. 1.

Результаты исследования при легкой степени тяжести ВБВТ выявили рост содержания ММП-9 только в крови вен малого таза ($p=0,006$); снижение уровня ТИМП-1 как на уровне вен малого таза ($p=0,029$), так и

на уровне периферических вен ($p=0,032$) относительно контроля (см. табл. 1).

У пациенток со средней степенью тяжести ВБВТ отмечались повышенные уровни ММП-8 (периферические вены ($p=0,026$), вены малого таза ($p=0,006$)); ММП-9 (периферические вены ($p=0,030$), вены малого таза ($p=0,002$)); сниженные значения ТИМП-1 (периферические вены ($p<0,0001$), вены малого таза ($p<0,0001$)) относительно контроля.

У женщин с ВБВТ тяжелой степени зарегистрирова-

ны сходные результаты: повышенные значения ММП-8 (периферические вены ($p<0,0001$), вены малого таза ($p<0,0001$)); ММП-9 (периферические вены ($p<0,0001$), вены малого таза ($p=0,001$)); более низкие уровни ТИМП-1 (периферические вены ($p<0,0001$), вены малого таза ($p<0,0001$)) в сравнении с контролем.

Отмечались статистически значимые различия между группами пациенток с ВБВТ, проявлявшиеся более высокими значениями ММП-8, ММП-9 и более низким уровнем ТИМП-1 по мере утяжеления заболевания.

Таблица 1

Уровень ММП-8, 9 и их ингибитора в крови из периферических вен и вен малого таза у женщин в зависимости от тяжести ВБВТ [Ме (Q₂₅; Q₇₅)]

Параметры	Регионарные сосуды	Группа контроля (n=30)	Степени тяжести ВБВТ				<i>p</i>
			Легкая (n=79)	Средняя (n=63)	Тяжелая (n=41)	4	
		1	2	3	4		
ММП-8 пг/мл	Периферические вены	171 (162;181)	204 (185;211)	374 (343;396)	419 (396;425)		$p<0,0001^*$ $p_{1,3}^{**}$ $p_{1,4}^{**}$ $p_{2,3}^{**}$ $p_{2,4}^{**}$
	Вены малого таза	194 (170;210)	232 (204;272)	402 (383;386)	447 (420;475)		$p=0,002^*$ $p_{1,3}^{**}$ $p_{1,4}^{**}$ $p_{2,3}^{**}$ $p_{2,4}^{**}$
ММП-9 пг/мл	Периферические вены	197 (186;208)	245 (239;263)	386 (365;406)	501 (487;527)		$p<0,0001^*$ $p_{1,3}^{**}$ $p_{1,4}^{**}$ $p_{2,3}^{**}$ $p_{2,4}^{**}$ $p_{3,4}^{**}$
	Вены малого таза	215 (198;230)	262 (242;280)	407 (386;421)	524 (502;539)		$p=0,003^*$ $p_{1,2}^{**}$ $p_{1,3}^{**}$ $p_{1,4}^{**}$ $p_{2,3}^{**}$ $p_{2,4}^{**}$ $p_{3,4}^{**}$
ТИМП-1 пг/мл	Периферические вены	568 (544;579)	306 (285;316)	207 (184;223)	146 (128;167)		$p<0,0001^*$ $p_{1,2}^{**}$ $p_{1,3}^{**}$ $p_{1,4}^{**}$ $p_{2,3}^{**}$ $p_{2,4}^{**}$ $p_{3,4}^{**}$
	Вены малого таза	579 (561;588)	327 (305;344)	219 (198;240)	161 (139;177)		$p=0,006^*$ $p_{1,2}^{**}$ $p_{1,3}^{**}$ $p_{1,4}^{**}$ $p_{2,3}^{**}$ $p_{2,4}^{**}$ $p_{3,4}^{**}$

Примечание. Здесь и в табл. 2: * - 1 этап: однофакторный дисперсионный анализ Краскела-Уоллиса; ** - 2 этап: post-hoc анализ (апостериорные), попарные сравнения проводились с помощью критерия Данна с поправкой Бонферрони на множественность сравнений (указано скорректированное *p*-значение).

Проведено определение содержания про- и противовоспалительных цитокинов в крови из периферических вен и вен малого таза у женщин с ВБВТ (табл. 2).

Анализ результатов у женщин с легкой степенью ВБВТ показал повышенные значения провоспалительного цитокина IL-6, как на уровне вен таза ($p=0,041$), так и на уровне периферических вен ($p=0,009$), соотношения IL-6/IL-10 ($p=0,042$) в крови из вен таза. Отме-

чался компенсаторный рост противовоспалительного IL-4 ($p=0,040$ в крови из вен малого таза и $p=0,031$ в крови из периферических вен).

Средняя степень тяжести ВБВТ отличалась более высокими значениями провоспалительных цитокинов - IL-1 β (периферические вены, $p=0,037$), вены малого таза ($p=0,045$), IL-6 (периферические вены, $p=0,012$), вены малого таза ($p=0,020$), IL-6/IL-10 (перифериче-

ские вены, $p=0,002$), вены малого таза ($p=0,001$)). Уровень противовоспалительного фактора - IL-4 при средней степени ВБВТ оставался повышенным только в крови

из вен малого таза ($p=0,003$). Значения IL-10 снижались как в крови из периферических вен ($p=0,040$), так и из вен малого таза ($p=0,042$).

Таблица 2

Уровень про- и противовоспалительных цитокинов в крови из периферических вен и вен малого таза у женщин
 в зависимости от тяжести ВБВТ [Ме (Q₂₅; Q₇₅)]

Показатели	Регионарные сосуды	Контрольная группа (n=30)	Степень тяжести ВБВТ			<i>p</i>
			Легкая (n=79)	Среднетяжелая (n=63)	Тяжелая(n=41)	
			1	2	3	4
IL-1 β пг/мл	Периферические вены	124,70 (113,88; 131,15)	135,10 (125,14; 158,26)	157,00 (149,26; 170,22)	168,00 (141,34; 183,91)	$p=0,022^*$ p_{1-3}^{**} p_{1-4}^{**} p_{2-3}^{**} p_{2-4}^{**}
	Вены малого таза	125,81 (123,62; 129,21)	142,23 (139,27; 146,36)	164,22 (159,20; 168,38)	175,36 (171,29; 180,74)	$p=0,034^*$ p_{1-3}^{**} p_{1-4}^{**} p_{2-4}^{**}
IL-6 пг/мл	Периферические вены	2241 (3147; 3380)	5162 (4968; 5230)	5358 (5249; 5541)	5574 (5495; 5780)	$p=0,015^*$ p_{1-2}^{**} p_{1-3}^{**} p_{1-4}^{**}
	Вены малого таза	3285,23 (3120,49; 3467,85)	5207,31 (5115,29; 5458,88)	5561,75 (5490,80; 5897,95)	5783,55 (5659,47; 5899,06)	$p=0,003^*$ p_{1-2}^{**} p_{1-3}^{**} p_{1-4}^{**}
IL-4 пг/мл	Периферические вены	793,76 (762,58; 825,38)	1205,69 (1050,39;1390,21)	789,57 (750,63; 831,42)	751,44 (2405,18; 3038,29)	$p=0,017^*$ p_{1-2}^{**} p_{1-4}^{**} p_{2-4}^{**}
	Вены малого таза	805,38 (776,35; 840,27)	1286,55 (1257,41; 1320,19)	1106,29 (958,81; 1563,36)	759,83 (718,14; 1053,62)	$p=0,0021^*$ p_{1-2}^{**} p_{1-3}^{**} p_{1-4}^{**} p_{2-4}^{**}
Соотношение IL-6/IL-10	Периферические вены	2,85 (2,74; 2,91)	3,20 (2,69; 3,51)	7,00 (6,71; 7,11)	10,55 (10,09; 10,63)	$p=0,002^*$ p_{1-3}^{**} p_{1-4}^{**} p_{2-3}^{**} p_{2-4}^{**} p_{3-4}^{**}
	Вены малого таза	2,70 (2,65; 2,77)	4,31 (4,22; 4,38)	7,65 (7,63; 7,72)	11,85 (11,72; 11,98)	$p=0,004^*$ p_{1-2}^{**} p_{1-3}^{**} p_{1-4}^{**} p_{2-3}^{**} p_{2-4}^{**}
IL-10 пг/мл	Периферические вены	1145,72 (1067,43; 1271,58)	1603,81 (1420,83;1849,45)	762,19 (735,17; 801,94)	522,43 (475,26; 560,81)	$p=0,004^*$ p_{1-3}^{**} p_{1-4}^{**} p_{2-3}^{**} p_{2-4}^{**}
	Вены малого таза	1208,51 (1176,88; 1252,49)	1774,95 (1681,24;1876,71)	714,21 (680,39; 778,53)	479,15 (440,76; 506,25)	$p=0,012^*$ p_{1-3}^{**} p_{1-4}^{**} p_{2-3}^{**} p_{2-4}^{**}

Аналогичным образом изменялся уровень противовоспалительных факторов в плазме крови при тяжелой степени заболевания: повышенные уровни IL-1 β (периферические вены, $p=0,021$), вены малого таза ($p=0,015$), IL-6 (периферические вены, $p=0,024$), вены малого таза ($p=0,011$), IL6/IL10 (периферические вены, $p=0,009$), вены малого таза ($p=0,003$). При этом

противовоспалительные цитокины, в данном случае показывали односторонние изменения в виде снижения значений IL-4 (периферические вены, $p=0,007$), вены малого таза ($p=0,001$) и IL-10 (периферические вены, $p=0,022$), вены малого таза ($p=0,028$) в сравнении с контролем (см. табл. 2).

Статистически значимыми являлись различия

между группами с ВБВТ в отношении более высоких значений IL-1 β , соотношения IL6/IL10, сниженных значений IL-4 и IL-10 по мере роста степени тяжести заболевания.

Обсуждение. ВБВТ представляет собой системное заболевание с прогрессирующим течением, в котором задействованы множественные патофизиологические механизмы [4,16]. ВБВТ трактуется как первичный венозный рефлюкс, обычно затрагивающий вены яичников, а также как вторичная венозная обструкция, захватывающая, помимо вен яичников, внутренние подвздошные вены [17]. Множественность действующих на венозную стенку факторов и хронический характер патологического процесса обуславливают трудности лечебных мероприятий в отношении ВБВТ [18]. По этой причине актуальным становится выявление новых маркеров варикоза вен в малом тазу у женщин.

Установлен рост концентрации ММП-8 и ММП-9 при средней и тяжелой степени заболевания с более интенсивным их накоплением при тяжелой степени ВБВТ. Обнаружен незначительный рост ММП-9 в крови из вен малого таза и снижение уровня ингибитора ММП при легкой степени тяжести. Согласно данным литературы, ММП активно участвуют в деградации белков внеклеточного матрикса - коллагена и эластина, что оказывает повреждающий эффект, в том числе в отношении клеток эндотелия [19]. Коллагеназы относятся к наиболее изученному классу ММП. ММП-8 является коллагеназой нейтрофилов, ММП-9 составляют коллагеназы IV типа. ММП-9 выявлена в нейтрофилах, макрофагах, фибробластах, хондроцитах, Т-лимфоцитах после их стимуляции; она расщепляет энтактин и коллаген XIV типа [20]. Доказано участие специфических ММП в процессах ремоделирования артерий и артериол, образовании аневризм, в венозных деформациях и т. д. [21]. Отмечено их стимулирующее действие на процесс воспаления, что приводит к дальнейшему повреждению венозной стенки [22]. Деятельность ММП регулируется эндогенными ТИМП [21]. Вероятно, в условиях избыточной секреции ММП-8 и ММП-9, недостаточности ТИМП-1 при средней и тяжелой степени патологического процесса могут реализоваться их негативные эффекты, опосредованно влияющие на развитие маточной и яичниковой недостаточности при ВБВТ. Доказаны свойства ТИМП как провоспалительного цитокина [23].

Особая роль при ВБВТ отводится иммунной дисрегуляции и доминированию воспалительных реакций [24]. В крови из варикозно-расширенных вен имеет место выраженный лейкоцитоз с одновременным увеличением синтеза активных форм кислорода, деградацией гладкомышечных клеток [25,26]. Венозная недостаточность, как правило, сопровождается превалированием провоспалительных цитокинов и молекул адгезии в периферической крови [14]. Полученные данные указывают на рост концентрации провоспалительных цитокинов и снижение уровня противовоспалительных цитокинов у пациенток с ВБВТ. Начало заболевания характеризовалось компенсаторными явлениями в виде повышенного содержания IL-4 на фоне роста значений IL-6 и соотношения IL-6/IL-10. К настоящему времени начальные проявления ВБВТ охарактеризованы недостаточно полно. Однозначным является увеличение содержания

воспалительных факторов в совокупности с признаками эндотелиальной дисфункции в варикозных венах [27].

Утяжеление патологического процесса характеризовалось более выраженным цитокиновым дисбалансом: отмечалось увеличение содержания IL-1 β , IL-6, соотношения IL-6/IL10 в крови как из периферических вен, так и из вен малого таза. Выявленное ранее усиление реакций окислительного стресса при ВБВТ, вероятно, может являться основным индуктивным механизмом данных изменений [26]. Формирующаяся дисфункция эндотелия, с другой стороны, увеличивает интенсивность свободно-радикальных реакций и одновременно способствует активации лейкоцитов, синтезирующих провоспалительные цитокины [8,14,24,25]. Последние индуцируют острофазные реакции на системном и локальном уровнях, что усугубляет патологический процесс [27]. Выяснено, что ведущей причиной венозной недостаточности является сочетанное повышение медиаторов воспаления, молекул адгезии (TGF- β , IL-6, IL-8, VCAM-1) [28]. Одновременно наблюдается усиление экспрессии и активности ММП с их деградирующей ролью в отношении матрикса и, соответственно, структур стенки вены [13,29].

Показано, что ММП имеют несколько «перекрестов» с цитокиновой сетью. Так, отмечено, что провоспалительные факторы и факторы роста регулируют экспрессию ММП, а активация клеток цитокинами приводит к увеличенному процессингу ММП из неактивных зимогенов в активные ферменты [30]. Receptory к цитокинам могут выступать субстратами для действия ММП.

Заключение. Развитие ВБВТ у женщин ассоциируется с ростом уровня матрикных металлопротеиназ, снижением концентрации их ингибитора и прогрессирующим цитокиновым дисбалансом по мере возрастания степени тяжести заболевания. Полученные данные могут быть использованы для оптимизации диагностики и разработки методов коррекции варикоза вен таза у женщин.

ЛИТЕРАТУРА (П. 1-6, 10-13, 16-19, 21-27, 29 СМ. REFERENCES)

7. Колесникова Л.И., Семеняев А.А., Ступин Д.А., Даренская М.А., Гребёнкина Л.А., Натяганова Л.В., Данусевич И.Н., Черепанова М.А., Колесников С.И. Интенсивность процессов липопероксидации у женщин с первичным варикозным расширением вен малого таза в зависимости от стадии заболевания. *Вестник Российской академии медицинских наук.* 2018; 73(4): 229-35. DOI: 10.15690/vgram1005.
8. Даренская М.А., Ступин Д.А., Семеняев А.А., Колесников С.И., Гребенкина Л.А., Щербатых А.В., Толкачев К.С., Колесникова Л.И. Сравнительный анализ липопероксидации в периферическом и регионарном кровотоках у женщин с первичным варикозным расширением вен малого таза. *Клиническая лабораторная диагностика.* 2022; 67(7): 374-80. DOI: 10.51620/0869-2084-2022-67-7-374-380.
9. Григорьевич О.С., Мокров Г.В., Косова Л.Ю. Матрикные металлопротеиназы и их ингибиторы. *Фармакокинетика и Фармакодинамика.* 2019; (2): 3-16. DOI: 10.24411/2387-7836-2019-10040.
14. Головина В.И., Селиверстов Е.И., Ефремова О.И., Золотухин И.А. Роль цитокинов в патогенезе варикозной болезни. *Флебология.* 2021; 15(2): 117-26. DOI: 10.17116/flebo202115021117.
15. Семеняев А.А., Ступин Д.А., Черепанова М.А., Бачуринова С.М., Селецкий А.Н., Колесникова Л.И. Способ определения функционального состояния венозной системы малого таза у женщин. Патент РФ № 2646563; 2018.

20. Ахметзянов Р.В., Бредихин Р.А., Фомина Е.Е., Коновалова Е.Ф. Гистологические изменения стенки яичниковой вены при варикозной болезни таза. *Флебология*. 2020; 14(3): 166-74.
28. Жук С.И., Григоренко А.М., Шляхтина А.О. Этиопатогенетический подход к консервативному лечению варикозного расширения вен малого таза у женщин. *Здоровье женщины*. 2017; 2: 77-82.
30. Маркелова Е.В., Здор В.В., Романчук А.Л., Бирко О.Н. Матриксные металлопротеиназы их взаимосвязь с системой цитокинов, диагностический и прогностический потенциал. *Иммунопатология, аллергология, инфектология*. 2016; (2): 11-22. DOI: 10.14427/jipai.2016.2.23.
- icine. 2022; 54(1): 22-36. DOI: 10.1080/07853890.2021.2014556.
14. Golovina V.I., Seliverstov E.I., Efremova O.I., Zolotukhin I.A. Cytokines in pathogenesis of varicose veins. *Flebologiya*. 2021; 15(2): 117-26. DOI: 10.17116/flebo202115021117. (in Russian)
15. Semendyaev A.A., Stupin D.A., Cherepanova M.A., Bachurina V.M., Seletsky A.N., Kolesnikova L.I. Method of determining the functional state of the pelvic venous system in women. Patent RF N 2646563; 2018. (in Russian)
16. Semendyaev A.A., Darenetskaya M.A., Stupin D.A., Kolesnikov S.I., Semenova N.V., Tukhieva D.V., Kolesnikova L.I. Activity of NAD (P)-dependent dehydrogenases of ovarian vein lymphocytes in women with pelvic varicose veins. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2024; 178(1): 34-9. DOI: 10.1007/s10517-024-06278-7.
17. Barge T.F., Uberoi R. Symptomatic pelvic venous insufficiency: a review of the current controversies in pathophysiology, diagnosis, and management. *Clinical Radiology*. 2022; 77(6): 409-17. DOI: 10.1016/j.crad.2022.01.053.
18. Riding D.M., Hansrani V., McCollum C. Pelvic vein incompetence: clinical perspectives. *Vascular health and risk management*. 2017; 13: 439. DOI: 10.2147/VHRM.S132827.
19. van Wetering S., van Buul J.D., Quik S., Mul F.P., Anthony E.C., Klooster J.P., Collard J.G., Hordijk P.L. Reactive oxygen species mediate Rac-induced loss of cell-cell adhesion in primary human endothelial cells. *Journal of cell science*. 2002; 115(9): 1837-46. DOI: 10.1242/jcs.115.9.1837.
20. Akhmetzyanov R.V., Bredikhin R.A., Fomina E.E., Konovalova E.F. Histological changes in the wall of the ovarian vein in varicose veins of the pelvis. *Flebologiya*. 2020; 14(3): 166-74. (in Russian)
21. Shan L., Wang F., Zhai D., Meng X., Liu J., Lv X. Matrix metalloproteinases induce extracellular matrix degradation through various pathways to alleviate hepatic fibrosis. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2023; 161: 114472. DOI: 10.1016/j.biopha.2023.114472.
22. Khilnani N.M., Winokur R.S., Scherer K.L., Meissner M.H. Clinical presentation and evaluation of pelvic venous disorders in women. *Techniques in Vascular and Interventional Radiology*. 2021; 24(1): 100730. DOI: 10.1016/j.tvir.2021.100730.
23. Grünwald B., Schoeps B., Krüger A. Recognizing the molecular multifunctionality and interactome of TIMP-1. *Trends in cell biology*. 2019; 29(1): 6-19. DOI: 10.1016/j.tcb.2018.08.006.
24. Darenetskaya M.A., Semendyaev A.A., Stupin D.A., Kolesnikov S.I., Semenova N.V., Pesterev K.V., Kolesnikova L.I. Blood cytokines of the ovarian vein basin in different stages of pelvic varicose veins. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2023; 175(3): 311-4. DOI: 10.1007/s10517-023-05858-3.
25. Gavrilov S.G., Vassilieva G.Y., Vasilev I.M., Grishenkova A.S. The role of vasoactive neuropeptides in the genesis of venous pelvic pain: A review. *Phlebology*. 2020; 35(1): 4-9. DOI: 10.1177/0268355519855.
26. Darenetskaya M.A., Stupin D.A., Semendyaev A.A., Kolesnikov S.I., Shcherbatykh A.V., Tolkachev K.S., Kolesnikova L.I. Pelvic venous insufficiency: lipid peroxidation levels in ovarian venous blood. *Biomedical Research and Therapy*. 2022; 9(2): 4884-91. DOI: 10.15419/bmrat.v9i2.730.
27. Javaid A., Ka A., Pm S., Arora K., Mudavath S.L. Innovative approaches and future directions in the management and understanding of varicose veins: A systematic review. *ACS Pharmacology & Translational Science*. 2024; 7(10): 2971-86. DOI: 10.1021/acspctsci.4c00430.
28. Zhuk S.I., Grigorenko A.M., Shlyakhtina A.O. Etiopathogenetic approach to conservative treatment of varicose veins of the small pelvis in women. *Zdorov'e zhenshchiny*. 2017; 2: 77-82. (in Russian)
29. Bendek B., Afuape N., Banks E., Desai N.A. Comprehensive review of pelvic congestion syndrome: causes, symptoms, treatment options. *Current Opinion in Obstetrics and Gynecology*. 2020; 32(4): 237-42. DOI: 10.1097/GCO.0000000000000637.
30. Markelova E.V., Zdor V.V., Romanchuk A.L., Birk O.N. Matrix metalloproteinases: on their relationship with cytokine system, diagnostic and prognostic potential. *Immunopatologia, allergologiya, infektologiya*. 2016; (2): 11-22. DOI: 10.14427/jipai.2016.2.23. (in Russian)

REFE RENCES

- Clark M.R., Taylor A.C. Pelvic venous disorders: An update in terminology, diagnosis, and treatment. *In Seminars in Interventional Radiology*. 2023; 40(4): 362-71. DOI: 10.1055/s-0043-1771041.
- Khilnani N.M., Xia J.J., Winokur R.S., Meissner M.H. Diagnosis and management of pelvic venous disorders in women. *CardioVascular and Interventional Radiology*. 2024; 47(12): 1650-68. DOI: 10.1007/s00270-024-03782-1.
- Rezaei-Kalantari K., Fahrni G., Rotzinger D.C., Qanadli S.D. Insights into pelvic venous disorders. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*. 2023; 10: 1102063. DOI: 10.3389/fcvm.2023.1102063.
- Darenetskaya M.A., Semendyaev A.A., Stupin D.A., Kolesnikov S.I., Semenova N.V., Tukhieva D.V., Kolesnikova L.I. Expression of immunohistochemical markers in the walls of pelvic varicose veins in women. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2024; 178(1): 151-6. DOI: 10.1007/s10517-024-06298-3.
- Hansrani V., Riding D., Seif M.W., Caress A.L., Payne K., Ghosh J., McCollum C.N. Pelvic vein incompetence and chronic pelvic pain: a case-control study. *BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology*. 2023; 130(11): 1355-61. DOI: 10.1111/1471-0528.17485.
- Darenetskaya M.A., Stupin D.A., Semendyaev A.A., Kolesnikov S.I., Tukhieva D.V., Kolesnikova L.I. Impact of antioxidant therapy on lipid peroxidation and venous hemodynamics in women with pelvic venous incompetence. *Biomedical Research and Therapy*. 2024; 11(3): 6282-8. DOI: 10.15419/bmrat.v11i3.874.
- Kolesnikova L.I., Semendyaev A.A., Stupin D.A., Darenetskaya M.A., Grebenkina L.A., Natyaganova L.V., Danusevich I.N., Cherepanova M.A., Kolesnikov S.I. The intensity of lipid peroxidation processes in women with primary varicose veins of the pelvic depending on the stage of the disease. *Vestnik Rossiyskoy akademii meditsinskikh nauk*. 2018; 73(4): 229-35. DOI: 10.15690/vramn1005. (in Russian)
- Darenetskaya M.A., Stupin D.A., Semendyaev A.A., Kolesnikov S.I., Grebenkina L.A., Shcherbatykh A.V., Tolkachev K.S., Kolesnikova L.I. Peripheral and regional blood bloodstreams lipid peroxidation comparative analysis in women with pelvic venous disorder. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2022; 67 (7): 374-80. DOI: 10.51620/0869-2084-2022-67-7-374-380. (in Russian)
- Grigorkevich O.S., Mokrov G.V., Kosova L.Yu. Matrix metalloproteinases and their inhibitors. *Farmakokinetika i Farmakodynamika*. 2019; (2): 3-16. DOI: 10.24411/2587-7836-2019-10040. (in Russian)
- Cui N., Hu M., Khalil R.A. Biochemical and Biological Attributes of Matrix Metalloproteinases. *Progress in Molecular Biology and Translational Science*. 2017; 147: 1-73. DOI: 10.1016/bs.pmbts.2017.02.005.
- Kwon M.J. Matrix metalloproteinases as therapeutic targets in breast cancer. *Frontiers in Oncology*. 2023; 12: 1108695. DOI: 10.3389/fonc.2022.1108695.
- Demirtas H., Dogan A. Pelvic congestion syndrome. *International Academic Research and Reviews in Health Sciences*. In: Z. Selamoglu, H. Akgul, E. Sahna International Academic Research and Reviews in Health Sciences. Ankara: Serüven Yayınevi: 2023; 123-40.
- Balabuszek K., Toborek M., Pietura R. Comprehensive overview of the venous disorder known as pelvic congestion syndrome. *Annals of Medicine*. 2022; 54(1): 22-36. DOI: 10.1080/07853890.2021.2014556.
- Golovina V.I., Seliverstov E.I., Efremova O.I., Zolotukhin I.A. Cytokines in pathogenesis of varicose veins. *Flebologiya*. 2021; 15(2): 117-26. DOI: 10.17116/flebo202115021117. (in Russian)
- Semendyaev A.A., Stupin D.A., Cherepanova M.A., Bachurina V.M., Seletsky A.N., Kolesnikova L.I. Method of determining the functional state of the pelvic venous system in women. Patent RF N 2646563; 2018. (in Russian)
- Semendyaev A.A., Darenetskaya M.A., Stupin D.A., Kolesnikov S.I., Semenova N.V., Tukhieva D.V., Kolesnikova L.I. Activity of NAD (P)-dependent dehydrogenases of ovarian vein lymphocytes in women with pelvic varicose veins. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2024; 178(1): 34-9. DOI: 10.1007/s10517-024-06278-7.
- Barge T.F., Uberoi R. Symptomatic pelvic venous insufficiency: a review of the current controversies in pathophysiology, diagnosis, and management. *Clinical Radiology*. 2022; 77(6): 409-17. DOI: 10.1016/j.crad.2022.01.053.
- Riding D.M., Hansrani V., McCollum C. Pelvic vein incompetence: clinical perspectives. *Vascular health and risk management*. 2017; 13: 439. DOI: 10.2147/VHRM.S132827.
- van Wetering S., van Buul J.D., Quik S., Mul F.P., Anthony E.C., Klooster J.P., Collard J.G., Hordijk P.L. Reactive oxygen species mediate Rac-induced loss of cell-cell adhesion in primary human endothelial cells. *Journal of cell science*. 2002; 115(9): 1837-46. DOI: 10.1242/jcs.115.9.1837.
- Akhmetzyanov R.V., Bredikhin R.A., Fomina E.E., Konovalova E.F. Histological changes in the wall of the ovarian vein in varicose veins of the pelvis. *Flebologiya*. 2020; 14(3): 166-74. (in Russian)
- Shan L., Wang F., Zhai D., Meng X., Liu J., Lv X. Matrix metalloproteinases induce extracellular matrix degradation through various pathways to alleviate hepatic fibrosis. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2023; 161: 114472. DOI: 10.1016/j.biopha.2023.114472.
- Khilnani N.M., Winokur R.S., Scherer K.L., Meissner M.H. Clinical presentation and evaluation of pelvic venous disorders in women. *Techniques in Vascular and Interventional Radiology*. 2021; 24(1): 100730. DOI: 10.1016/j.tvir.2021.100730.
- Grünwald B., Schoeps B., Krüger A. Recognizing the molecular multifunctionality and interactome of TIMP-1. *Trends in cell biology*. 2019; 29(1): 6-19. DOI: 10.1016/j.tcb.2018.08.006.
- Darenetskaya M.A., Semendyaev A.A., Stupin D.A., Kolesnikov S.I., Semenova N.V., Pesterev K.V., Kolesnikova L.I. Blood cytokines of the ovarian vein basin in different stages of pelvic varicose veins. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2023; 175(3): 311-4. DOI: 10.1007/s10517-023-05858-3.
- Gavrilov S.G., Vassilieva G.Y., Vasilev I.M., Grishenkova A.S. The role of vasoactive neuropeptides in the genesis of venous pelvic pain: A review. *Phlebology*. 2020; 35(1): 4-9. DOI: 10.1177/0268355519855.
- Darenetskaya M.A., Stupin D.A., Semendyaev A.A., Kolesnikov S.I., Shcherbatykh A.V., Tolkachev K.S., Kolesnikova L.I. Pelvic venous insufficiency: lipid peroxidation levels in ovarian venous blood. *Biomedical Research and Therapy*. 2022; 9(2): 4884-91. DOI: 10.15419/bmrat.v9i2.730.
- Javaid A., Ka A., Pm S., Arora K., Mudavath S.L. Innovative approaches and future directions in the management and understanding of varicose veins: A systematic review. *ACS Pharmacology & Translational Science*. 2024; 7(10): 2971-86. DOI: 10.1021/acspctsci.4c00430.
- Zhuk S.I., Grigorenko A.M., Shlyakhtina A.O. Etiopathogenetic approach to conservative treatment of varicose veins of the small pelvis in women. *Zdorov'e zhenshchiny*. 2017; 2: 77-82. (in Russian)
- Bendek B., Afuape N., Banks E., Desai N.A. Comprehensive review of pelvic congestion syndrome: causes, symptoms, treatment options. *Current Opinion in Obstetrics and Gynecology*. 2020; 32(4): 237-42. DOI: 10.1097/GCO.0000000000000637.
- Markelova E.V., Zdor V.V., Romanchuk A.L., Birk O.N. Matrix metalloproteinases: on their relationship with cytokine system, diagnostic and prognostic potential. *Immunopatologia, allergologiya, infektologiya*. 2016; (2): 11-22. DOI: 10.14427/jipai.2016.2.23. (in Russian)

Новикова Е.А., Семёнова Н.В., Карабчева А.Н., Никитина О.А., Марянин А.Ю.,
Колесников С.И., Баирова Т.А., Бельских А.В., Беляева Е.В., Самбялова А.Ю.,
Ершова О.А., Колесникова Л.И.



<https://elibrary.ru/qogcak>

СИСТЕМА ГЛУТАТИОНА У ЖЕНЩИН И УРОВЕНЬ МЕТАБОЛИТА ЭТАНОЛА ФОСФАТИДИЛЭТАНОЛА В ПЕРВОМ ТРИМЕСТРЕ БЕРЕМЕННОСТИ

ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», 664003, г. Иркутск, Россия

Введение. Спиртсодержащие продукты отрицательно влияют на плод, особенно на начальном этапе гестационного процесса. Этанол стимулирует образование свободных радикалов, однако, данные о состоянии антиоксидантной системы глутатиона у беременных в зависимости от уровня потребления алкоголя отсутствуют.

Цель - оценить уровень глутатиона и глутатион-зависимых ферментов в первом триместре беременности у женщин, в зависимости от уровня маркера потребления этанола - фосфатидилэтанола (PEth) в крови.

Материал и методы. В исследование включены 158 женщин в первом триместре беременности в возрасте от 18 до 40 лет. Для выявления факта и количества потребляемого алкоголя проведено количественное определение его метаболита - фосфатидилэтанола PEth:16:0/18:1 в плазме крови методом высокоеффективной жидкостной хроматографии в сочетании с tandemной масс-спектрометрией (ВЭЖХ-МС). В зависимости от концентрации PEth:16:0/18:1 выделены группы женщин по употреблению алкоголя: 1-я группа - значение PEth ≤ 8 нг/мл (не употребляющие, n=61), 2-я группа - от 8 до 45 (пьющие менее 1 дозы, n=63), 3-я группа - ≥45 (пьющие более 1 дозы, n=34). Состояние системы глутатиона оценивали по уровню восстановленного (GSH) и окисленного (GSSG) глутатиона флуориметрическим методом, концентрацию глутатион-S-трансферазы (GSTpi) и глутатионпероксидазы (GPO) определяли иммуноферментным анализом.

Результаты. Не выявлено межгрупповых различий в уровнях глутатиона и соотношении окисленной и восстановленной форм, однако концентрация GSTpi во 2-й и 3-й группах женщин достоверно ниже, чем в контроле ($p=0,028$ и $p<0,001$, соответственно). При этом концентрация GSTpi в 3-й группе женщин ниже по сравнению со 2-й группой ($p<0,001$). В 3-й группе концентрация GPO значимо выше по сравнению как с контролем, так и со 2-й группой женщин ($p=0,001$ и $p<0,001$, соответственно).

Заключение. Полученные результаты свидетельствуют об активации ферментативного звена системы глутатиона у беременных при употреблении алкоголя в первом триместре беременности.

Ключевые слова: беременность; употребление алкоголя; фосфатидилэтанол; система глутатиона; перекисное окисление липидов

Для цитирования: Новикова Е.А., Семёнова Н.В., Карабчева А.Н., Никитина О.А., Марянин А.Ю., Колесников С.И., Баирова Т.А., Бельских А.В., Беляева Е.В., Самбялова А.Ю., Ершова О.А., Колесникова Л.И. Система глутатиона у женщин и уровень метаболита этанола фосфатидилэтанола в первом триместре беременности. Клиническая лабораторная диагностика. 2025; 70 (7): 470-476.

DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2025-70-7-470-476>

EDN: QOGCAK

Для корреспонденции: Новикова Елизавета Анатольевна, мл. науч. сотр. лаборатории патофизиологии; e-mail: yelizaveta_novikova_2001@bk.ru

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Поступила 17.01.2025
Принята к печати 07.03.2025
Опубликовано 25.06.2025

Novikova E.A., Semenova N.V., Karacheva A.N., Nikitina O.A., Marianian A.Yu., Kolesnikov S.I., Bairova T.A., Belskikh A.V., Belyaeva E.V., Sambyalova A.Yu., Ershova O.A., Kolesnikova L.I.

GLUTATHIONE SYSTEM IN WOMEN AND THE LEVEL OF ETHANOL METABOLITE PHOSPHATIDYLETHANOL IN THE FIRST TRIMESTER OF PREGNANCY

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

Background. Alcohol-containing products have a negative effect on the fetus, especially at the initial stage of the gestation process. Ethanol stimulates the formation of free radicals, however, there is no data on the state of the glutathione antioxidant system in pregnant women depending on the level of alcohol consumption.

The aim. Evaluation of glutathione and glutathione-dependent enzyme levels in women during the first trimester of pregnancy, depending on the level of the ethanol consumption marker phosphatidylethanol (PEth) in the blood.

Material and methods. The study included 158 women in the first trimester of pregnancy aged 18 to 40 years. To identify the fact and amount of alcohol consumed, its metabolite, phosphatidylethanol PEth:16:0/18:1, was quantitatively determined in blood plasma using high-performance liquid chromatography combined with tandem mass spectrometry (HPLC-MS). Depending on the concentration of PEth:16:0/18:1, groups of women were identified according to alcohol consumption: group 1 - PEth value ≤ 8 ng/ml (non-drinkers, n=61), group 2 - from 8 to 45 (drinkers less than 1 dose, n=63), group 3 - ≥45 (drinkers more than 1 dose, n=34). The state of the glutathione system was assessed by the level of reduced (GSH) and oxidized (GSSG) glutathione using a fluorimetric method; the concentration of glutathione-S-transferase (GSTpi) and glutathione peroxidase (GPO) was determined using an enzyme-linked immunosorbent assay.

Results. No intergroup differences were found in glutathione levels and the ratio of oxidized and reduced forms, but the concentration

of GSTpi in the second and third groups of women was significantly lower than in the control ($p=0.028$ and $p<0.001$, respectively). At the same time, the concentration of GSTpi in the third group of women was lower compared to the second group ($p<0.001$). In the third group, the concentration of GPO was significantly higher compared to both the control and the second group of women ($p=0.001$ and $p<0.001$, respectively).

Conclusion. The obtained results indicate activation of the enzymatic link of the glutathione system in pregnant women when consuming alcohol in the first trimester of pregnancy.

Key words: pregnancy; alcohol consumption; phosphatidylethanol; glutathione system; lipid peroxidation

For citation: Novikova E.A., Semenova N.V., Karacheva A.N., Nikitina O.A., Marianian A.Yu., Kolesnikov S.I., Bairova T.A., Belskikh A.V., Belyaeva E.V., Sambyalova A.Yu., Ershova O.A., Kolesnikova L.I. Glutathione system in women and the level of ethanol metabolite phosphatidylethanol in the first trimester of pregnancy. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2025; 70 (7): 470-476 (in Russ.).

DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2025-70-7-470-476>

EDN: QOGCAK

For correspondence: Novikova E.A., junior researcher of pathophysiology laboratory; e-mail: yelizaveta_novikova_2001@bk.ru

Information about authors:

Novikova E.A.,	https://orcid.org/0009-0001-1207-3309 ;
Semenova N.V.,	https://orcid.org/0000-0002-6512-1335 ;
Karacheva A.N.,	https://orcid.org/0000-0002-7626-020X ;
Nikitina O.A.,	https://orcid.org/0000-0003-1926-9694 ;
Maryanyan A.Yu.,	https://orcid.org/0000-0002-9544-2172 ;
Kolesnikov S.I.,	https://orcid.org/0000-0003-2124-6328 ;
Bairova T.A.,	https://orcid.org/0000-0003-3704-830X ;
Belskikh A.V.,	https://orcid.org/0000-0003-3678-7274 ;
Belyaeva E.V.,	https://orcid.org/0000-0001-6050-5287 ;
Sambialova A.Yu.,	https://orcid.org/0000-0001-5790-6282 ;
Ershova O.A.,	https://orcid.org/0000-0003-0690-4636 ;
Kolesnikova L.I.,	https://orcid.org/0000-0003-3354-2992 .

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

Funding. The study had no sponsor support.

Received 17.01.2025

Accepted 07.03.2025

Published 25.06.2025

Введение. Процессы липопероксидации и активности системы антиоксидантной защиты (АОЗ) вызывают интерес при изучении нормального и патологического течения беременности, поскольку участвуют в адаптации организма к новым условиям функционирования [1]. Сбалансированная активация процессов свободно-радикального окисления сопровождает все три триместра неосложненной физиологической беременности, однако развитие окислительного стресса при дисбалансе между прооксидантами и антиоксидантами может способствовать различным осложнениям, таким как преэклампсия [2,3], задержка внутриутробного развития, выкидыши на всех сроках беременности [4]. Увеличение содержания продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) во время беременности наблюдается, в том числе при употреблении алкоголя [5].

На начальных сроках гестации употребление спиртосодержащих продуктов приводит к таким осложнениям, как маловодие, выраженный токсикоз, накопление в амниотической жидкости метаболитов, что при сильной интоксикации способно спровоцировать внутриутробную гибель плода [6-9]. Токсическое действие алкоголя на ткани плода определяется особенностями его фармакокинетики и метаболизма, в том числе в плаценте. Спустя минуту после появления алкоголя в крови беременной женщины его можно обна-

ружить и у плода, а спустя пару часов концентрация уровня алкоголя одинакова у обоих. Алкогольдегидрогеназа печени, как основной фермент, осуществляющий метаболизм этанола у плода, обнаруживается с малой метаболической активностью лишь на втором месяце гестации. Этанол, попавший в кровоток плода, в неизменном виде с мочой и через легкие выделяется в околоплодную жидкость. Гиперчувствительные к воздействию этанола сосуды пуповины испытывают сосудосуживающий эффект, что ведёт к повышению плодно-плацентарного сосудистого давления, дальнейшему дисбалансу транспорта кислорода и развитию ацидоза плода [4].

В период внутриутробного развития спиртосодержащие продукты способны влиять на несколько типов клеток в развивающихся легких и могут увеличивать риск дыхательных расстройств у новорожденного. Этанол угнетает созревание и функцию альвеолярных макрофагов, что увеличивает риск бактериальных инфекций [10,11]. Злоупотребление спиртосодержащими напитками во время беременности приводит к снижению массы плаценты. Частота встречаемости межвортсникового тромбоза и инфаркт ворсинок отмечается у женщин, употребляющих алкоголь [12]. Данные факторы подчеркивают актуальность исследований антиоксидантного статуса при употреблении алкоголя.

Привлекает внимание исследование системы антиок-

сидантной защиты, одним из важнейших звеньев которой является трипептид глутатион. Данный антиоксидант имеет две формы: восстановленную (GSH) и окисленную (GSSG), по уровню которых можно судить о состоянии резистентности организма [13-15]. При физиологически протекающей беременности глутатион-зависимая антиоксидантная система, включающая помимо глутатиона такие ферменты, как глутатионпероксидаза (GPO), глутатионредуктаза (GR) и глутатион-S-трансфераза (GSTPi), реализует защитную функцию плаценты при повышении активности процессов свободно-радикального окисления на этапе становления артериальной циркуляции [16]. Действие глутатиона реализуется не только через ферментативные звенья его метаболизма, но и путем его прямого взаимодействия со свободными радикалами. [17-19]. Учитывая, что алкоголь в организме разлагается на ацетальдегид, способствующий в свою очередь образованию свободных радикалов, представляет интерес изучение уровня глутатиона и глутатион- зависимых ферментов в первом триместре беременности у женщин, употребляющих алкоголь, в зависимости от уровня прямого биомаркера этанола - PEth:16:0/18:1 в крови, что и стало целью исследования.

Материал и методы. В исследовании приняли участие 158 женщин, наблюдавшиеся в ОГАУЗ «ИГКБ» № 8 (г. Иркутск). Определены следующие критерии включения: женщины в первом триместре беременности; возраст от 18-40 лет; подписанное информированное согласие; наблюдение в медицинском учреждении. Критерии невключения: ВИЧ-инфекция, вирусные гепатиты, сахарный диабет, обострение хронических заболеваний, острые респираторные вирусные инфекции, COVID-19, программа экстракорпорального оплодотворения, инфекции, передаваемые половым путем, артериальная гипертензия, прием лекарственных препаратов и витаминов. Критерии исключения: отзыв информированного согласия, нарушение протокола исследования, невозможность получить все запланированные образцы, технические проблемы с образцами, потеря для наблюдения. В нашем исследовании не применено ни одного критерия исключения. Исследование проведено в соответствии с Хельсинской декларацией Всемирной медицинской ассоциации (1964, ред. 2013 г.) и одобрено Комитетом по биомедицинской этике при ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (выписка из заседания № 2 от 04.03.2021 г.). Письменное информированное согласие получено от всех участников.

Взятие крови у беременных проведено натощак из локтевой вены на сроке 6-12 недель гестации. Взятие биоматериала проводилось в вакуэты с ЭДТА (K_3 EDTA) и с активатором свертывания. До транспортировки в лабораторию биоматериал хранился при температуре 4-8 °C. Доставка в лабораторию осуществлялась с соплюдением температурного режима. В лаборатории из образцов крови путем центрифугирования получали плазму и сыворотку. Гемолизат получали в процессе отмывания эритроцитов. До проведения исследования биоматериал хранили в медицинском холодильнике при -80 °C. Для выявления факта и количества употребления алкоголя проводили количественное определение прямого биомаркера алкоголя PEth:16:0/18:1 в плазме крови методом ВЭЖХ-МС на приборе «Shimadzu LC-

MS-8060» (Куто, Япония). Валидированный нижний предел количественного определения для 16:0/18:1PEth составил 1 нг/мл. В зависимости от концентрации PEth выделены группы женщин, употребляющих разные дозы алкоголя: 1-я группа - значение PEth \leq 8 нг/мл (непьющие, n=61), 2-я группа - от 8 до 45 (пьющие менее 1 дозы, n=63), 3-я группа - \geq 45 (пьющие более 1 дозы, n=34) [20]. Статистически значимых межгрупповых различий по возрасту и индексу массы тела не было.

Определение восстановленного (GSH) и окисленного (GSSG) глутатиона в гемолизате эритроцитов проводили флуориметрическим методом. Измерения проводили на спектрофлюорофотометре Флюорат 02 АБЛФ-Т при λ =350 нм и λ =420 нм, соответственно. Концентрацию GSH и GSSG выражали в ммоль/л. Рекомендованные значения для GSH=2,25-3,20 мМоль/л, для GSSG=1,70-2,30 мМоль/л.

Концентрацию глутатионпероксидазы (GPO) в сыворотке определяли методом иммуноферментного анализа с использованием коммерческого набора CloudClone Corp. SEA295Hu Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) Kit For Glutathione Peroxidase 1 (GPS1) Lot: L230815310 на автоматическом фотометре «ELx808IU» (BioTek, США). Концентрацию фермента выражали в нг/мл. Измеряемый диапазон: 0-200 мг/мл.

Концентрацию глутатион-S-трансферазы (GSTPi) в сыворотке определяли иммуноферментным анализом с использованием наборов «BLUE GENE» E01G0442 Hu GSTP1 ELISA kit for Research Use only Lot: BG231204HUS на анализаторе «ELx808IU» (BioTek, США). Концентрацию фермента выражали в нг/мл. Измеряемый диапазон: 0-10 мг/мл.

Статистический анализ проводили с использованием пакета программ STATISTICA 10.0 (Stat-Soft Inc, США). Нормальность распределения непрерывных переменных проверялась тестом Колмогорова-Смирнова с поправкой Лиллифорса и тестом Шапиро-Уилка. Данные лабораторных показателей представлены в виде медианы (Me) и интерквартильного размаха (Q_1 ; Q_3). В связи с тем, что распределение данных имело отклонения от нормальности, анализ межгрупповых различий для независимых выборок проводили с использованием критерия Краскела-Уоллиса и медианного теста с последующими апостериорными сравнениями с использованием U-критерия Манна-Уитни. Корреляции оценивали с помощью корреляционного анализа Спирмена с определением коэффициента корреляции (r). Критический уровень значимости принимался за 5% (0,05).

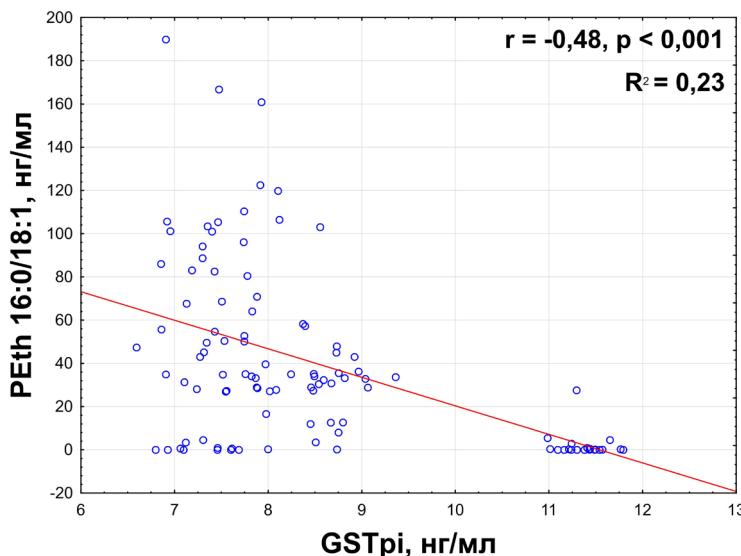
Результаты. Результаты исследования уровня параметров глутатионовой системы в исследуемых группах женщин отражены в таблице.

Согласно полученным данным не выявлено межгрупповых различий в уровнях глутатиона и соотношений окисленной и восстановленной форм, однако концентрация GSTPi во 2-й и 3-й группах женщин достоверно ниже, чем в контроле ($p=0,028$ и $p<0,001$, соответственно). При этом концентрация GSTPi в 3-й группе женщин ниже по сравнению со 2-й группой ($p<0,001$). Чем выше концентрация прямого биомаркера этанола PEth:16:0/18:1, тем ниже уровень GSTPi в крови женщин. Это подтверждает и отрицательная корреляционная взаимосвязь между данными показателями ($r=-0,48$, $p<0,001$) (см. рисунок).

Уровень PEth:16:0/18:1, глутатиона и ферментов глутатионовой системы в исследуемых группах женщин

Показатель	1-я группа	2-я группа	3-я группа	p
PEth:16:0/18:1, нг/мл	0,40 (0; 3,02)	28,86 (18,78; 35,04)*	82,76 (55,2; 104,4) *,#	<0,001
GSH, ммоль/л	2,36 (2,10; 2,51)	2,35 (2,03; 2,54)	2,44 (2,24; 2,59)	0,347
GSSG, ммоль/л	1,94 (1,75; 2,09)	1,90 (1,66; 2,14)	1,89 (1,80; 2,12)	0,868
GSH/GSSG	1,22 (1,01; 1,37)	1,24 (0,91; 1,43)	1,22 (1,08; 1,38)	0,996
GSTpi, нг/мл	11,09 (7,60; 11,43)	8,46 (7,87; 8,75)*	7,47 (7,30; 7,88)*,#	<0,001
GPO, нг/мл	95,12 (79,67; 106,14)	78,85 (61,78; 108,02)	118,62 (101,98; 139,48)*,#	<0,001

Примечание. * - $p(U) < 0,05$ по сравнению с контролем (1-я группа); # - $p(U) < 0,05$ между 2-й и 3-й группами.



Корреляционная взаимосвязь между PEth:16:0/18:1 и GSTpi.

В 3-й группе беременных женщин на фоне снижения концентрации GSTpi, концентрация GPO значительно выше по сравнению как с контролем, так и со 2-й группой женщин ($p=0,001$ и $p<0,001$, соответственно).

Обсуждение. Алкоголь-индуцированное образование свободных радикалов требует активации всех компонентов системы АОЗ [21-24], служащей буфером, препятствующим переходу ПОЛ из физиологического состояния в патологическое. Возникающий сбой в работе механизмов системы АОЗ при беременности вследствие нарушения редокс-метаболизма, приводит к развитию окислительного стресса той или иной степени выраженности [25]. При физиологическом течении беременности плацентарный окислительный стресс присутствует на протяжении всех трех триместров гестации. Он необходим для нормального функционирования, в том числе и для активации протеинкиназ [26]. Активация процесса ПОЛ, приводит к образованию гидроперекисей холестерина, которые, в свою очередь, являются предшественниками прогестерона, таким образом участвуя в синтезе данного гормона. Прогестерон способствует подготовке эндометрия матки к имплантации оплодотворенной яйцеклетки и в дальнейшем содействует сохранению беременности [11].

Высокие уровни АФК могут инициировать воспаление и вызывать апоптоз плацентарных тканей. Работа С. Biondi и соавторов [27] подчеркивает важную роль оксидативного баланса при гестации. Плацента - источник многих прооксидантных агентов и антиоксидантных ферментных систем, благодаря чему при физиоло-

гической беременности способна контролировать ПОЛ [28]. Под действием алкоголя в плаценте происходят деструктивно-пролиферативные изменения, приводящие к нарушению её основных функций. В условиях хронической алкогольной интоксикации происходит снижение массы плаценты, происходят дистрофические и некротические изменения хорионального эпителия, что в дальнейшем может проявиться хронической фетаплацентарной недостаточностью, гипоксией, гипотрофией плода [29]. На протяжении всей беременности плацента является одним из важнейших органов для здоровья женщины и развития плода, поскольку она секreteирует многочисленные гормоны, необходимые для подходящей внутриутробной среды. Ряд исследований показал, что алкоголь нарушает различные сигнальные каскады в рецепторах, сопряженных с G-белком, и рецепторах тирозинкиназы, в основном за счет своего воздействия на сигнальный путь инсулина и инсулиноподобного фактора роста 1 (IGF-1). Этот последний каскад участвует в пролиферации, миграции и дифференциации клеток, а также в плацентации [30-32].

Трипептид глутатион принимает участие на всех этапах защиты организма, имея многогранное функциональное значение с превалирующим влиянием на свободно-радикальные процессы [33,34]. Глутатион, как неферментный антиоксидант, максимальную деятельность проявляет кратковременно, в самом начале окислительного стресса. Для регуляции многих процессов в клетках важно постоянное соотношение окисленных и восстановленных SH-групп.

Концентрация глутатиона в условиях пероксидации в большей степени зависит от изменения активности ферментов, регулирующих соотношение его форм [35-37]. Некоторыми исследованиями показано, что лекарственный препарат глутатион высокоэффективен в лечении алкогольной зависимости [38]. Полученные нами данные в настоящем исследовании указывают на ферментативную нейтрализацию свободных радикалов у беременных, употребляющих алкоголь.

Третья линия ферментативной антипероксидной защиты предупреждает появление вторичных продуктов пероксидации [39]. Определение фермента GST_{Pi} имеет важную диагностическую значимость, поскольку многие белки обладают глутатион-S-трансферазной активностью, локализуясь в различных тканях и внутриклеточных компартментах [10]. GST_{Pi} - незаменимый компонент системы АОЗ, использующий GSH для конъюгации с неполярными соединениями, принимающий участие в детоксикации продуктов окислительного стресса [40, 41].

В исследовании В.Е. Высокогорского и соавторов [22] при изучении нарушения обмена глутатиона у людей, больных алкоголизмом, авторы отмечают неэффективность антиокислительной защиты, связанную с системой глутатиона. Е.С. Ефременко и соавт. [13] при исследовании восстановленной формы глутатиона и ферментов глутатионовой системы у пациентов с алкоголизмом отмечают снижение уровня GSH и увеличение концентрации GPO и GR, что в свою очередь недостаточно для поддержания оптимального уровня GSH. По результатам нашего исследования, изменение концентрации GST_{Pi} во 2-й и 3-й группе женщин свидетельствует о том, что фермент расходуется и выполняет свои функции в полном объеме. Можно предположить, что тенденция к понижению концентрации GST_{Pi} в сыворотке, в зависимости от содержания в крови прямого биомаркера этанола PEth:16:0/18:1 свидетельствует о расходе фермента на процессы детоксикации метаболитов этанола.

В группе женщин, употребляющих более одной дозы алкоголя, повышение GPO отражает защитную реакцию глутатионовой системы. Глутатион-опосредованное восстановление гидропероксидов требует катализа GPO. Данный фермент катализирует восстановление глутатионом перекиси водорода, поскольку обладает высоким сродством с ней, в результате чего образуется H₂O и оксикислоты, которые далее могут быть метаболизированы клеточными системами [14]. При физиологически протекающей беременности GPO связывает гидроперекиси липидов, лимитируя активность простагландин-Н-сингтазы. Высокий уровень простагландин-Н-сингтазы увеличивает образование тромбоксана, что может привести к повреждению эндотелия сосудов плаценты с дальнейшим развитием тромбоза [40].

Нарушения в обмене глутатион-зависимых ферментов могут быть обусловлены рядом причин, в том числе молекулярными событиями, связанными с образованием аддуктов глутатиона с ненасыщенными реактивными альдегидами, относящимися к маркерам ПОЛ клеток [13]. В большинстве реакций, катализируемых GST_{Pi} и GPO, дисульфидной связью соединяются две молекулы GSH, образуя GSSG. Учитывая контрольные

уровни окисленной и восстановленной формы глутатиона в группах женщин, употребляющих алкоголь, можно предположить, что активность ферментативного звена глутатионовой системы достаточна для поддержания тиол-сульфидного равновесия. В любом случае, изменения глутатионового статуса могут способствовать большему увеличению окислительного стресса, что негативно отразится на здоровье матери и плода.

Заключение. Результаты исследования показывают, что в I триместре беременности при употреблении алкоголя активируется ферментативное звено системы глутатиона. Эта система особенно важна для поддержания антиоксидантной защиты организма в период гестации, поскольку здоровье матери напрямую взаимосвязано с внутриутробным физическим и психологическим развитием плода. Уровни восстановленного и окисленного глутатиона у женщин, употребляющих более 1 дозы алкоголя, не имеют статистически значимых отличий от группы контроля, можно предположить, что работа ферментативного звена оптимальна и достаточна. С другой стороны, выявленные изменения по глутатионзависимым ферментам могут свидетельствовать о напряжении в функционировании тиол-дисульфидной системы. Проблема употребления алкоголя на современном этапе развития общества является одним из наиболее актуальных вопросов, решение которого позволит снизить риск осложнений гестационного процесса и развития пороков плода. Контроль уровня глутатиона и ферментов глутатионовой системы может помочь в принятии решения о лекарственной коррекции или проведения воспитательной работы с беременной. Направления дальнейших исследований подразумевают комплексное исследование про- и антиоксидантного звеньев для понимания механизмов всей системы в целом.

Ограничения исследования. Настоящее исследование имеет ряд ограничений. Во-первых, не учитывалось влияние течения самой беременности на метаболизм глутатиона. Во-вторых, не изучено питание беременных, что также могло повлиять на их антиоксидантный статус. Не определялась активность глутатионредуктазы, что могло бы более полно оценить функционирование глутатионовой системы.

ЛИТЕРАТУРА (ПП. 10, 18, 19, 26, 27, 29-32, 35, 36 СМ. REFERENCES)

- Гапон М. Н., Логинов И. А., Тагиров З. Т., Карпун Е. О. Окислительный стресс при физиологически протекающей беременности. Обмен веществ при адаптации и повреждении - Дни клинической лабораторной диагностики на Дону: Материалы XIX Российской научно-практической конференции с международным участием. Ростов-на-Дону, 20 ноября 2020 г. Ростов-на-Дону: Ростовский государственный медицинский университет; 2020; 7-10. EDN FR-JGW.
- Граф А.В., Байжуманов А.А., Маслова М.В., Крушинская Я.В., Маклакова А.С., Соколова Н.А. и др. Активность антиоксидантной системы при беременности в норме и при гипоксии. *Вестник Московского Университета*. 2021; 76(3): 126-33.
- Погорелова Т.Н., Саркисян О.Г., Решетникова Э.А., Гунько В.О., Крукнер И.И., Никашина А.А., и др. Сравнительный анализ процессов синтеза и катаболизма газотрансмиттеров в плаценте при физиологической беременности и преэклампсии. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2024; 69(1): 565-70. DOI: 10.51620/0869-2084-2024-69-11-565-570. EDN EGHNBI.

4. Красный А.М., Кан Н.Е., Тютюнник В.Л., Ховхасаева П.А., Волгина Н.Е., Сергунина О.А. и др. Окислительный стресс при преэклампсии и при нормальной беременности. *Акушерство и Гинекология.* 2016; 5: 90-4. DOI: 10.18565/aig.2016.5.90-94.
5. Новикова Е.А., Семёнова Н.В., Каракеева А.Н., Никитина О.А., Марянин А.Ю., Баирова Т.А. и др. Содержание продуктов липопероксидации и активность супероксиддисмутазы в крови у женщин в зависимости от уровня фосфатидилэтанола в первом триместре беременности. *Acta Biomedica Scientifica.* 2024; 9(6): 130-7. DOI: 10.29413/ABS.2024-9.6.13.
6. Марянин А.Ю., Анисимова А.О., Калькова А.Н., Раширова М.А., Рычкова Л.В., Мурадян А.Э. Отдаленные последствия влияния на плод. *Акушерство и Гинекология.* 2023; 6: 16-22.
7. Зобин Ю.В., Церковникова Г.Ю., Макаренко Т.Н., Третьяков А.Б. Внутриутробное отравление алкоголем у новорожденных. *Сибирский медицинский журнал.* 2018; 152(1): 47-50.
8. Зиганшин А.М., Ящук А.Г., Мулюков А.Р., Омаров М.А., Хисамова Н.Р. Влияние алкоголя на пренатальное развитие плода. *Сибирское медицинское обозрение.* 2022; 4(136): 5-12. DOI: 10.20333/25000136-2022-4-5-12. EDN LQSIXT.
9. Шушпанова Т.В., Солонский А.В., Шумилова С.Н., Бохан Н.А. Формирование нейрональных элементов нейроиммунной системы эмбрионального мозга человека при пренатальном влиянии алкоголя. *Сибирский вестник психиатрии и наркологии.* 2023; 1(118): 14-22. DOI: 10.26617/1810-3111-2023-1(118)-14-22. EDN MEFGKQ.
10. Савченко А.А., Титова Н.М., Новикова Л.А., Система материнско-плацентарного кровообращения. *Вопросы функциональной диагностики.* Красноярск: Красноярский государственный университет; 2006. ISBN 5-7638-0634-4. EDN QLMURN.
11. Щеголев А.И., Туманова У.Н. Роль алкоголя в развитии повреждения плаценты. *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований.* 2018; 2: 208-12.
12. Ефременко Е.С., Жукова О.Ю., Титов Д.С., Никонов Д.А., Сидоров Г.Г. Андреев К.А. Глутатион-зависимые механизмы антиоксидантной защиты при алкоголизме. *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований.* 2019; 4: 105-8.
13. Скрипниченко Ю.П., Пятаева С.В., Володина М.А., Цвиркун Д.В., Баранов И.И., Высоких М.Ю. и др. Особенности течения окислительно-восстановительных реакций в крови у женщин с физиологически протекающей и осложненной беременностью. *Акушерство и Гинекология.* 2017; 8: 60-6.
14. Яшин А., Немзер Б., Веденин А., Яшин Я. Определение тиолов в биологических жидкостях человека методом ВЭЖХ. *Аналитика.* 2016; 6(31): 80-7. EDN WZESPZ.
15. Павлова Н.Г., Прокопенко В.М., Парцалис Г.К. Значение ферментов глутатионзависимого звена антиоксидантной защиты для прогноза невынашивания беременности. *Журнал акушерства и женских болезней.* 2010; 2: 65-8.
16. Семёнова Н.В., Бричагина А.С., Мадаева И.М., Колесникова Л.И. Ферментативный компонент системы глутатиона у бурятских женщин зависит от фазы менопаузы. *Журнал эволюционной биохимии и физиологии.* 2022; 58(4): 971-8. DOI: 10.1134/S0022093022040032. EDN IPKXRB.
17. Марянин А.Ю., Калькова А.Н., Раширова М.А., Семёнова Н.В., Бельских А.В., Беляева Е.В. и др. Оценка течения гестационного процесса у женщин методом опроса и в зависимости от лабораторно подтверждённого факта употребления алкоголя в пренатальном периоде (кросс-секционное исследование). *Acta Biomedica Scientifica.* 2023; 8(4): 49-58.
18. Березкин А.С., Говорин Н.В. Окислительный стресс у пациентов с алкогольным делирием. *Социальная и клиническая психиатрия.* 2018; 28(4): 26-30. EDN PLMQGO.
19. Высокогорский В.Е., Ефременко Е.А., Быков Д.Е., Жукова О.Ю., Лопухов Г.А. Нарушение обмена глутатиона при алкоголизме. *Омский научный вестник.* 2011; 1(104): 9-12. EDN OOFLCX.
20. Соснин Д.Ю., Ховаева Я.Б., Малютина Н.Н., Ватолин Д.М., Подъячнова А.И., Энграус Р.Е. Антиоксидантный статус сыворотки крови при новой коронавирусной инфекции. *Клиническая лабораторная диагностика.* 2023; 68(1): 18-22. DOI: 10.51620/0869-2084-2023-68-1-18-22. EDN FAQWKO.
21. Соловьева Н.В., Лейхтер С.Н., Соловьева В.А., Бичкаева Ф.А., Ишеков Н.С., Калякина О.Е. и др. Алкоголь-ассоциированные нарушения липидного обмена. *Клиническая лабораторная диагностика.* 2022; 67(12): 705-9. DOI: 10.51620/0869-2084-2022-67-12-705-709.
22. Никитина О.А., Даренская М.А., Семёнова Н.В., Колесникова Л.И. Система антиоксидантной защиты: регуляция метаболических процессов, генетические детерминанты, методы определения. *Сибирский научный медицинский журнал.* 2022. 42(3): 1-17. DOI: 10.18699/SSMJ20220301.
23. Ванько Л.В., Сафонова В.Г., Матвеева Н.К., Сухих Г.Т. Роль окислительного стресса в развитии осложнений беременности и послеродового периода. В кн.: Окислительный стресс в генезе акушерских осложнений. Ванько Л.В., Сафонова В.Г., Матвеева Н.К., Сухих Г.Т. Окислительный стресс в генезе акушерских осложнений. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2010: 141-6.
24. Борисенок О.А., Бушма М.И., Басалай О.Н., Радковец А.Ю. Биологическая роль глутатиона. *Медицинские новости.* 2019; 7(298): 3-8. EDN DHOIRO.
25. Скребцова Н.В. Физиологическая роль глутатиона в организме. *Российские биомедицинские исследования.* 2024; 9(2): 86-95. DOI: 10.56871/RBR.2024.97.48.010. EDN WNDDYY.
26. Семёнова Н.В., Мадаева И.М., Колесникова Л.И. Активность системы глутатиона в крови женщин с избыточной массой тела в постменопаузе. *Клиническая лабораторная диагностика.* 2021; 66(10): 581-5.
27. Фецура И.В. Использование глутатиона в лечении алкогольной болезни печени. *Вестник новых медицинских технологий.* 2023; 30(3): 34-8. DOI: 10.24412/1609-2163-2023-3-34-38. EDN SDSMBG.
28. Жукова О.Ю., Диценко К.Н., Увеличение содержания восстановленной формы глутатиона в ткани печени как возможный фактор токсичности этанола. *Современные научные исследования и инновации.* 2016; 10(66): 27-31. EDN XBHDYV.
29. Прокопенко В.М., Павлова Н.Г. Значение глутатион-зависимых ферментов антиоксидантной защиты в функциональной активности плаценты человека. *Акушерство и гинекология.* 2014; 11: 62-7.
30. Шуматова Т.А., Коваленко Д.В., Приходченко Н.Г. Роль полиморфных вариантов генов глутатион-S-трансфераз в патогенезе заболеваний с мультифакториальной направленностью. *Дальневосточный медицинский журнал.* 2023; 1: 86-93. DOI: 10.35177/1994-5191-2023-1-15. EDN IQMIRI.

REFERENCES

1. Gapon M.N., Loginov I.A., Tagirov Z.T., Karpun E.O. Oxidative stress during physiologically progressing pregnancy. Metabolism during adaptation and damage - days of clinical laboratory diagnostics in the Don region: Proceedings of the XIX Russian scientific and practical conference with international participation. Rostov-on-Don, November 20, 2020. Rostov-on-Don: Rostovskiy gosudarstvennyi meditsinskiy universitet; 2020: 7-10. EDN FRJGWJ. (in Russian)
2. Graf A.V., Baizhumanov A.A., Maslova M.V., Krushinskaya Ya.V., Maklakova A.S., Sokolova N.A. et al. Activity of the antioxidant system during pregnancy under normal conditions and under hypoxia. *Vestnik Moskovskogo Universiteta.* 2021; 76(3): 126-33. (in Russian)
3. Pogorelova T.N., Sarkisyan O.G., Reshetnikova E.A., Gunko V.O., Kruckier I.I., Nikashina A.A. et al. Comparative analysis of the processes of synthesis and catabolism of gasotransmitters in the placenta during physiological pregnancy and preeclampsia. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika.* 2024; 69(11): 565-70. DOI: 10.51620/0869-2084-2024-69-11-565-570. EDN EGHHBI. (in Russian)
4. Krasny A.M., Kan N.E., Tyutyunnik V.L., Khovkhaeva P.A., Volgina N.E., Sergunina O.A. et al. Oxidative stress in preeclampsia and normal pregnancy. *Akusherstvo i Ginekologiya.* 2016; 5: 90-4. DOI: 10.18565/aig.2016.5.90-94. (in Russian)
5. Novikova E.A., Semenova N.V., Karacheva A.N., Nikitina O.A., Maryanyan A.Yu., Bairova T.A. et al. The content of lipid peroxidation products and superoxide dismutase activity in the blood of women depending on the level of phosphatidylethanol in the first trimester of pregnancy. *Acta Biomedica Scientifica.* 2024; 9(6): 130-7. DOI: 10.29413/ABS.2024-9.6.13. (in Russian)
6. Maryanyan A.Yu., Anisimova A.O., Kalkova A.N., Rashidova M.A., Rychkova L.V., Muradyan A.E. Long-term effects of influence on the fetus. *Akusherstvo i Ginekologiya.* 2023; 6: 16-22. (in Russian)

7. Zobin Yu.V., Tserkovnikova G.Yu., Makarenko T.N., Tretyakov A.B. Intrauterine alcohol poisoning in newborns. *Sibirskiy meditsinskiy zhurnal*. 2018; 152(1): 47-50. (in Russian)
8. Ziganshin A.M., Yashchuk A.G., Mulyukov A.R., Omarov M.A., Khisamova N.R. The effect of alcohol on prenatal development of the fetus. *Sibirskoe meditsinskoе obozrenie*. 2022; 4(136): 5-12. DOI: 10.20333/25000136-2022-4-5-12. EDN LQIXT. (in Russian)
9. Shushpanova T.V., Solonsky A.V., Shumilova S.N., Bokhan N.A. Formation of neuronal elements of the neuroimmune system of the human embryonic brain under prenatal influence of alcohol. *Sibirskiy vestnik psichiatrii i narkologii*. 2023; 1(118): 14-22. DOI: 10.26617/1810-3111-2023-1(118)-14-22. EDN MEGKQ. (in Russian)
10. Sharma R., Yang Y., Sharma A., Awasthi Y. Antioxidant role of glutathione-S-transferases: protection against oxidant toxicity and regulation of stress-mediated apoptosis. *Antioxidants and Redox Signaling*. 2006; 6: 289-300.
11. Savchenko A.A., Titova N.M., Novikova L.A. Mother-placenta-fetus system. *Voprosy funktsional'noy diagnostiki*. Krasnoyarsk: Krasnoyarskiy gosudarstvennyi universitet; 2006. ISBN 5-7638-0634-4. EDN QLMURN. (in Russian)
12. Shchegolev A.I., Tumanova U.N. The role of alcohol in the development of placental damage. *Mezhdunarodnyi zhurnal prikladnykh i fundamental'nykh issledovanij*. 2018; 2: 208-12. (in Russian)
13. Efremenko E.S., Zhukova O.Yu., Titov D.S., Nikonorov D.A., Sidorov G.G., Andreev K.A. Glutathione-dependent mechanisms of antioxidant defense in alcoholism. *Mezhdunarodnyi zhurnal prikladnykh i fundamental'nykh issledovanij*. 2019; 4: 105-8. (in Russian)
14. Skripnichenko Yu.P., Pyataeva S.V., Volodina M.A., Tsvirkun D.V., Baranov I.I., Vysokikh M.Yu. et al. Features of the course of oxidation-reduction reactions in the blood of women with physiologically progressing and complicated pregnancy. *Akusherstvo i Ginekologiya*. 2017; 8: 60-6. (in Russian)
15. Yashin A., Nemzer B., Vedenin A., Yashin Ya. Determination of thiols in human biological fluids by HPLC. *Analitika*. 2016; 6(31): 80-7. EDN WZESPZ. (in Russian)
16. Pavlova N.G., Prokopenko V.M., Partsalis G.K. The Importance of glutathione-dependent antioxidant defense enzymes for predicting miscarriage. *Zhurnal akusherstva i zhenskikh bolezney*. 2010; 2: 65-8. (in Russian)
17. Semenova N.V., Brichagina A.S., Madaeva I.M., Kolesnikova L.I. Enzymatic component of the glutathione system in Russian and buryat women depends on the menopausal phase. *Zhurnal evolyutsionnoy biokhimii i fiziologii*. 2022; 58(4): 971-8. DOI: 10.1134/S0022093022040032. EDN IPKXPB. (in Russian)
18. Circu M., Aw T.Y. Glutathione and modulation of cell apoptosis. *Biochimica et Biophysica Acta*. 2012; 1823(10): 1767-77.
19. Hahn J., Murnane P., Vittinghoff E., Muyindike W., Emeyenu N., Fatch R. et al. Factors associated with phosphatidylethanol (PEth) sensitivity for detecting unhealthy alcohol use: An individual patient data meta-analysis. *Alcohol Clinical Experimental Research*. 2021; 45(6): 1166-87. DOI: 10.1111/acer.14611.
20. Maryanyan A.Yu., Kalkova A.N., Rashidova M.A., Semenova N.V., Belskikh A.V., Belyaeva E.V. et al. Assessment of the course of the gestational process in women by a survey method and depending on the laboratory-confirmed fact of alcohol consumption in the prenatal period (cross-sectional study). *Acta Biomedica Scientifica*. 2023; 8(4): 49-58. DOI: 10.29413/ABS.2023-8.4.6. (in Russian)
21. Berezhkin A.S., Govorin N.V. Oxidative stress in patients with alcoholic delirium. *Sotsial'naya i klinicheskaya psichiatriya*. 2018; 28(4): 26-30. EDN PLMQGO. (in Russian)
22. Vysokogorsky V.E., Efremenko E.A., Bykov D.E., Zhukova O.Yu., Lopukhov G.A. Glutathione metabolism disorders in alcoholism. *Omskiy nauchnyi vestnik*. 2011; 1(104): 9-12. EDN OOFLCX. (in Russian)
23. Sosnin D.Yu., Khovaeva Ya.B., Malyutina N.N., Vatolin D.M., Pod'yanova A.I., Engaus R.E. Antioxidant status of blood serum in new coronavirus infection. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2023; 68(1): 18-22. DOI: 10.51620/0869-2084-2023-68-1-18-22. EDN FAQWKO. (in Russian)
24. Solovieva N.V., Leikhter S.N., Solovieva V.A., Bichkaeva F.A., Ishekov N.S., Karyakina O.E. et al. Alcohol-associated lipid metabolism disorders. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2022; 67(12): 705-9. DOI: 10.51620/0869-2084-2022-67-12-705-709. (in Russian)
25. Nikitina O.A., Darenetskaya M.A., Semenova N.V., Kolesnikova L.I. Antioxidant defense system: regulation of metabolic processes, genetic determinants, methods of determination. *Sibirskiy nauchnyi meditsinskiy zhurnal*. 2022. 42(3): 1-17. DOI: 10.18699/SSMJ20220301. (in Russian)
26. Charlton F., Bobek G., Stain-Gardner T., Price W., Mirabito C., Xu B. et al. The protective effect of apolipoprotein in models of trophoblast invasion and preeclampsia. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. 2017; 312(1): 40-8.
27. Biondi C., Pavan B., Lunghi L., Fiorini S., Vesce F. The role and modulation of the oxidative balance in pregnancy. *Current Pharmaceutical Design*. 2005; 11: 2075-89.
28. Van'ko L.V., Safronova V.G., Matveeva N.K., Sukhikh G.T. The role of oxidative stress in the development of pregnancy and postpartum complications. In: Oxidative stress in the genesis of obstetric complications. Vanko L.V., Safronova V.G., Matveeva N.K., Sukhikh G.T. Oxidative stress in the genesis of obstetric complications. Moscow: GEOTAR-Media; 2010: 141-6. (in Russian)
29. Popova S., Charness M.E., Burd L., Chawford A., Hoyme H.E., Mukherjee R.A.S. et al. Fetal alcohol spectrum disorders. *Nature Reviews Disease Primers*. 2023; 9(1): 11. DOI: 10.1038/s41572-023-00420-x.
30. Martin-Estal I., Castilla-Cortazar I., Castorena-Torres F. The placenta as a target for alcohol during pregnancy: the close relation with IGFs signaling pathway. *Reviews of physiology, biochemistry and pharmacology*. 2021; 180: 119-53. DOI: 10.1007/112_2021_58.
31. Asp J., Bergman L., Lager S., Axelsson O., Wilksom A., Hesselman S. Alcohol exposure prior to pregnancy-does hazardous consumption affect placenta and inflammatory-mediated pregnancy outcomes? A Swedish population-based cohort study. *Acta Obstetricia et Gynecologica Scandinavica*. 2022; 101(12): 1386-94. DOI: 10.1111/aogs.14451.
32. Shukrun N., Shabtai Y., Pillemeter G., Fainsod A. Retinoic acid signaling reduction recapitulates the effects of alcohol on embryo size. *Genesis*. 2019; 57: 7-8. DOI: 10.1002/dvg.2328.
33. Borisenok O.A., Bushma M.I., Basalai O.N., Radkovets A.Yu. Biological role of glutathione. *Meditinskije novosti*. 2019; 7(298): 3-8. EDN DHOURO. (in Russian)
34. Skrebtsova N.V. Physiological role of glutathione in the body. *Rossijskie biomeditsinskie issledovaniya*. 2024; 9(2): 86-95. DOI: 10.56871/RBR.2024.97.48.010. EDN WNDDDY. (in Russian)
35. Semenova N.V., Vyrupaeva E.V., Kolesnikov S.I., Darenetskaya M.A., Novikova E.A., Petrova A.G. et al. Menopausal women with moderate and asymptomatic COVID-19: antioxidant defense system biomarkers. *Acta Biomedica Scientifica*. 2024; 9(2): 112-9. DOI: 10.29413/ABS.2024-9.2.11. EDN TEFJTF.
36. Semenova N.V., Madaeva I.M., Brichagina A.S., Kolesnikov S.I., Kolesnikova L.I. Glutathione component of antioxidant status in menopausal women with insomnia. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2022; 173(6): 775-8. DOI: 10.1007/s10517-022-05628-7. EDN JPVKLZ.
37. Semenova N.V., Madaeva I.M., Kolesnikova L.I. Activity of the glutathione system in the blood of overweight postmenopausal women. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2021; 66(10): 581-5. (in Russian)
38. Fetursa I.V. Use of glutathione in the treatment of alcoholic liver disease. *Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologiy*. 2023; 30(3): 34-8. DOI: 10.24412/1609-2163-2023-3-34-38. EDN SDSMBG. (in Russian)
39. Zhukova O.Yu., Didenko K.N. Increased content of reduced glutathione in liver tissue as a possible factor in ethanol toxicity. *Sovremennye nauchnye issledovaniya i innovatsii*. 2016; 10(66): 27-31. EDN XBHDYV. (in Russian)
40. Prokopenko V.M., Pavlova N.G. The importance of glutathione-dependent antioxidant defense enzymes in the functional activity of human placenta. *Akusherstvo i ginekologiya*. 2014; 11: 62-7. (in Russian)
41. Shumatova T.A., Kovalenko D.V., Prikhodchenko N.G. The role of polymorphic variants of glutathione-S-transferase genes in the pathogenesis of diseases with a multifactorial focus. *Dal'nevostochnyi meditsinskiy zhurnal*. 2023; 1: 86-93. DOI: 10.35177/1994-5191-2023-1-15. EDN IQMIRI. (in Russian)

ИММУНОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2025



<https://elibrary.ru/rvacyr>

Гимранова И.А.¹, Акмалова Г.М.¹, Гареев Е.М.¹, Швец Д.Ю.¹, Хисамова Н.Ф.²

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ПАРАЛЛЕЛИ У ПАЦИЕНТОВ С ГИНГИВИТОМ И ХРОНИЧЕСКИМ ГЕНЕРАЛИЗОВАННЫМ ПАРОДОНТИТОМ

¹ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, 450008, Уфа, Россия;

²ГБУЗ Республикаанская детская клиническая больница, 450092, Уфа, Россия

Гингивит и пародонтит считаются одними из наиболее распространенных воспалительных заболеваний полости рта, способствующие разрушению структурных компонентов опорного аппарата зубов. В этиопатогенезе данной группы заболеваний важную роль играет не только взаимодействие организма с определенными микроорганизмами, но и их взаимодействие с гуморальными и клеточными факторами иммунитета организма хозяина. В литературе немного описано об изменениях в показателях иммунной системы в зависимости от клинической формы гингивита и пародонтита.

Цель работы: оценка изменений иммунологических показателей у пациентов с гингивитом и хроническим генерализованным пародонтитом (ХГП) различной степени тяжести.

Материал и методы. Обследованы 156 пациентов с диагнозом гингивит, ХГП легкой и средней степенями тяжести, группа здоровых. Концентрацию про- и противовоспалительных цитокинов в ротовой жидкости определяли методом иммуноферментного анализа, содержание иммуноглобулинов IgA, IgM, IgG в сыворотке крови - методом радиальной иммунодиффузии в геле по Манчини. Для определения популяций и субпопуляций лимфоцитов проводили иммунофенотипирование лимфоцитов методом проточной цитометрии. Для оценки фагоцитарной активности проводили НСТ-тест, определяли фагоцитарный индекс и фагоцитарный показатель.

Результаты. Возникновение воспалительных заболеваний пародонта способствует повышению про- (ИЛ-2, ФНОа) и противовоспалительных цитокинов (ИЛ-4), sIgA, на фоне снижения уровня ИЛ-6 и ИЛ-10. По мере прогрессирования пародонтита от легкой до средней степени тяжести наблюдалось повышение показателей гуморального - IgA, IgM, IgG и клеточного - CD₄⁺, CD₁₆⁺ иммунитета. При оценке изменений в показателях неспецифического звена у пациентов с ХГП выявлено снижение фагоцитарной активности.

Заключение. Обосновано включение определения иммунологических показателей в алгоритмы диагностики воспалительных заболеваний пародонта в комплексе с другими методами.

Ключевые слова: гингивит; хронический генерализованный пародонтит; ротовая жидкость; иммунный статус; клеточный иммунитет; гуморальный иммунитет

Для цитирования: Гимранова И.А., Акмалова Г.М., Гареев Е.М., Швец Д.Ю., Хисамова Н.Ф. Иммунологические параллели у пациентов с гингивитом и хроническим генерализованным пародонтитом. Клиническая лабораторная диагностика. 2025; 70 (7): 477-483.

DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2025-70-7-477-483>

EDN: RVACYR

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

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Поступила 10.01.2025

Принята к печати 05.04.2025

Опубликовано 25.06.2025

Gimranova I.A.¹, Akmalova G.M.¹, Gareev E.V.¹, Shvets D.Yu.¹, Hisamova N.F.²

IMMUNOLOGICAL PARALLELS IN PATIENTS WITH GINGIVITIS AND CHRONIC GENERALISED PERIODONTITIS

¹Bashkir State Medical University (BSMU), 450008, Ufa, Russia;

²Republican Children's Clinical Hospital, 450092, Ufa, Russia

Gingivitis and periodontitis are considered to be among the most common inflammatory diseases of the oral cavity, contributing to the destruction of the structural components of the supporting apparatus of the teeth. In the etiopathogenesis of this group of diseases, an important role is played not only by the interaction of the macroorganism with certain microorganisms, but also by their interaction with humoral and cellular immunity factors of the host organism. There is relatively little data in the literature on specific changes in immune system parameters depending on the clinical form of gingivitis and periodontitis.

Purpose of work: evaluation of changes in immunological parameters in patients with gingivitis and chronic generalized periodontitis (CGP) of various degrees of severity.

Material and methods. 156 patients with gingivitis, chronic generalized periodontitis of mild and moderate severity, as well as a group of healthy people were examined. The concentration of pro- and anti-inflammatory cytokines in oral fluid was determined by enzyme

immunoassay, and the content of immunoglobulins IgA, IgM, IgG in blood serum was determined by Mancini radial immunodiffusion in gel. To determine the populations and subpopulations of lymphocytes, lymphocyte immunophenotyping was performed by flow cytometry. To assess phagocytic activity, an HCT test was performed, the phagocytic index and phagocytic index were determined.

Results. It was found that the onset of inflammatory periodontal diseases promotes the increase of pro- (IL-2, TNF α) and anti-inflammatory cytokines (IL-4), sIgA, against the background of decreased levels of IL-6 and IL-10. As periodontitis progressed from mild to moderate severity, there was an increase in humoral (IgA, IgM, IgG) and cellular (CD_4^+ , CD_{16}^+) immunity. When assessing changes in the indicators of the nonspecific link in patients with chronic generalized periodontitis, a decrease in phagocytic activity was revealed.

Conclusion. The inclusion of the determination of immunological parameters in the algorithms for the diagnosis of inflammatory periodontal diseases in combination with other methods is justified.

Key words: gingivitis; generalized periodontitis; oral fluid; immune status; cellular immunity; humoral immunity

For citation: Gimranova I.A., Akmalova G.M., Gareev E.V., Shvets D.Yu., Hisamova N.F. Immunological parallels in patients with gingivitis and chronic generalized periodontitis. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2025; 70 (7): 477-483 (in Russ.).

DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2025-70-7-477-483>

EDN: RVACYR

For correspondence: Gimranova I.A., PhD. Sci. Med., head Department of Fundamental and Applied Microbiology BSMU; e-mail: mia8408@mail.ru

Information about authors:

Gimranova I.A., <https://orcid.org/0000-0003-3330-9437>;

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

Gareev E.M., <https://orcid.org/0000-0002-6561-0892>;

Shvets D.Yu., <https://orcid.org/0000-0003-4292-4562>;

Hisamova N.F., <https://orcid.org/0009-0001-5031-7562>.

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

Acknowledgment. The study had no sponsor support.

Received 10.01.2025

Accepted 05.04.2025

Published 25.06.2025

Заболевания пародонта, в том числе пародонтит и гингивит, являются одними из самых распространенных воспалительных заболеваний полости рта, встречающихся у 20-50% людей в мире [1-3]. Встречаемость воспалительных заболеваний пародонта составляет более 90-95%, причем в возрасте 15-19 лет распространенность колеблется в пределах 55-89%, в 35-44 года - 65-89% [4]. На поверхности зубов, десневой борозде, в пародонтальных карманах микроорганизмы формируют так называемую симбиотическую бактериальную биопленку [5]. Изменение состава микробной биопленки в сторону преобладания *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, *Tannerella forsythia*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Filifactor alocis*, *Peptostreptococcus stomatis*, представителей родов *Prevotella*, *Synergistes*, *Megasphaera*, *Selenomonas*, *Desulfobulbus*, относящихся к пародонтопатогенам [6-8], приводит к дисбиозу ротовой полости, что способствует развитию пародонтита. Отсутствие должного лечения при гингивите может привести к появлению подвижности и потере зубов [9]. Тяжесть пародонтита зависит не только от видового спектра микроорганизмов, колонизирующих полость рта, но и от их взаимодействия с гуморальными и клеточными факторами иммунной системы хозяина [10-12]. При тяжелой форме пародонтита из-за чрезмерной активации местных иммунных факторов развивается хроническое воспаление, приводящее к разрушению структурных компонентов опорного аппарата зубов, их подвижности и, в конечном счете, потере [13]. Установлена корреляция изменений иммунологических показателей с тяжестью течения воспалительных заболеваний пародонта [14]. При экспериментальном моделировании

воспалительных заболеваний пародонта обнаружено снижение показателей клеточного иммунитета - уменьшение содержания общих Т-лимфоцитов и Т-хелперов, отмечено снижение показателей гуморального иммунитета - В-лимфоцитов в случае гингивита и пародонтита по сравнению с интактными животными [15]. Имеются сведения об изменении содержания и состава иммуноглобулинов на разных стадиях развития воспалительных заболеваний пародонта, однако результаты противоречат друг другу. Обнаружено увеличение количества IgA, IgM и уменьшение IgG на начальных этапах развития заболевания, затем по мере прогрессирования соотношение иммуноглобулинов изменилось в сторону увеличения IgG и уменьшения IgA, IgM [16]. При катаральном гингивите продемонстрировано повышение концентрации IgA, IgM, IgG, а при хроническом пародонтите, выявлено их снижение на фоне повышения концентрации IgE [17].

Ключевым звеном в патогенезе воспалительных заболеваний пародонта являются цитокины, принимающие участие в регуляции взаимодействия всех компонентов иммунной системы между собой и с другими системами [18, 19]. Синтез цитокинов может быть направлен на иммунную защиту организма или на разрушение тканей в очаге воспаления [14]. Синтез определенных цитокинов связан с длительностью и тяжестью воспалительного процесса, что регулируется индивидуальными особенностями организма. Выявлено, что при хроническом генерализованном пародонтите (ХГП) легкой и средней степени тяжести и катаральном гингивите концентрация провоспалительных цитокинов в десневой жидкости повышается, а содержание противовоспалительных цитокинов снижается. Увеличение

концентрации про- и противовоспалительных цитокинов при ХГП происходит за счет активации иммунного ответа, опосредованного Т-хеллерами [20-23].

В патогенезе пародонтита важную роль отводят уровню ФНО α , участвующему в пролиферации Т- и В-лимфоцитов, повышающему проницаемость эндотелия сосудов, подавляющему гиперчувствительность замедленного типа (ГЗТ). Концентрация ФНО α повышается еще до проявления первых клинических признаков заболевания пародонта, что имеет важное диагностическое значение [20]. ФНО α совместно с ИЛ-6 и ИЛ-1 β активирует синтез металопротеиназ-9, участвующих в распаде коллагена пародонтальных карманов. ФНО α принимает участие в образовании пародонтальных карманов за счет активирования остеокластов и блокирования остеобластов [24, 25].

Понимание механизмов взаимодействия между пародонтопатогеном и иммунореактивностью организма при развитии гингивита и пародонтита важно для диагностики, оценки активности и прогноза прогрессирования воспалительных заболеваний пародонта.

Цель исследования - оценка иммунного статуса у пациентов с гингивитом и хроническим генерализованным пародонтитом различной степени тяжести.

Материал и методы. Проведено лабораторное обследование 156 человек, обратившихся за консультативной помощью к врачу-стоматологу в стоматологические клиники № 2 и «Примадент» г. Уфы в период с 2021 по 2023 год. Из них 37 пациентов наблюдаются с диагнозом гингивит (средний возраст $29,1 \pm 2,4$ года); 41 пациент с диагнозом ХГП легкой степени (средний возраст $48,4 \pm 3,8$ года); 52 пациента с диагнозом ХГП средней степени (средний возраст $51,2 \pm 7,8$ года), 26 здоровых (средний возраст $29,2 \pm 3,2$ года) в качестве контрольной группы.

Концентрацию цитокинов (ФНО α , ИЛ-10, ИЛ-6, ИЛ-4, ИЛ-2 и секреторного иммуноглобулина A (sIgA)) в ротовой жидкости определяли методом иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием реактивов фирмы ЗАО «Вектор-Бест» (г. Новосибирск). Для оценки состояния гуморального и клеточного иммунитета проводили взятие крови у обследуемых лиц из локтевой вены наотщиск. Определяли уровень содержания иммуноглобулинов IgA, IgM, IgG в сыворотке крови методом радиальной иммунодиффузии в геле по Манчини с использованием моноспецифических антисывороток и по определению уровня циркулирующих

иммунных комплексов (мол. масса - 6000) осаждением полиэтиленгликолем. Для определения популяционного и субпопуляционного состава лимфоцитов проводили иммунофенотипирование лимфоцитов с использованием моноклональных антител фирмы Beeton Dickinson (США), методом проточной цитометрии (BD FACS Contour, США). Для оценки врожденного иммунитета применяли тест восстановления нитросинего тетразолия в базальных условиях (НСТ-тест), определяли фагоцитарную активность нейтрофилов с использованием метода с латексными частицами.

Статистическая обработка данных проведена с помощью методов медико-биологической статистики. Для исследования влияния нескольких факторных признаков на количественно зависимый признак использован параметрический дисперсионный анализ - критерий Фишера. В тех случаях, когда анализируемые данные не могли рассматриваться как модификации нормального распределения Гаусса, использован непараметрический критерий Краскела-Уоллеса.

Результаты. Анализ содержания ФНО α в ротовой жидкости продемонстрировал, что его концентрация зависит от степени заболевания пародонта ($\chi^2=83$, $p<<0,0001$). В контрольной группе уровень ФНО α характеризовался минимальными значениями ($M_e=3,3$ пг/мл, $Q_1=2,7$ пг/мл, $Q_3=4,2$ пг/мл), в группе пациентов с ХГП средней степени тяжести - максимальными ($M_e=3,3$ пг/мл, $Q_1=41,6$ пг/мл, $Q_3=48,8$ пг/мл). У пациентов с ХГП легкой степени уровень ФНО α оказался ниже ($M_e=19,4$ пг/мл, $Q_1=17,5$ пг/мл, $Q_3=23,2$ пг/мл), чем в группе с ХГП средней степени, но достоверно выше, чем у пациентов с гингивитом ($p<0,00002$) и у здоровых лиц ($p<0,00001$). У больных с гингивитом содержание ФНО α достоверно выше ($p<0,0001$), чем в контрольной группе ($M_e=9,5$, $Q_1=8,5$, $Q_3=15,6$) (рис. 1, А).

Сравнительный анализ содержания sIgA в исследуемых группах статистически значимо отличался ($\eta^2=75\%$, $F=97,5$, $p<<0,0001$). Все полученные средние значения разделены на две группы: средний уровень sIgA у здоровых ($211 \pm 51,2$) и при гингивите ($176 \pm 37,01$), которые значимо не различались ($p>0,20$), и средний уровень sIgA у пациентов с ХГП легкой ($389,9 \pm 62,2$) и средней ($466,4 \pm 73,1$) степенями тяжести, значения которых достоверно значимо выше ($p<0,0001$) (рис. 1, Б).

Зависимость уровня цитокина ИЛ-10 от групповой принадлежности пациентов оказалась достаточно выраженной и значимой ($\chi^2=82,9$, $p<<0,0001$). В

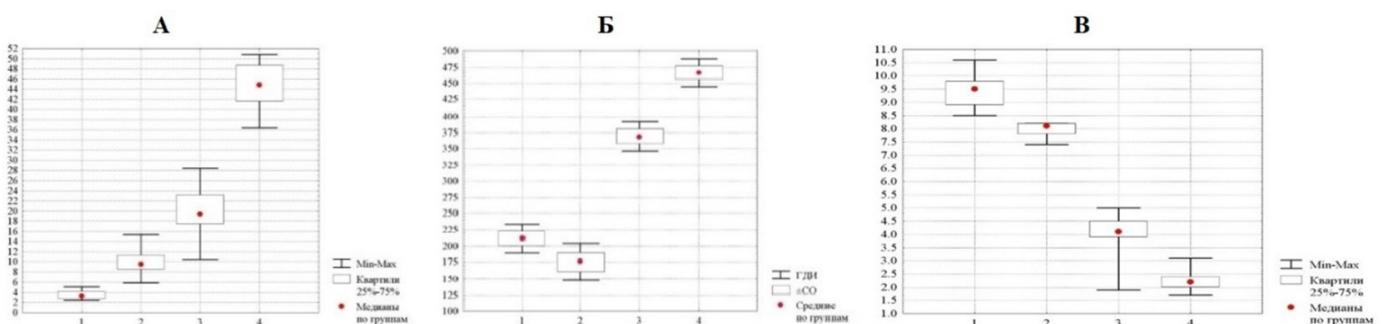


Рис. 1. Уровни содержания ФНО α (А), sIgA (Б) и ИЛ-10 (В) в ротовой жидкости. По оси абсцисс указаны группы пациентов: 1 - «здоровые», 2 - с гингивитом; 3 - с ХГП легкой степени тяжести; 4 - с ХГП средней степени тяжести; по оси ординат - уровни ФНО α , пг/мл; sIgA, г/л; ИЛ-10 в пг/мл.

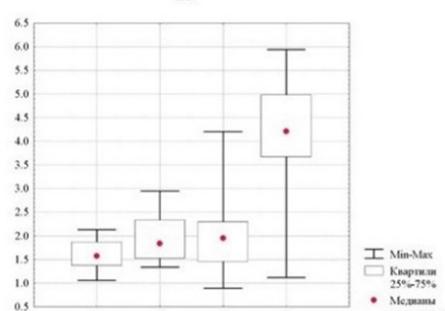
контрольной группе содержание ИЛ-10 достоверно выше, чем во всех анализируемых группах ($Me=9,5$ пг/мл, $Q_1=8,9$ пг/мл, $Q_3=9,8$ пг/мл), в группе пациентов с ХГП средней степени наблюдался минимальный уровень цитокина ($Me=2,2$ пг/мл, $Q_1=2,0$ пг/мл, $Q_3=2,4$ пг/мл) (рис. 1, В).

Сходные результаты получены при определении уровня ИЛ-6 ($\chi^2=64,2$, $p<<0,0001$). Максимальный уровень обнаружен в группе здоровых ($Me=0,98$ пг/мл, $Q_1=0,94$ пг/мл, $Q_3=1,0$ пг/мл), минимальный - в группе с ХГП средней степени тяжести ($Me=0,79$ пг/мл, $Q_1=0,77$ пг/мл, $Q_3=0,81$ пг/мл). У пациентов с ХГП легкой степени тяжести и с гингивитом уровень ИЛ-6 достоверно не отличался ($p<0,02$) - ($Me=0,92$ пг/мл, $Q_1=0,89$ пг/мл, $Q_3=0,96$ пг/мл) и ($Me=0,91$ пг/мл ($Q_1=0,70$ пг/мл, $Q_3=0,95$ пг/мл) соответственно, но значимо превышал значения у пациентов с ХГП средней степени тяжести. Зависимость уровня ИЛ-2 оказалась статически значимой ($\chi^2=88,2$, $p<<0,0001$), как и в случае с ИЛ-10, но менее выраженной. В контрольной группе уровень ИЛ-2 минимальный ($Me=11,3$ пг/мл, $Q_1=11,0$ пг/мл, $Q_3=11,6$ пг/мл) и не превышал значения, полученные во всех анализируемых группах. Максимальный уровень содержания ИЛ-2 обнаружен в группе с ХГП средней степени тяжести ($Me=26,5$ пг/мл, $Q_1=24,3$ пг/мл, $Q_3=27,0$ пг/мл). При развитии гингивита уровень ИЛ-2 ($Me=12,8$, $Q_1=12,5$, $Q_3=13,1$) оказался не кратно, но значимо ($p<0,0001$) выше, чем в контрольной группе и ниже, чем в группе с ХГП легкой степени тяжести ($Me=15,4$, $Q_1=14,3$, $Q_3=16,2$). Подобные значимые ($\chi^2=82,5$, $p<<0,0001$) результаты получены при определении уровня ИЛ-4. Максимальный и минимальный уровни ИЛ-4 выявлены у пациентов с ХГП средней степени тяжести и у здоровых - ($Me=6,8$ пг/мл, $Q_1=6,3$ пг/мл, $Q_3=6,1$ пг/мл) и ($Me=3,3$ пг/мл, $Q_1=3,1$ пг/мл, $Q_3=4,0$ пг/мл) соответственно. У пациентов с

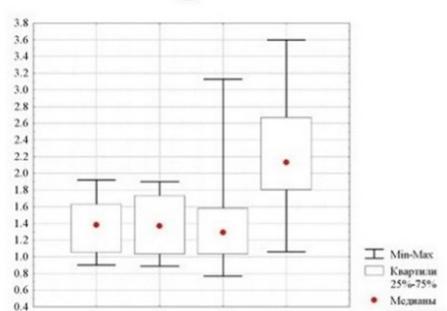
гингивитом ($Me=4,6$ пг/мл, $Q_1=4,2$ пг/мл, $Q_3=4,9$ пг/мл) и с ХГП легкой степени тяжести ($Me=4,3$ пг/мл, $Q_1=4,3$ пг/мл, $Q_3=4,8$ пг/мл) уровни содержания ИЛ-4 достоверно не различались ($p>0,35$), но превышали значения, полученные у здоровых и пациентов с ХГП средней степени тяжести.

При определении уровня сывороточного IgA выявлена зависимость ($\chi^2=75,6$, $p<<0,0001$) данного показателя от клинической формы заболевания, однако она имела нечеткий характер. Содержание IgA в сыворотке у здоровых и группы с гингивитом значимо ($p>0,10$) не различалось - ($Me=1,57$ г/л, $Q_1=1,37$ г/л, $Q_3=1,87$ г/л) и ($Me=1,84$ г/л, $Q_1=1,52$ г/л, $Q_3=2,34$ г/л) соответственно, но было достоверно ниже, чем у пациентов ХГП легкой степени тяжести ($Me=1,95$ г/л, $Q_1=1,45$ г/л, $Q_3=2,30$ г/л). Уровень сывороточного IgA при ХГП средней степени ($Me=4,21$ г/л, $Q_1=3,67$ г/л, $Q_3=4,98$ г/л) значимо ($p<<0,0001$) превышал показатели, полученные в исследуемых группах (рис. 2, А). По результатам определения концентрации сывороточного IgM зависимость от формы заболевания более выражена ($\chi^2=48,6$, $p<<0,0001$). Сходные значения сывороточного IgM отмечены у здоровых, пациентов с гингивитом и ХГП легкой степени тяжести ($Me=1,38$ г/л, $Q_1=1,05$ г/л, $Q_3=1,63$ г/л), ($Me=1,37$ г/л, $Q_1=1,03$ г/л, $Q_3=1,63$ г/л) и ($Me=1,29$ г/л, $Q_1=1,03$ г/л, $Q_3=1,58$ г/л) соответственно. Наиболее значимый ($p<<0,0001$) рост уровня IgM наблюдался у больных с ХГП средней степени тяжести (рис. 2, Б). При определении концентрации сывороточного IgG ($\eta^2=40\%$, $F=22,6$, $p<<0,0001$) значимых различий в контрольной группе ($13,5\pm1,5$ г/л), группе с гингивитом ($12,9\pm0,9$ г/л) и пациентов с ХГП легкой степени тяжести ($14,0\pm4,4$ г/л) не обнаружено. Статистически значимый ($p<<0,0001$) рост уровня IgG выявлен у пациентов с пародонтитом средней степени тяжести (рис. 2, В).

А



Б



В

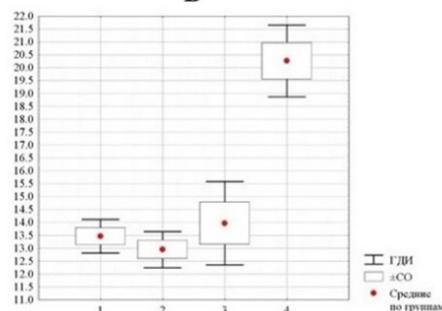


Рис. 2. Уровни содержания IgA (А), IgM (Б), IgG (В) в сыворотке крови. По оси абсцисс указаны группы пациентов: 1 - «здоровые», 2 - с гингивитом; 3 - с ХГП легкой степени тяжести; 4 - с ХГП средней степени тяжести; по оси ординат - средние уровни IgA, IgM, IgG, г/л.

Влияние «фактора заболевания и его формы» на уровень циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) в исследуемых группах оказалось умеренным ($\eta^2=61\%$, $F=51,2$, $p<<0,0001$). В контрольной группе среднее значение ЦИК составило $21,6 \pm 7,3$ у.е., что достоверно ($p>0,4$) не отличалось от значений, полученных в группе пациентов с гингивитом - $28,3 \pm 10,7$ у.е., но значимо ($p<0,0008$) ниже, чем в группе с ХГП легкой степени тяжести - $37,0 \pm 10,6$ у.е. Различия уровня ЦИК у пациентов с гингивитом и ХГП легкой степени тяжести оказались незначимыми ($p>0,12$). Максимальные значения ЦИК выявлены при прогрессировании пародонтита до средней степени тяжести - $62,7 \pm 16,9$ у.е.

При определении популяционного и субпопуляционного состава лимфоцитов значимая ($\eta^2=40\%$, $F=22,2$, $p<<0,0001$) зависимость уровня содержания CD_3^+ от формы заболевания имела нелинейный характер. Средний уровень содержания CD_3^+ повышался в группе пациентов с гингивитом ($64,8 \pm 2,7\%$) и ХГП легкой степени тяжести ($68,2 \pm 7,4\%$) по сравнению с контрольной группой ($63,1 \pm 7,3\%$), но при этом различия между этими группами оказались незначимыми ($p>0,48$ и $p>0,13$, соответственно). У пациентов с ХГП средней степени тяжести уровень CD_3^+ ($58,0 \pm 4,9\%$) достоверно ($p<<0,0001$) ниже, чем в остальных исследуемых группах (рис. 3, А). Зависимость среднего уровня содержания CD_4^+ оказалась выраженной ($\eta^2=58\%$, $F=44,8$, $p<<0,0001$). В группе здоровых и пациентов с гингивитом средний уровень CD_4^+ значимо ($p>0,98$) не различался - $39,6 \pm 3,0\%$ и $39,4 \pm 3,1\%$ соответственно, при ХГП легкой и средней степенями тяжести наблюдалось его повышение на 15-30% - $45,7 \pm 3,0\%$ и $51,1 \pm 5,2\%$ соответственно. Сходные результаты получены при опре-

делении уровня CD_{16}^+ ($\eta^2=67,4\%$, $F=67,5$, $p<<0,0001$) - в контрольной группе ($11,5 \pm 2,0\%$) и у пациентов с гингивитом ($11,0 \pm 1,3\%$) значимых различий в показателе не обнаружено ($p>0,7$), однако по мере прогрессирования пародонтита уровень повышался - при легкой степени на 25% до $14,2 \pm 3,6\%$, при средней степени на 50% до $21,2 \pm 3,3\%$. Зависимость уровня CD_8^+ от формы заболевания оказалась достаточно выраженной и значимой ($\chi^2=66$, $p<<0,0001$). В контрольной группе и у больных с гингивитом показатели содержания CD_8^+ достоверно не различались ($p>0,89$) - ($Me=27,7\%$, $Q_1=26,3\%$, $Q_3=28,5\%$) и ($Me=27,7\%$, $Q_1=25,2\%$, $Q_3=28,7\%$), соответственно, при переходе от гингивита к ХГП легкой и средней степенями тяжести наблюдалось его снижение - ($Me=21,6\%$, $Q_1=19,5\%$, $Q_3=22,9\%$) и ($Me=17,4\%$, $Q_1=16,5\%$, $Q_3=18,4\%$), соответственно. Уровни содержания CD_{19}^+ в группе здоровых ($Me=12,8\%$, $Q_1=11,5\%$, $Q_3=13,6\%$), пациентов с гингивитом ($Me=12,8\%$, $Q_1=12,4\%$, $Q_3=13,8\%$) и с ХГП легкой степени тяжести ($Me=12,7\%$, $Q_1=11,9\%$, $Q_3=14,4\%$) значимо не различались ($p>0,39$, $p>0,67$ и $p>0,71$, соответственно). Наиболее значимый ($p<0,0003$) рост содержания CD_{19}^+ наблюдался только у больных с ХГП средней степени тяжести (рис. 3, Б). В данной группе выявлено высокое внутригрупповое разнообразие данных, перекрывающее вариацию во всех прочих группах, при этом общая зависимость уровня CD_{19}^+ оказалась значимой ($\chi^2=64$, $p<<0,0001$).

Сравнительный анализ средних показателей фагоцитарной активности (ФА) у исследуемых групп статистически выражен ($\eta^2=41\%$, $F=23,6$, $p<<0,0001$). В контрольной группе и пациентов с гингивитом средние значения ФА достоверно не различались ($p>0,84$) - $0,437 \pm 0,003$ и $0,43 \pm 0,004$, соответственно (рис. 3, В).

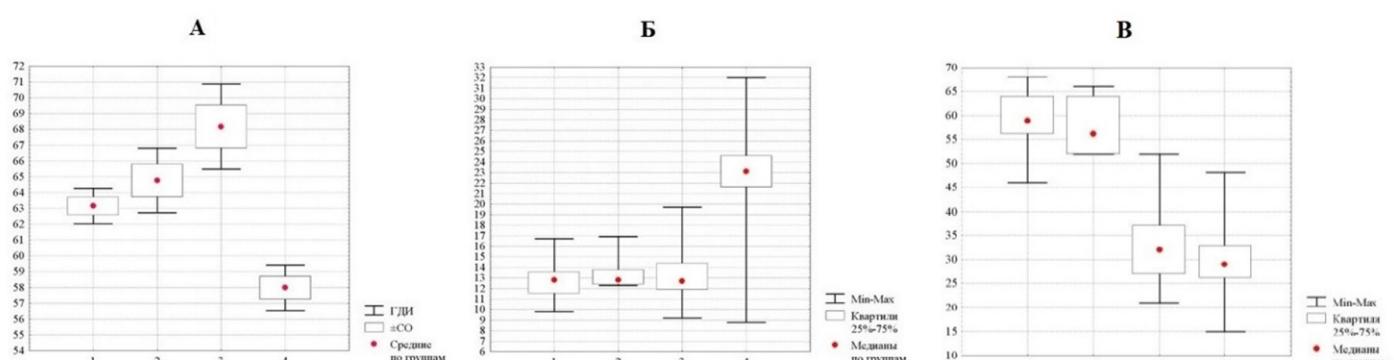


Рис. 3. Средние уровни содержания CD_3^+ (А), CD_{19}^+ (Б), фагоцитарной активности (В) в сыворотке крови. По оси абсцисс указаны группы пациентов: 1 - «здоровые», 2 - с гингивитом; 3 - с ХГП легкой степени тяжести; 4 - с ХГП средней степени тяжести; по оси ординат - средние уровни CD_3^+ , CD_{19}^+ , %; значения фагоцитарной активности.

По мере прогрессирования пародонтита уровень ФА значимо ($p<0,03$) снижался - $0,264 \pm 0,007$ и $0,310 \pm 0,01$ при легкой и средней степени тяжести, соответственно, выявлена зависимость ФА от формы заболевания ($\chi^2=55$, $p<<0,0001$).

Обсуждение. При возникновении воспалительных заболеваний пародонта - гингивите и пародонтите в ротовой жидкости выявлено повышение про- (ИЛ-2, ФНОα) и противовоспалительных цитокинов (ИЛ-4), sIgA, снижение уровня ИЛ-6 и ИЛ-10. Повышение

уровня содержания ФНОα подтверждается рядом других исследований [24, 25], что доказывает диагностическую ценность ФНОα в прогрессировании заболеваний пародонта. Увеличение концентрации основного иммуноглобулина системы местного иммунитета полости рта - sIgA, у больных с ХГП легкой и средней степенями тяжести обусловлено его способностью к защите слизистой оболочки путем нейтрализации токсинов и вирусов, за счет подавления бактериальной адгезии к эпителиальным клеткам [26].

Уровень содержания сывороточных иммуноглобулинов IgA, IgM, IgG у больных с гингивитом и ХГП легкой степени тяжести существенно не отличался от группы здоровых, однако при переходе пародонтита к средней степени концентрация резко возрасала.

При оценке показателей Т-клеточного звена иммунитета у пациентов с ХГП легкой и средней степенями тяжести обнаружено увеличение концентрации CD₄⁺ и CD₁₆⁺ по сравнению с группой здоровых и пациентов с гингивитом. Повышение уровня Т-хелперов-индукторов (CD₄⁺) характеризуется как самоподдерживающийся иммунный ответ, обусловленный подавлением способности уничтожать патогены, что приводит к формированию аутоиммунного процесса [27]. Содержание CD₃⁺ и CD₁₉⁺ резко снижалось по мере прогрессирования пародонтита.

Изменения в показателях врождённого иммунитета у пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом проявились преимущественно снижением фагоцитарной активности по сравнению со здоровыми лицами и пациентами с гингивитом, причем при разной степени тяжести различия выражены менее заметно. НСТ-тест продемонстрировал снижение резервной метаболической емкости фагоцитов, влекущей за собой снижение цитотоксического потенциала клетки [28]. Выраженное снижение фагоцитарной активности свидетельствует о развивающемся иммунодефицитном состоянии [26].

Заключение. При оценке иммунного статуса у больных с гингивитом, ХГП легкой и средней степенями тяжести установлена связь между нарушениями в системе местного, гуморального и клеточного иммунитета с различными клиническими формами воспалительных заболеваний пародонта. Наиболее отчетливые местные и системные изменения в иммунных процессах наблюдались при средней степени тяжести ХГП. Обосновано включение определения иммунологических показателей в алгоритмы диагностики воспалительных заболеваний пародонта в комплексе с другими методами.

ЛИТЕРАТУРА

1. Lafaurie G.I., Sabogal M.A., Castillo D.M., Rincón M.V., Gómez L.A., Lesmes Y.A. et al. Microbiome and microbial biofilm profiles of peri-implantitis: a systematic review. *J. Periodontol.* 2017; 88: 1066-89. DOI: 10.1902/jop.2017.170123.
2. Vieira Colombo A.P., Magalhães C.B., Hartenbach F.A., Martins do Souto R., Maciel da Silva Bogossian C. Periodontal-disease-associated biofilm: A reservoir for pathogens of medical importance. *Microb. Pathog.* 2016; 94: 27-34. DOI: 10.1016/j.micpath.2015.09.009.
3. Bisson C., Lec P.H., Blique M., Thilly N., Machouart M. Presence of trichomonads in subgingival biofilm of patients with periodontitis: preliminary results. *Parasitol. Res.* 2018; 117: 3767-74. DOI: 10.1007/s00436-018-6077-2.
4. Микляев С.В., Леонова О.М., Сущенко А.В. Анализ распространённости хронических воспалительных заболеваний тканей пародонта. *Современные проблемы науки и образования*. 2018; 2: 15.
5. Devine D.A., Marsh P.D., Meade J. Modulation of host responses by oral commensal bacteria. *J. Oral Microbiol.* 2015; 7: 26941. DOI: 10.3402/jom.v7.26941.
6. Costalanga M., Herzberg M.C. The oral microbiome and the immunobiology of periodontal disease and caries. *Immunol. Lett.* 2014; 162: 22-38. DOI: 10.1016/j.imlet.2014.08.017.
7. Jia G., Zhi A., Lai P.F.H., Wang G., Xia Y., Xiong Z. et al. The oral microbiota – a mechanistic role for systemic diseases. *Br. Dent. J.* 2018; 224: 447-55. DOI: 10.1038/sj.bdj.2018.217.
8. Kumar P.S., Griffen A.L., Moeschberger M.L., Leys E.J. Identification of candidate periodontal pathogens and beneficial species by quantitative 16S clonal analysis. *J. Clin. Microbiol.* 2005; 43: 3944-55. DOI: 10.1128/jcm.43.8.3944-3955.2005.
9. Гимранова И.А., Хакимова Л.Р., Акмалова Г.М., Газизуллина Г.Р. Современные методы диагностики заболеваний пародонта: возможности и перспективы (обзор литературы). *Клиническая лабораторная диагностика*. 2023; 68: 570-7. DOI: 10.51620/0869-2084-2023-68-9-570-577.
10. Sharifovich A.D., Alimjanovich R.J. The role of the immune system and oral fluid and blood antimicrobial peptides in patients with chronic generalized periodontitis. *The American Journal of Interdisciplinary Innovations and Research*. 2023; 5: 64-71. DOI: 10.37547/TAJMSPR/Volume05Issue05-13.
11. Cekici A., Kantarci A., Hasturk H., Van Dyke T.E. Inflammatory and immune pathways in the pathogenesis of periodontal disease. *Periodontology 2000*. 2010; 64: 57-80. DOI: 10.1111/prd.12002.
12. Hajishengallis G. Immunomicrobial pathogenesis of periodontitis: keystones, pathobionts, and host response. *Trends in immunology*. 2014; 35: 3-11. DOI: 10.1016/j.it.2013.09.001.
13. Zhang Y., Wang X., Li H., Ni C., Du Z., Yan F. Human oral microbiota and its modulation for oral health. *Biomed. Pharmacother.* 2018; 99: 883-93. DOI: 10.1016/j.bioph.2018.01.146.
14. Дзюба Е.В., Нагаева М.О., Жданова Е.В. Роль иммунологических процессов в развитии воспалительных заболеваний пародонта и возможности их коррекции. *Проблемы стоматологии*. 2019; 2: 24-31. DOI: 10.18481/2077-7566-2019-15-2-25-31.
15. Быкова Н.И., Одольский А.В., Григорян В.А. Показатели клеточного и гуморального иммунитета при экспериментальном воспалении тканей пародонта. *Кубанский научный медицинский вестник*. 2016; 6: 20-6.
16. Земская Е.А., Хазанова В.В., Никитина Т.В. Клинико-иммунологические показатели у больных после комплексного лечения пародонтита. *Стоматология*. 1980; 3: 20-1.
17. Цыбиков Н.Н., Доманова Е.Т., Зобнин В.В., Игнатов М.Ю., Масло Е.Ю., Исакова Н.В. Свойства десневой жидкости при остром гингивите и хроническом пародонтите. *Российский стоматологический журнал*. 2012; 1: 40-2.
18. Кузнецова О.А., Губанова Е.И., Шемонаев В.И. Цитокины как показатель местного иммунного статуса пациентов с хроническим пародонтитом. *Лекарственный вестник*. 2013; 2: 20-6.
19. Шаймарданов Т.Н., Герасимова Л.П., Чемикосова Т.С., Камилов Ф.Х. Оценка уровня провоспалительных цитокинов у пациентов с хроническим пародонтитом в зависимости от минеральной плотности кости перед дентальной имплантацией. *Современные проблемы науки и образования*. 2017; 1: 65.
20. Островская Л.Ю., Захарова Н.Б., Могила А.П., Катханова Л.С., Акулова Е.В., Попыхова Э.Б. Изменение баланса цитокинов в десневой жидкости при заболеваниях пародонта и его значение для прогнозирования регенераторных нарушений в тканях пародонта. *Саратовский научно-медицинский журнал*. 2014; 10: 435-40.
21. Ошноков А.К., Брагин Е.А., Барычева Л.Ю. Диагностическое и прогностическое значение определения цитокинов в десневой жидкости при хроническом пародонтите. *Медицинский вестник северного Кавказа*. 2016; 4: 550-3. DOI: 10.14300/mnnc.2016.11131.
22. Параконский А.П., Перова Н.Ю. Роль цитокинов в патогенезе пародонтита. *Естественно-гуманитарные исследования*. 2015; 7: 75-81.
23. Koshy B., Reesj S., Farnell D., Weix Q., Waddington J. Array analysis for t-cell associated cytokines in gingival crevicular fluid; identifying altered profiles associated with periodontal disease status. *J. Periodontal. Res.* 2014; 49: 237-45. DOI: 10.1016/j.jdent.2019.04.009.
24. Большишварская Н.Е., Казанкова Е.М. Этиопатогенетические особенности воспалительных заболеваний пародонта. *Безопасность здоровья человека*. 2017; 3: 26-35. DOI: 10.17117/na.2016.04.03.294.
25. Noh M.K., Jung M., Kim S.H., Lee S.R., Park K.H., Kim D.H. et al. Assessment of IL-6, IL-8 and TNF- α levels in the gingival tissue of patients with periodontitis. *Exp. Ther. Med.* 2013; 6: 847-51. DOI: 10.3892/etm.2013.1222.
26. Дранник Г.Н. Клиническая иммунология и аллергология. Киев: Полиграф плюс; 2010.
27. Чуйкин С.В., Акмалова Г.М., Мирсаяпова И.А., Ронь Г.И., Чернышева Н.Д., Хайруллина Р.М. Особенности иммунного статуса

- у больных с разными клиническими формами красного плоского лишая слизистой оболочки рта. *Инфекция и иммунитет*. 2019; 1: 128-34. DOI: 10.15789/2220-7619-2019-1-128-134.
28. Заболотный Т.Д., Бандривский Ю.Л., Дырык В.Т. Состояние местного и системного иммунитета у больных с разным течением генерализованного пародонтита. *Стоматология*. 2016; 95: 23-5. DOI: 10.17116/stomat201695623-25.

REFERENCES

1. Lafaurie G.I., Sabogal M.A., Castillo D.M., Rincón M.V., Gómez L.A., Lesmes Y.A. et al. Microbiome and microbial biofilm profiles of peri-implantitis: a systematic review. *J. Periodontol.* 2017; 88: 1066-89. DOI: 10.1902/jop.2017.170123.
2. Vieira Colombo A.P., Magalhães C.B., Hartenbach F.A., Martins do Souto R., Maciel da Silva Boghossian C. Periodontal-disease-associated biofilm: A reservoir for pathogens of medical importance. *Microb. Pathog.* 2016; 94: 27-34. DOI: 10.1016/j.micpath.2015.09.009.
3. Bisson C., Lec P.H., Blique M., Thilly N., Machouart M. Presence of trichomonads in subgingival biofilm of patients with periodontitis: preliminary results. *Parasitol. Res.* 2018; 117: 3767-74. DOI: 10.1007/s00436-018-6077-2.
4. Miklyaev S.V., Leonova O.M., Suschenko A.V. Analysis of the prevalence of chronic inflammatory diseases of periodontal tissues. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya*. 2018; 2: 15. (in Russian)
5. Devine D.A., Marsh P.D., Meade J. Modulation of host responses by oral commensal bacteria. *J. Oral Microbiol.* 2015; 7: 26941. DOI: 10.3402/jom.v7.26941.
6. Costalonga M., Herzberg M.C. The oral microbiome and the immunobiology of periodontal disease and caries. *Immunol. Lett.* 2014; 162: 22-38. DOI: 10.1016/j.imlet.2014.08.017.
7. Jia G., Zhi A., Lai P.F.H., Wang G., Xia Y., Xiong Z. et al. The oral microbiota – a mechanistic role for systemic diseases. *Br. Dent. J.* 2018; 224: 447-55. DOI: 10.1038/sj.bdj.2018.217.
8. Kumar P.S., Griffen A.L., Moeschberger M.L., Leys E.J. Identification of candidate periodontal pathogens and beneficial species by quantitative 16S clonal analysis. *J. Clin. Microbiol.* 2005; 43: 3944-55. DOI: 10.1128/jcm.43.8.3944-3955.2005.
9. Gimranova I.A., Khakimova L.R., Akmalova G.M., Gazizullina G.R. Modern methods of diagnosis of periodontal diseases: opportunities and prospects (review of literature). *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2023; 68(9): 570-7. DOI: 10.51620/0869-2084-2023-68-9-570-577. (in Russian)
10. Sharifovich A.D., Alimjanovich R.J. The role of the immune system and oral fluid and blood antimicrobial peptides in patients with chronic generalized periodontitis. *The American Journal of Interdisciplinary Innovations and Research*. 2023; 5: 64-71. DOI: 10.37547/TAJM-SPR/Volume05Issue05-13.
11. Cekici A., Kantarci A., Hasturk H., Van Dyke T.E. Inflammatory and immune pathways in the pathogenesis of periodontal disease. *Periodontology 2000*. 2014; 64: 57-80. DOI: 10.1111/prd.12002.
12. Hajishengallis G. Immunomicrobial pathogenesis of periodontitis: keystones, pathobionts, and host response. *Trends in immunology*. 2014; 35: 3-11. DOI: 10.1016/j.it.2013.09.001.
13. Zhang Y., Wang X., Li H., Ni C., Du Z., Yan F. Human oral microbiota and its modulation for oral health. *Biomed. Pharmacother.* 2018; 99: 883-93. DOI: 10.1016/j.bioph.2018.01.146.
14. Dzyuba E.V., Nagaeva M.O., Zhdanova E.V. The role of immunological processes in the development of inflammatory diseases of periodontal disease and the possibilities of their correction. *Problemy stomatologii*. 2019; 2: 24-31. DOI: 10.18481/2077-7566-2019-15-2-25-31. (in Russian)
15. Bykova N.I., Odolski A.V., Grigoryan V.A. Indicators of cellular and humoral immunity in experimental inflammation of periodontal tissues. *Kubanskiy nauchnyi meditsinskiy vestnik*. 2016; 6: 20-6. (in Russian)
16. Zemskaya E.A., Khazanova V.V., Nikitina T.V. Clinical and immunological parameters in patients after complex treatment of periodontitis. *Stomatologiya*. 1980; 3: 20-1. (in Russian)
17. Tsibikov N.N., Domanova E.T., Zobnin V.V., Ignatov M.Yu., Maslo E.Yu., Isakova N.V. The properties of the gingival fluid from the patients presenting with acute gingivitis and chronic periodontitis. *Rossiyskiy stomatologicheskiy zhurnal*. 2012; 1: 40-2. (in Russian)
18. Kuznetsova O.A., Gubanova E.I., Shemonaev V.I. Cytokines as an indicator of the local immune status of patients with chronic periodontitis. *Lekarstvennyi vestnik*. 2013; 2: 20-6. (in Russian)
19. Shaymardanov T.N., Gerasimova L.P., Chemikosova T.S., Kamilov F.H. Evaluation of proinflammatory cytokines in patients with chronic periodontitis, depending on the mineral density of bone prior to dental implants. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya*. 2017; 1: 65. (in Russian)
20. Ostrovskaya L.Yu., Zakharova N.B., Mogila A.P., Katkhanova L.S., Akulova E.V., Popykhova E.B. Cytokines balance change in gingival fluid at periodontal diseases and its value for the prognosis of regeneration disturbances in periodontal tissues. *Saratovskiy nauchno-meditsinskiy zhurnal*. 2014; 10: 435-40. (in Russian)
21. Oshnokov A.K., Bragin E.A., Barycheva L.Yu. Diagnostic and prognostic value of detection of cytokines in the gingival fluid in chronic periodontitis. *Meditinskii vestnik severnogo Kavkaza*. 2016; 4: 550-3. DOI: 10.14300/mnnc.2016.11131. (in Russian)
22. Parakhonskiy A.P., Perova N.Yu. The role of cytokines in the pathogenesis of periodontitis. *Estestvenno-gumanitarnye issledovaniya*. 2015; 7: 75-81. (in Russian)
23. Koshy B., Reesj S., Farnell D., Weix Q., Waddington J. Array analysis for t-cell associated cytokines in gingival crevicular fluid; identifying altered profiles associated with periodontal disease status. *J. Periodontal. Res.* 2014; 49: 237-45. DOI: 10.1016/j.jdent.2019.04.009.
24. Bol'shodvorskaya N.E., Kazankova E.M. Etiopathogenetic features of periodontal inflammatory diseases. *Bezopasnost' zdorov'ya cheloveka*. 2017; 3: 26-35. DOI: 10.17117/na.2016.04.03.294. (in Russian)
25. Noh M.K., Jung M., Kim S.H., Lee S.R., Park K.H., Kim D.H. et al. Assessment of IL-6, IL-8 and TNF- α levels in the gingival tissue of patients with periodontitis. *Exp. Ther. Med.* 2013; 6: 847-51. DOI: 10.3892/etm.2013.1222.
26. Drannik G.N. Clinical immunology and allergology [Klinicheskaya imunologiya i allergologiya]. Kiev: Poligraf plyus; 2010. (in Russian)
27. Chuykin S.V., Akmalova G.M., Mirsayapova I.A., Ron G.I., Chernysheva N.D., Khairullina R.M. Features of immune status in patients with various clinical forms of oral lichen planus. *Infektsiya i imunitet*. 2019. 1: 128-34. DOI: 10.15789/2220-7619-2019-1-128-134. (in Russian)
28. Zabolotny T.D., Bandrivsky Yu.L., Dyryk V.T. Local and systemic immunity in patients with different course of generalized periodontitis. *Stomatologiya*. 2016; 95: 23-5. DOI: 10.17116/stomat201695623-25. (in Russian)

Таллерова А.В.¹, Ревишвили А.Ш.¹, Земсков В.М.¹, Алексеев А.А.^{1,2}, Козлова М.Н.¹,
Соловьева М.С.¹, Шишкина Н.С.¹, Куликова А.Н.¹, Демидова В.С.¹, Земсков А.М.³,
Васильев О.С.⁴



<https://elibrary.ru/qdphav>

МикроРНК В КЛИНИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКЕ И ЛЕЧЕНИИ ТЕРМИЧЕСКИХ ПОРАЖЕНИЙ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр хирургии имени А. В. Вишневского» Минздрава России, 117997, Москва, Россия;

²ФГБОУ ДПО Российской медицинская академия непрерывного профессионального образования (ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава РФ), 125993, Москва, Россия;

³Воронежский государственный медицинский университет имени Н.Н. Бурденко, 394036, Воронеж, Россия;

⁴ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава РФ, кафедра спортивной медицины и медицинской реабилитации, 119991, Москва, Россия

Представлен анализ клинических и экспериментальных данных о применении различных микроРНК в качестве диагностических и фармакологических агентов, актуальных при термических поражениях. Поиск литературных источников проведен по ключевым словам «биомаркеры микроРНК», «микроРНК при термических поражениях», «маркеры септических осложнений», «микроРНК в патогенезе заболеваний», «microRNA in clinical diagnosis», «microRNA in burn injuries» в реферативных базах данных eLibrary, PubMed, Scopus, MedLine, CyberLeninka, Google Scholar. В анализ вошли оригинальные исследования, обзоры и мета-анализы, опубликованные на русском и английском языках не ранее 2009 года.

Ожоговая травма является актуальной медико-социальной проблемой во всем мире. Молекулярно-генетические исследования предлагают новые высокочувствительные и специфичные биомаркеры для создания эффективных панелей, способных обеспечить раннюю диагностику септических осложнений, разработку новых методов лечения, в том числе при термических поражениях.

МикроРНК - класс некодирующих РНК, длиной 18-25 нуклеотидов со специфичной шипичной структурой. Посттранскрипционные регуляторные механизмы микроРНК-интерференции в трансляции матричной РНК регулируют экспрессию генов совместно с белок-транскрипционными факторами практически всех клеточных и метаболических процессов.

В исследованиях последних лет широко обсуждаются подходы к применению микроРНК в качестве перспективного инструмента ранней молекулярной диагностики и подходов к лечению различных патологических процессов на основе антисенсовых РНК, в том числе при термических поражениях.

Ключевые слова: термические поражения; ожоги; микроРНК в клинической диагностике; биомаркеры сепсиса

Для цитирования: Таллерова А.В., Ревишвили А.Ш., Земсков В.М., Алексеев А.А., Козлова М.Н., Соловьева М.С., Шишкина Н.С., Куликова А.Н., Демидова В.С., Земсков А.М., Васильев О.С. МикроРНК в клинической лабораторной диагностике и лечении термических поражений (обзор литературы). Клиническая лабораторная диагностика. 2025; 70 (7): 484-495.

DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2025-70-7-484-495>

EDN: QDPAHV

Для корреспонденции: Таллерова Анна Вадимовна, канд. биол. наук, мл. научн. сотр. клинико-диагностической лаборатории ФГБУ «НМИЦ хирургии им. А.В. Вишневского» Минздрава России; e-mail: tallerova@ixv.ru

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 07.02.2025

Принята к печати 03.04.2025

Опубликовано 25.06.2025

Tallerova A.V.¹, Revishvili A.S.¹, Zemskov V.M.¹, Alekseev A.A.^{1,2}, Kozlova M.N.¹, Soloviova M.S.¹, Shishkina N.S.¹, Kulikova A.N.¹, Demidova V.S.¹, Zemskov A.M.³, Vasilev O.S.⁴

MicroRNA-BASED DIAGNOSIS AND THERAPY IN BURN INJURIES (REVIEW OF LITERATURE)

¹A.V. Vishnevsky National Medical Research Center of Surgery, Moscow, Russia;

²Federal State Budgetary Educational Institution of Further Professional Education «Russian Medical Academy of Continuous Professional Education» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow, Russia;

³N.N. Burdenko Voronezh State Medical University, Voronezh, Russia;

⁴I.M. Sechenov FGAOU VO First Moscow State Medical Institute of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow, Russia

The article presents an analysis of clinical and experimental data on the use of various microRNAs as diagnostic and pharmacological agents relevant for thermal injuries. The literature search was conducted using the keywords «microRNA biomarkers», «microRNA in thermal injuries», «markers of septic complications», «microRNA in disease pathogenesis», «microRNA in clinical diagnosis», «microRNA in burn injuries» in the abstract databases eLibrary, PubMed, Scopus, MedLine, CyberLeninka and Google Scholar. The analysis included original studies, reviews and meta-analyses published in Russian and English not earlier than 2009.

Burn injury is a pressing medical and social problem worldwide. Molecular genetic studies offer new highly sensitive and specific biomarkers for the creation of effective panels capable of providing early diagnosis of septic complications, as well as the development of new treatment methods, including for thermal injuries. MicroRNA is a class of non-coding RNAs, 18-25 nucleotides long, with

a specific hairpin structure. Post-transcriptional regulatory mechanisms of microRNA interference in the translation of mRNA coordinate gene expression together with protein transcription factors of almost all cellular metabolic processes. Thus, in recent years, approaches to the use of microRNA as a promising tool for early molecular diagnostics and approaches to the treatment of various pathological processes, including thermal injuries, have been widely discussed in studies.

Key words: thermal injuries; burns; microRNA-based clinical diagnosis; sepsis biomarkers

For citation: Tallerova A.V., Revishvili A.Sh., Zemskov V.M., Alekseev A.A., Kozlova M.N., Solovyeva M.S., Shishkina N.S., Kulikova A.N., Demidova V.S., Zemskov A.M., Vasilyev O.S. MicroRNAs in clinical laboratory diagnostics and treatment of thermal injuries (review of literature). *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2025; 70 (7): 484-495 (in Russ.).

DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2025-70-7-484-495>

EDN: QDPAHV

For correspondence: Tallerova Anna Vadimovna, PhD, jr. researcher of Laboratory of Clinical Diagnostic A.V. Vishnevsky National Medical Research Center of Surgery, of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation; e-mail: tallerova@ixv.ru

Information about authors:

Tallerova A.V., <https://orcid.org/0000-0003-0845-9003>;
Revishvili A. S., <https://orcid.org/0000-0003-1791-9163>;
Zemskov V.M., <https://orcid.org/0000-0002-8867-5349>;
Alekseev A.A., <https://orcid.org/0000-0001-6675-4794>;
Kozlova M.N., <https://orcid.org/0000-0002-0554-7094>;
Soloviova M.S., <https://orcid.org/0000-0001-8864-000X>;
Shishkina N.S., <https://orcid.org/0000-0002-0600-6038>;
Kulikova A.N., <https://orcid.org/0000-0001-5514-5600>;
Demidova V.S., <https://orcid.org/0000-0003-3187-4408>;
Zemskov A.M., <https://orcid.org/0000-0002-7056-5924>;
Vasiliev O.S., <https://orcid.org/0000-0002-7932-116X>.

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

Acknowledgment. The study had no sponsor support.

Received 07.02.2025

Accepted 03.04.2025

Published 25.06.2025

Введение. Термические поражения (ТП) являются актуальной медико-социальной проблемой [1, 2]. По данным ВОЗ, ежегодно около 11 млн человек обращаются за медицинской помощью при ожогах. Ожоговая травма часто становится причиной возникновения полной, частичной или временной нетрудоспособности, снижения качества жизни и развития эмоциональных расстройств [3].

При обширных ожогах в тканях и крови организма появляются антигены эндогенной и экзогенной природы. Болевая афферентная импульсация и шок при тяжелой термической травме значительно нарушают межклеточные взаимодействия в иммунной, эндокринной, нервной системах, приводят к инфекционным и септическим осложнениям [4 - 6].

Современная тактика лечения при ожогах разработана во многом благодаря успехам в изучении патогенеза ожоговой болезни (ОБ) и её осложнений. Широкие возможности открыли, в частности, исследования микробиологов и иммунологов, направленные на выявление механизмов взаимодействия между организмом пострадавшего от ожогов и инфекционных агентов [6]. Решение этих и других задач, связанных с изучением функционально-морфологических изменений со стороны внутренних органов и систем обожженного, позволило предложить патогенетически обоснованные методы иммунокоррекции, системной и местной антибактериальной терапии, парентерального и энтерального питания и др. [6].

В мировой практике активно разрабатывается система кластерного анализа биомаркеров для диагно-

стики тяжести ТП и ОБ. Применение комбустиологами мониторинга комплекса различных маркеров позволяет в течение нескольких часов прогнозировать степень тяжести ОБ, устанавливать риски развития сепсиса и других генерализованных осложнений. Подобный подход в диагностике позволяет эффективнее применять современную интенсивную терапию, опережающую и купирующая развитие септических состояний организма [4-7].

Согласно данным авторов мета-анализа, 28 исследований с участием 1517 пациентов проведена оценка прогностического потенциала порядка 50 различных биомаркеров для ранней диагностики сепсиса. Все они высвобождаются в циркулирующий кровоток и играют важную роль на каждом этапе течения ОБ, в процессе заживления и неоангиогенезе [8]. Перечень исследуемых маркеров приведён в табл. 1.

Молекулярно-генетические исследования арсенала биологических маркеров увеличиваются с каждым днем, что позволяет создавать новые чувствительные и специфичные панели биомаркеров состояния организма при ожогах, использовать новые эффективные подходы в терапии ОБ и ее осложнений [9 - 11].

Биомаркеры - МикроРНК. МикроРНК - семейство малых некодирующих и не транслирующихся в белок РНК. Этапы биогенеза микроРНК представлены на рисунке, а-е. В ядре клетки гены микроРНК транскрибируются с помощью РНК-полимеразы II (а). Ядерные предшественники при-микроРНК-транскрипты расщепляются РНК-азой типа III (*Drosha*) на пре-микроРНК длиной 60-70 нуклеотидов в виде структурного комплек-

Таблица 1

Биомаркеры для прогноза септического осложнения при ожоговом поражении

Системное звено	Биомаркер	Источник
Воспаление: белки острой фазы	Прокальцитонин (ПКТ)	[8]
	С-реактивный белок	
	D-димер	
	Пресепсин	
	Протромбин	
	Фактор некроза опухоли- α (ФНО- α)	
	Межрегиональный фрагмент проадреномедулина (МРФ-проАДМ)	
Биоинформация: молекулы, ассоциированные с клеточными повреждениями	Внеклеточная ДНК	[8]
	Митохондриальная ДНК	
	Ядерная ДНК	
Гематология (количество клеток)/ иммунный статус (фенотипирование клusterов дифференцировки): Лимфоциты Тромбоциты Нейтрофилы Эозинофилы Фагоциты Гранулоциты	CD3 $^{+}$ /CD4 $^{+}$ /CD8 $^{+}$ /CD14 $^{+}$ /CD16 $^{+}$ /CD19 $^{+}$ /CD56 $^{+}$	[4, 8]
	Фагоцитарный индекс	
	Активация нейтрофилов	
	Иммуноглобулины	
	рИЛ-1 β	
	ИЛ-6	
	Лактат	
Метаболизм	pH артериальной крови	[8]
	Кислотно-основной анализ	
	Глюкоза	
	1,3- β -D-глюкан	
Патоген-ассоциированные молекулярные клusterы	Эндотоксин	[8]
	Индекс системного сосудистого сопротивления (SVRI)	
	N-терминальный фрагмент мозгового натрийуретического пептида	
	Билирубин	
	Креатинин	
Дисфункция органов	Сердечный индекс	[8]
	Индекс системного сосудистого сопротивления (SVRI)	
	N-терминальный фрагмент мозгового натрийуретического пептида	
	Билирубин	
	Креатинин	

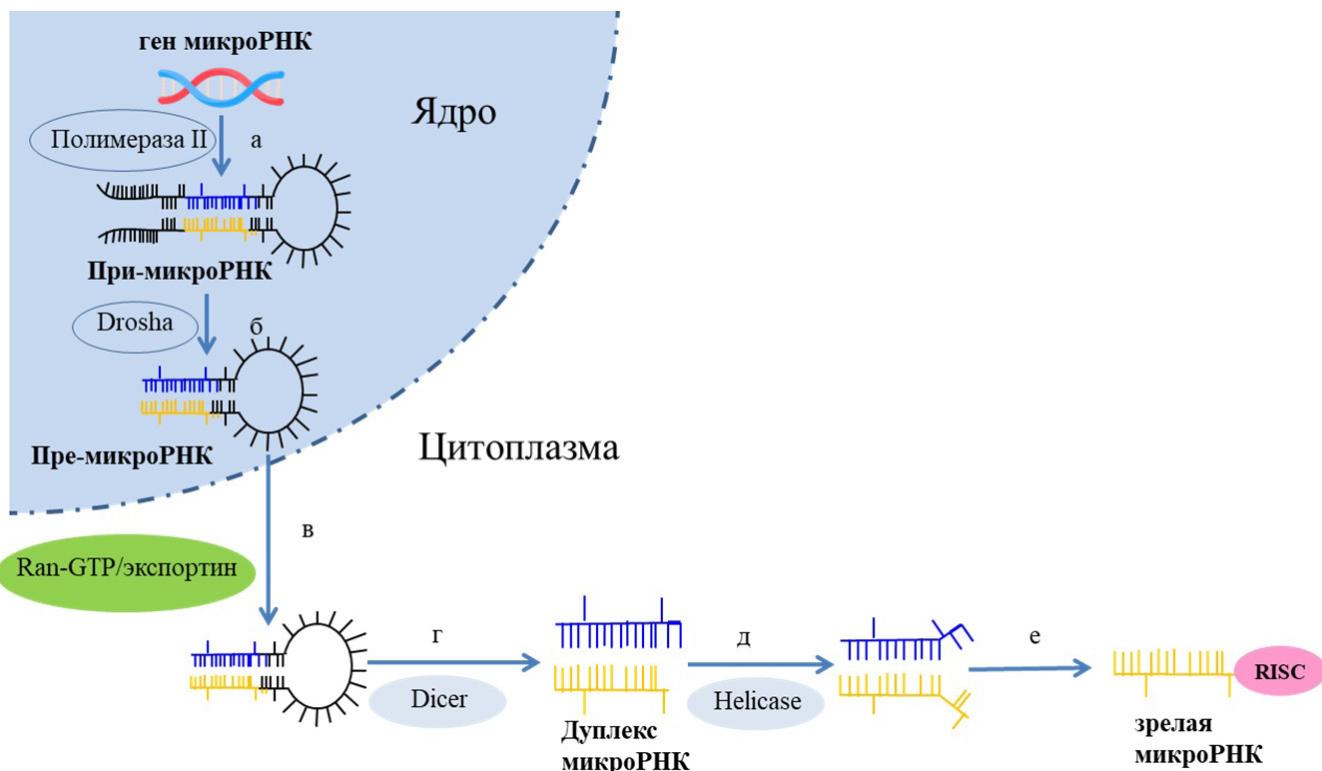


Схема биогенеза микроРНК. Объяснения в тексте.

са «стебель-петля» (б). Из ядра пре-микроРНК транспортируются в цитоплазму с помощью белкового комплекса Ran-GTP/экспортин (в). В цитоплазме двуцепочечная часть пре-микроРНК связывается с белком Dicer, содержащим каталитический центр РНК-азы III, отделяется петля от стебля, соединяющая 3'- и 5'-концы шпильки пре-микроРНК (г). В результате такого процессинга высвобождается разъединяющийся дуплекс микроРНК длиной, примерно, 21-25 нуклеотидов (д). Одноцепочечная зрелая микроРНК связывается с комплексом сайленсинга, РНК-индукцируемым комплексом выключения гена [12, 13] (*англ. RNA-induced silencing complex (RISC)*) (е), осуществляющего механизм воздействия микроРНК на мишени матричной РНК (мРНК). В результате активности RISC антисенсовая цепь микроРНК соединяется с комплементарной последовательностью мРНК и ингибирует трансляцию [12, 13].

Поскольку каждая микроРНК потенциально может выступать регулятором экспрессии нескольких сотен мРНК, а экспрессия одного гена может регулироваться несколькими микроРНК, оказывается возможным новый уровень координированной экспрессии генов, дополняющий действие белково-транскрипционных факторов, причем регуляция с помощью микроРНК отличается быстротой и обратимостью [14].

Показано участие микроРНК в регуляции таких важных клеточных процессов, как дифференцировка, пролиферация, апоптоз и реакция на стресс. Под контролем определенной микроРНК находятся сразу несколько участников регуляторных путей, отвечающих за определенное состояние клетки, поэтому нарушение экспрессии микроРНК вызывает дисрегуляцию целой сигнальной сети и расстройства функционирования клетки. Нарушение правильного функционирования определенных микроРНК [14] лежит в основе патогенеза различных заболеваний [14].

МикроРНК являются специфичными для определённых тканей и/или стадий развития организма, обнаруживаются в различных биологических жидкостях: сыворотке крови, моче, семенной жидкости, слюне, грудном молоке.

Молекулы микроРНК рассматриваются в качестве перспективного инструмента ранней молекулярной диагностики развивающихся патологических процессов. Преимуществами данных биомаркеров считаю возможность определения патологии в латентный период, малую инвазивность, относительную устойчивость к разрушающим факторам [12, 13].

Молекулярно-генетические исследования микроРНК при термических поражениях. Дифференциальная экспрессия определенных микроРНК описана для ряда кожных заболеваний, например, псориаза [17 - 19], атопического дерматита [20, 21] и в келоидных тканях [22]. В денатурированных дермальных ожоговых образцах пациентов показана различная дифференциальная экспрессия порядка 66 различных микроРНК через четыре дня после ожога по сравнению с неповрежденной кожей [23]. В клинической практике пока не установлен ни один из них в качестве биомаркера. Во многих исследованиях биомаркеров микроРНК кожных заболеваний использованы образцы плазмы или сыворотки крови пациентов [16, 24, 25]. Данного подход основан на открытии исследователями,

сделанном около 60 лет назад, содержания свободных, циркулирующих, внеклеточных нуклеиновых кислот в крови, наряду с циркулирующими в плазме ДНК и РНК опухолей онкологических пациентов. Некоторое время считалось, что молекулы РНК нельзя использовать в качестве биомаркеров из образцов крови из-за повышенных уровней нуклеаз, обнаруженных в плазме крови, но эта идея была отвергнута, когда было обнаружено, что микроРНК стабильны в образцах [16] фиксированных тканей. Стоит отметить, что спектр микроРНК, содержащихся в кровотоке, обширен и содержит микроРНК и других тканей, таких как, печень, почки, легкие, клетки крови [26].

Использование метода дермальной микроперфузии позволило определять содержание тканеспецифичных микроРНК в дермальной интерстициальной жидкости (ДИСЖ) у крыс и человека непосредственно на участке обожженной кожи [27, 28].

В исследованиях установлено, что микроРНК транспортируются внеклеточными везикулами [25], идентифицированными в ДИСЖ и выступающими медиаторными молекулами, координирующими кератиноцит-фибробластные трансформации в процессе старения [29].

Целью одного из комплексных молекулярно-генетических исследований авторов явился анализ содержания микроРНК в образцах дермальной интерстициальной жидкости с оценкой экспрессируемых генов у пациентов с ожогами на стадии первичного ответа [9]. Согласно биоинформационному анализу с использованием открытых баз данных микрочипов проведен первичный скрининг потенциальных мишений взаимодействий микроРНК-мРНК для анализа изменений экспрессии генов в образцах пациентов после получения ожогов в первые 3 дня.

В общедоступных наборах данных GEO из транскриптомных исследований биопсий, собранных у ожоговых пациентов, идентифицированы регулирующие микроРНК после ожоговых травм. Для этого база данных NCBI-GEO [30] проверена на наличие данных об экспрессии в образцах биоптатов кожи человека после ожога [9]. В анализ включены данные микрочипов из 12 образцов, по три на группу, каждый из которых состоял из объединенных РНК пяти пациентов. Сравнивали три группы образцов, полученных в 1-й и на 3-й день после ожога, с тремя соответствующими контрольными группами проб [9].

Из 54 675 аннотированных генов в проанализированном наборе [9] данных 3558 (6,5%) регулировались дифференциально. В результате анализа выявлены значимые гены ранней реакции на ожог и взяты для дальнейшего изучения. Среди генов ранней реакции на ожог были матрикс-ассоциированные гены, матриксные металлопротеиназы (ММР) и коллагеназы (COL), иммуномодулирующие гены семейств интерлейкинов и хемокинов, преобразователи сигнальных каскадов, активирующих различные клеточные пути и несколько других [9].

Из 114 генов у 79 генов наблюдалась повышенная активация в ожоговых образцах [9] (70%), у 35 пониженная регуляция (30%). С помощью вычислительных методов на платформах TargetScanHuman и miRWalk в, активированных при ожоге, 114 генах мРНК проведён статистический анализ частот встречаемости консерва-

тивных сайтов олигонуклеотидных последовательностей, 3'-нетранслируемых областей (3'UTR) у млекопитающих для семейств микроРНК. Параллельно для них определены потенциальные гены-партнеры взаимодействия при реакции на ожог. Идентифицировано 113 микроРНК с помощью TargetScanHuman и 251 микроРНК с miRWALK, потенциально регулирующих 114 генов

ранней реакции на ожог. Для дальнейшего анализа отобраны те микроРНК, для которых определено более 5 партнеров взаимодействия и/или были обнаружены в качестве потенциальных целей обоими методами [9]. 48 микроРНК идентифицированы как потенциальные регуляторные молекулы генов при термических ожогах на ранних стадиях (табл. 2).

Таблица 2

Регуляторные микроРНК при термических ожогах [9]

Предполагаемые микроРНК из 114 генов-мишеней ожоговой реакции			
miR-1-3p	miR-24-3p	miR-204-5p	miR-19-3p
miR-363-3p	miR-194-5p	miR-132-3p	miR-23-3p
miR-124-3p	miR-221-3p	miR-7-5p	miR-499a-5p
miR-16-5p	miR-93-5p	miR-216a-5p	miR-142-5p
miR-497-5p	miR-212-3p	miR-203a-3p	miR-200bc-3p
miR-21-5p	miR-302c-3p	miR-181-5p	miR-25-3p
miR-128-3p	miR-425-5p	miR-101-3p	miR-27-3p
miR-32-5p	miR-520-3p	miR-9-5p	miR-137
miR-367-3p	miR-92-3p	miR-1271-5p	miR-15-5p
miR-182-5p	miR-26-5p	miR-302-3p	miR-372-3p
miR-183-5p	miR-424-5p	miR-30-5p	miR-373-3p
miR-195-5p	miR-96-5p	miR-29-3p	miR-218-5p

Таблица 3

Анализ сопряжённой экспрессии анализируемых микроРНК и мРНК, данные основаны на TargetScanHuman7.2 поиск консервативных сайтов [9]

микроРНК	Гены										
	WNT2B	TIMP3	PI15	SOX5	MME	DKK2	TNC	LIPG	MT1G	DDX3Y	SLC2A3
miR-7-5p	×										
miR-16-5p	×			×					×	×	×
miR-21-5p	×	×	×	×							
miR-101-3p										×	
miR-182-5p	×			×		×		×			
miR-195-5p	×			×					×	×	×
miR-212-3p				×							
miR-218-5p	×			×	×	×	×	×			
miR-221-3p		×				×					
miR-424-5p	×			×					×	×	×
miR-497-5p	×			×					×	×	×

Примечание. × - Наличие сопряжённой экспрессии микроРНК с генами-мишениями.

С использованием коммерчески доступных аналитических систем к 37 из этих микроРНК авторами проведено исследование содержания экзосомальных везикул микроРНК в образцах дермальной интерстициальной жидкости, полученной методом микроперфузии на модели дермального поражения при глубоких ожогах у человека [9].

Для характеристики экзосомальной фракции полученной из тканевой жидкости, после ожога, использованы экзосомальные маркеры: флотиллин и CD9.

Из 37 микроРНК, проанализированных как потенциальные регуляторы ранней ожоговой реакции, 32 выявлены с помощью кПЦР (количественной полимеразной цепной реакции) в экзосомальных фракциях, собранных в течение первых 4 часов после ожога. Пять микроРНК не выявлены, а именно: miR-182-5p, miR-183-5p, miR-302c-3p, miR-367-3p, miR-372-3p [9].

Для трёх микроРНК показаны изменения в содержании во фракциях, обогащенных экзосомами. В тканях и в ДИСЖ в месте ожогов для miR-497-5p показано пониженное регулирование. Для miR-218-5p и miR-212-3p наблюдалось снижение регуляции в жидкости, но не в тканях.

Для последующего анализа развития ожоговой реакции, авторами проанализированы образцы кожных биоптатов, собранных через 1 ч, 4 ч, 24 часа после ожога, и проведен анализ экспрессии микроРНК и мРНК в сравнении с контрольными образцами.

В биоптатах тканей проанализированы 11 микроРНК из 43 идентифицированных, ассоциированных с генами-мишениями при ожогах (табл. 3).

Из 11 генов ранней реакции на ожог, восемь показали дифференциальную экспрессию, по крайней мере, в одной из временных точек отбора образцов. Гены: DEAD-бокс-хеликазы 3, связанный с Y хромосомой

(*DDX3Y*), ингибитора пептидазы 15 (*PI15*) и эндотелиальной липазы (*LIPG*) показали усиление активности в обожженной ткани через 1 час. Гены ингибитора металлопротеиназы 3 (*TIMP3*), Dickkopf-родственного протеина 2 (*DKK2*), мембранный металлоэндопептидазы (*MME*), тенасцина С (*TNC*) и трансмембранный белка переносчика растворённых веществ (*SLC2A3*) показали увеличение экспрессии через 24 часа. Никаких различий в экспрессии не наблюдалось для генов *WNT2B*, в частности, сайта интеграции *MMTV* бескрылого типа (*WNT*), SRY-Box транскрипционного фактора 5 (*SOX5*) и металлотионеина-1G (*MT1G*) в образцах через 24 часа после ожога.

Анализ сопряжённой экспрессии микроРНК показал, что уровень *miR-497-5p* в тканях постоянно снижен через 1 ч, 4 ч, через 24 часа после ожога, и это снижение регуляции отразилось и на снижении содержания в тканевой жидкости.

miR-497-5p является регулятором жизнеспособности фибробластов, его содержание повышено в гипертрофических рубцах [31], часто возникающих после ожоговых травм [32]. В тканях злокачественной меланомы обнаружено значительное снижение уровня экспрессии *miR-497-5p* [33]. В различных онкологических исследованиях сообщалось, что *miR-497-5p* является регулятором роста опухоли [33–35] потенциально через его регуляторное воздействие на NF-κB [36] и FGF-2 [37] сигнальные пути. Можно предположить, что значительное снижение *miR-497-5p* может являться индикатором регенеративной способности ожоговой травмы.

miR-21-5p демонстрировал пониженную экспрессию в ДИСЖ при «неполных» ожогах, но не в биоптатах кожи. Потенциальным источником *miR-21* могут быть мезенхимальные стволовые клетки, поскольку известна регулирующая активность *miR-21* в адипогенной дифференцировке посредством системы TGF-β сигналинга [38]. В здоровой коже *miR-21* обнаружен с высокой экспрессией в адипоцитах и сальных железах, но не в эпидермисе у мышей. В том же исследовании, во время заживления ран после полнослойного иссечения кожи высокая экспрессия *miR-21* обнаружена в эпидермисе вокруг раны, особенно в местах активной миграции эпителиальных клеток. В грануляционной ткани, *miR-21* обнаружен в мезенхимальных клетках. Показано, что *miR-21*-антагомир ингибирует заживление ран у мышей путем ингибирования депонирования коллагена [39]. Сообщается, что *miR-21* активируется при многих типах рака. Всё это в целом может указывать на вклад *miR-21-5p* в процессы заживления ран при ожогах [40, 41].

Для *miR-218-5p* показана пониженная экспрессия в ДИСЖ при ожоговых травмах. *MiR-218-5p* способствует увеличению апоптоза клеток за счет воздействия на секреируемый белок 2, связанный с завиткам (*SFRP2*), который, в свою очередь, является активатором сигнального пути Wnt [42]. При этом в исследовании наблюдали изменения экспрессии *WNT2B* в тканях кожи в течение первых 24 часов после ожога. *MiR-218* увеличивает апоптотическую гибель клеток при раке легких [43]. Местное снижение регуляции *miR-218-5p* может уменьшать апоптоз в коже, тем самым действуя,

как механизм защиты клеток от гибели.

В исследовании глубоких ожогов установлено снижение уровня экспрессии *miR-221-3p* в тканях через 4 часа после ожога. Это соответствует результатам исследования в денатурированной дерме ткани пациентов с глубокими ожогами, где обнаружен измененный профиль 66 микроРНК, включая снижение регуляции *miR-221* [23] на четвертый день после ожога. Сообщается, что уровень *miR-221-3p* подавляется в фибробластах кожи человека, подвергшихся воздействию липополисахаридов (ЛПС) бактерий, в модели инфицированных кожных ран, тогда как сверхэкспрессия *miR-221-3p* снижает негативный эффект ЛПС на рост клеток [44].

В сыворотке крови пациентов с псориазом уровень экспрессии *miR-221-3p* повышен, а его низкая экспрессия ингибировала рост клеток в культуре [45]. Можно предположить, что *miR-221-3p* может выступать в качестве регулятора регенерации фибробластов. Установленное снижение *miR-221* в келоидной ткани кожи также косвенно подтверждает это предположение [22]. Контроль уровней *miR-221-3p* может быть полезным для восстановления кожи после воспалительных процессов. Стоит отметить, что данные исследования [9] показывают, что уровень *miR-221-3p* снижался через 4 часа после ожога и восстанавливается до контрольного значения через 24 часа. Полученные при этом данные противоречат выводам другого исследования [23], показавшего снижение *miR-221-3p* в обожженной коже через 4 дня в денатурированной дерме при глубоких ожоговых ранах. Предполагается, что *miR-221-3p* может быть кандидатом в маркеры тяжести ожогов.

В исследовании, в котором фибробласти кожи человека подвергались тепловому шоку, не определялось изменение экспрессии микроРНК, не менялась экспрессия *miR-221-3p* и *miR-497-5p* [46], что указывает на то, что другие клетки кожи человека могут быть источником этих двух микроРНК. Внеклеточная *miR-497-5p*, возможно, происходит из клеток Лангерганса, дендритных клеток или Т-клеток кожи [47] в качестве паракринного сигнала.

Активность *miR-101-3p* повышалась в тканях через 1 час после ожогового стимула и ее экспрессия возвращалась к контрольным уровням на более поздних стадиях ожога. *MiR-101-3p* может быть регулятором раннего ответа на ожоги кожи, возможно, путем точной настройки активации его партнера по взаимодействию *DDX3Y* в первый час после ожога.

Клиническая лабораторная диагностика микроРНК. МикроРНК, которые мигрируют за пределы клеток и попадают в жидкости организма, относят к циркулирующим или внеклеточным микроРНК [10]. Показано, что примерно 90% циркулирующих микроРНК образуют комплексы, рибонуклеопротеины с белками Аргонавт 2 (Ago2) [48], нуклеофозмин 1 (NPM 1) и липопротеинами высокой плотности [49]. Остальные 10% циркулирующих микроРНК секретируются в виде экзосом [50, 51] и эндосомных микровезикул, формирующихся из плазматических мембран [51]. Упаковка в экзосому или в комплекс с белками [48], необходима для защиты микроРНК от присутствующих РНК-аз в жидкостях организма [52].

Эксосома, содержащая микроРНК, может проникать в соседние клетки в результате поглощения эндоцитами, слияния мембран или интеграции со специфическими рецепторами на поверхности клеток и осуществлять влияние на мишени мРНК других клеток [53, 54].

Профиль экспрессии микроРНК специфичен для клеток разных тканей и характеризуется несколькими десятками, а иногда и сотнями молекул. Характерные изменения профиля микроРНК сопровождают различные патологические состояния [11], и могут выступить в качестве перспективного молекулярно-генетического кластера биологических маркёров, и инструмента ранней клинической лабораторной диагностики.

В настоящее время описано порядка трёх тысяч различных микроРНК у человека. Особый прогресс достигнут в онкологии, где такие диагностические системы находятся на стадиях разработки, испытаний или их уже применяют в клинической практике для выявления онкологических заболеваний, включая рак предстательной железы, щитовидной железы, колоректальный рак [11].

Количественное и качественное определение микроРНК. Широкое распространение практического использования исследований количества и качества нуклеотидных последовательностей ДНК и РНК в биологических образцах требует получения воспроизводимых результатов и решения задачи их клинической интерпретации [11].

Результаты молекулярно-генетических анализов микроРНК в значительной мере зависят от качества выделяемых из биологических образцов препаратов общей РНК [11]. Выделение нукleinовых кислот (НК) важный шаг подготовки проб перед биохимическими и диагностическими процессами. Многие методы, такие как амплификация, проведение обратной транскрипции, детектирование накопления продуктов амплификации методом ПЦР-РВ, клонирование, сиквенс, гибридизация, синтез ДНК и т. д., не могут быть выполнены непосредственно на биологических образцах без предварительной очистки НК [11].

Методы выделения/разделения ДНК и РНК. Существуют различные методы, позволяющие выделять НК из широкого спектра образцов. Методы выделения НК можно разделить по основным физическим и биохимическим признакам на следующие классы: жидкофазные и твердофазные методы [56].

Выбор метода основывается на приоритете предъявляемых требований к качеству образца, например, таких, как высокий выход интересующей НК, быстрота метода, большая пропускная способность или высокое качество продукта.

Классические жидкофазные методы выделения НК из сложных исходных образцов [56], таких, как кровь или ткани, включают в себя лизис биологического материала детергентами или хаотропными агентами, иногда в присутствии разрушающих белки ферментов. После этого этапа следуют несколько стадий, использующих органические растворители, такие как фенол и/или хлороформ или этанол [56].

Фенол-хлороформный метод. Клеточный лизат или гомогенат тканей обрабатывают фенолом, хлороформом и изоамиловым спиртом в пропорции

25:24:1. Фенол нужен для денатурации белков, включая нуклеазы, хлороформ растворяет жиры, изоамиловый спирт уменьшает пенообразование и защищает хлороформ от окисления [57]. Полученный двухфазный раствор интенсивно перемешивают, центрифугируют для разделения фаз. В нижнюю (органическую) фазу попадают липиды и жирные кислоты, на границе раздела фаз оседают белки, в верхней (водной) фазе остаются НК [57].

Метод с использованием тризола. Раствор, основными компонентами которого являются тиоцианат гуанидина, ацетат натрия, фенол и хлороформ, способствует разрушению клеток, стабилизирует РНК и позволяет разделить РНК, ДНК и белки в различных фазах при центрифугировании [57].

В твердофазных методах [56] выделения НК используются следующие процессы и принципы:

а) водородные связи с немодифицированной гидрофильной матрицей, обычно кварцем, в хаотропных условиях;

б) ионообмен в водном растворе, обычно с использованием анионообменников;

в) аффинность;

г) механизмы исключения по размеру.

Твердофазные системы, адсорбирующие НК, - частицы на основе кварца, стеклянные волокна, анионообменные носители, используемые в хроматографических сепарационных колонках. Эти носители применяются для выделения или очистки нукleinовых кислот с высококонцентрированными растворами хаотропных солей (йодид натрия, перхлорат натрия, гуанидин тиоцианата) [56].

УФ-спектрофотометрический анализ концентрации и чистоты внеклеточной РНК в сыворотке крови. Наиболее распространенными методами оценки выделенных НК являются следующие:

– электрофорез в акриламидном или агарозном геле;

– УФ-спектрофотометрическая оценка по уровню поглощения;

– флуориметрическая оценка с использованием флуоресцентных красителей;

– гибридизация со специфическим зондом;

– полимеразная цепная реакция (ПЦР) [58].

Измерение поглощения при 260 нм для РНК и ДНК с использованием УФ-спектрофотометрии является [58] простым и надёжным методом. Нукleinовые кислоты определенным образом поглощают ультрафиолет (УФ). В спектрофотометрах образец подвергается действию УФ с длиной волны 260 нм, фотодетектор измеряет количество света, прошедшего через образец. Чем больше света поглощено, тем выше концентрация нукleinовой кислоты в образце [58].

Согласно закону светопоглощения Ламберта-Бугера-Бера на основе математической модели корреляции значений оптической плотности (ОП) и коэффициентов экстинкции двуцепочечной ДНК $0,020 \text{ (мкг/мл)}^{-1} \text{ см}^{-1}$, одноцепочечной ДНК $0,027 \text{ (мкг/мл)}^{-1} \text{ см}^{-1}$ и одноцепочечной РНК $0,025 \text{ (мкг/мл)}^{-1} \text{ см}^{-1}$ рассчитывается концентрация олигонуклеотидов (ОНК) в образце [59].

ОП, равная 1, соответствует концентрации двуцепочечной ДНК около 50 мкг/мл.

Спектрофотометрический способ определения концентрации НК применяется при концентрациях до 2 OD. Более точные коэффициенты экстинкции требуются для определения концентрации ОНК, и могут быть предсказаны при помощи модели ближайшего соседства [59].

Для оценки чистоты и качества выделенных НК при спектрофотометрическом измерении определяют соотношения оптических плотностей поглощения при длинах волн 230, 260, 280 нм [58, 59]. НК имеют максимум поглощения при длине волны $\lambda=260$ нм, большинство белков – при $\lambda=280$ нм. Поглощение на длине волны 230 нм характерно для органических соединений и хаотропных солей, например, изотиоцианата гуанидина, используемого для выделения РНК.

Соотношение значений поглощений при длинах волн 260 нм и 280 нм (A260/A280) для чистых нуклеиновых кислот определяется в пределах 1,8-2,2 и оптимально составляет $\sim 1,8$ и $\sim 2,0$ для ДНК и РНК, соответственно. Значение менее 1,8 может указывать на полипептидные примеси в образцах, более 2 – на возможную деградацию и наличие свободных нуклеотидов.

На торговых платформах представлены спектрофотометры, позволяющие проводить измерение микроколичеств НК [58].

Многофункциональный спектрофотометр для микропланшета Synergy™ 2, производства BioTek Instruments Inc (США), успешно применяется в центре НМИЦ хирургии им. А.В. Вишневского. Прибор оснащён современными оптическими системами, специализированным планшетом Nano-VC. Планшет с нанесёнными специальными линзами с гидрофобной поверхностью предназначен для выполнения исследований в микрообъёмах (2 мкл), оснащён держателем стандартной кюветы, для измерения с длиной оптического пути 1 см, что позволяет оперативно измерить до 16-ти образцов ДНК, РНК или белка в исследуемых пробах, без предварительного разведения в микрообъёмах.

Программное обеспечение для анализа данных спектроскопии Gen5™ содержит математические протоколы, позволяющие в онлайн-режиме получать результаты количественного анализа содержания РНК и ДНК в образце с пределом концентрации 2 нг/мкл для дЦДНК (двуцепочечная ДНК). В протоколах анализа нуклеиновых кислот УФ-спектральное сканирование образца объёмом 2 мкл проводится при длинах волн 260 нм, 280 нм, 320 нм. Значение свечения при длине волны $\lambda=320$ нм используется в качестве фонового поглощения контроля вычитания, поскольку нуклеиновые кислоты не поглощают при данной длине волны. Соотношение оптических плотностей при длинах волн 260/280 рассчитывается для оценки присутствия белковых примесей. Результаты количественного анализа РНК/ДНК представляются в виде итогового отчёта в формате Excel, с расчётными концентрациями в нг/мкл и значением коэффициента чистоты.

Геномные технологии анализа микроРНК. Для геномного анализа микроРНК применяют современные технологии, используемые для анализа НК [11]:

- автоматическое определение первичной

структурой (нуклеотидных последовательностей) РНК, полногеномное секвенирование;

- технология олигонуклеотидных микрочипов (microarrays);

- ОТ-ПЦР (метод обратной транскрипции (ОТ) с последующей полимеразной цепной реакцией [11].

Прорыв в области биотехнологических методов автоматического определения нуклеотидных последовательностей РНК и дальнейшее предсказание её структурных элементов привело к интенсивному росту количества секвенированных геномов [59]. Полученный таким образом объёмный кластер биоинформационных данных во многом позволяет решать задачи эффективного предсказания функциональных элементов РНК, таких как белок-кодирующие области или регуляторные структуры [59].

Технология иммунопреципитации РНК на микрочипах используется для определения последовательностей РНК, взаимодействующих с конкретными РНК- связывающими белками [60]. РНК-биочип может использоваться для определения относительных уровней экспрессии генов, для идентификации подмножеств РНК, которые могут совместно регулироваться, или для идентификации РНК, которые могут выполнять родственные функции [60].

Авторы сравнительного анализа трех методов детекции микроРНК на основе ПЦР рассматривают как перспективное внедрение их в клиническую практику [11]. Они отмечают, что в клинике уже используются предоперационные наборы для узловых образований щитовидной железы на основе анализа микроРНК («Rosetta GXReveal»/Rosetta Genomics; «ThyraMIRRNK»/Interpace diagnostics) в качестве дополнения к стандартным диагностическим алгоритмам [11]. Методы прогнозирования течения или ответа на гормональную терапию рака предстательной железы проходят клинические испытания [11].

Аспекты применения микроРНК в лечении термических поражений. Известно, что циркулирующие микроРНК сохраняют свойства к регуляции экспрессии генов на посттранскрипционном уровне, запуская механизмы блокировки трансляции (ингибиование синтеза белка) или разрушения мРНК, содержащих комплементарные, или частично комплементарные им последовательности. Согласно процессу микроРНК-интерференции происходит остановка считывания кодонов матричной РНК за счёт встраивания антисмыслового кодона микроРНК (антисенс-РНК). Так осуществляется горизонтальный перенос информации, модулируются функции клеток, в которые они экспорттировались. Транспортерами микроРНК выступают различные микрочастицы - микровезикулы, эндосомы, липопротеины, апоптозные тела [14].

На основе данных механизмов в работах последних лет широко обсуждается потенциальная возможность управления такими сигналами для обратного развития патологических фенотипов. В настоящее время на основе антисенсовых биотехнологий разработаны фармакологические препараты, представляющие собой модифицированные олигонуклеотидные последовательности регуляторных микроРНК, которые успешно применяются в терапии для замедления или

обратного развития заболевания [14, 15].

Исследования внеклеточной РНК в сыворотке крови при ожогах является инновационным, и может привести к выяснению новых аспектов патогенеза развития ОБ и возможной разработки принципиально новых подходов к ее лечению с помощью РНК-заместительной терапии [16].

В совместных исследованиях с Институтом персонифицированной и молекулярной медицины РМАНПО нами с помощью выделения очищенной внеклеточной РНК на специальных картриджах Invitrogen (Carlsbad, США) удалось установить достоверный дефицит внеклеточной РНК в сыворотке ожоговых больных (данные не опубликованы). В этом смысле зарегистрированный препарат РНК, такой как натриевая соль дрожжевой РНК (Na-РНК), может рассматриваться как метаболический нормализер [17].

В наших исследованиях показано, что Na-РНК обладает широким спектром биологических свойств - в дифференцировке, размножении, метаболизме, регенерации всех типов клеток. В усиении противомикробного, противовирусного, противоопухолевого иммунитета, детоксикации гормонов, цитостатиков, антибиотиков, бактериальных токсинов, активации белкового, нуклеинового метаболизма, гликозилизации, окислительного фосфорилирования, анаэробного и аэробного гликозилизации и т. д. [18].

Ранее нами показано, что Na-РНК при трофических язвах конечностей и желудочно-кишечного тракта способна нормализовать развившийся иммунодефицит и РНК-дефицит в сыворотке крови и устраниТЬ трофические язвы. Все эти процессы имеют много общего с ожоговыми поражениями, и могут оказаться чрезвычайно эффективными в комбустиологии.

Заключение. Открытие РНК-технологий с возможностью воздействия на мРНК позволило достичь значительного прогресса в исследованиях последних лет в определении происхождения и точных функций микроРНК с учетом их потенциального использования, как в научной, так и в клинической области.

Представленный обзор литературы о возможности применения микроРНК, в том числе в клинической лабораторной диагностике и лечении пациентов с тяжелой ожоговой травмой, свидетельствует о том что, несмотря на отсутствие стандартизованных протоколов их использования, они отвечают большинству необходимых критериев надежных биомаркеров, таких как доступность, высокая специфичность и чувствительность. По мере развития современных методов исследования, микроРНК могут стать рутинными для определения персонализированных профилей пациентов, применения современных методов диагностики и интенсивного лечения.

Перспектива дальнейших исследований патогенеза ОБ должна включать изучение результатов протеомной и генетической экспрессии в диагностике осложнений ОБ при оценке динамики заживления ран в ходе лечения пациента и его выздоровления.

ЛИТЕРАТУРА

- Симонян Е.В., Осиков М.В., Агеева А.А., Федосов А.А., Бычковских В.А. Современные аспекты патофизиологии термической травмы. *Современные проблемы науки и образования*. 2020; 3. DOI: <https://doi.org/10.17513/spno.29723>.
- Siu M.C., Voisey J., Zang T., Cuttle L. MicroRNAs involved in human skin burns, wound healing and scarring. *Wound Repair Regen.* 2023; 31(4): 439-53. DOI: 10.1111/wrr.13100.
- Sheet: Burns. <https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/burns>.
- Козлова М.Н., Земсков В.М., Алексеев А.А., Шишнина Н.С., Барсуков А.А., Демидова В.С. Характер иммунных нарушений и возможности иммунокоррекции при ожоговой болезни. *Российский иммунологический журнал*. 2019; 22 (4): 1479-81. DOI: 10.31857/S102872210007064-5.
- Земсков В.М., Алексеев А.А., Козлова М.Н., Шишнина Н.С., Гнатенко Д.А., Земсков А.М. и др. Иммунная диагностика септических осложнений при ожогах. *Успехи современной биологии*. 2015; 135(6): 531-41. <http://i.uran.ru/webcab/system/files/journalspdf/uspehi-sovremennoy-biologii/uspehi-sovremennoy-biologii-2015-t135-n-6/2015.pdf>.
- Алексеев А.А. Современные методы лечения ожогов и ожоговой болезни. *Комбустиология*. 1999; 1. <http://combustiolog.ru/journal/sovremenny-e-metody-lecheniya-ozhogov-i-ozhogovoj-bolezni/>.
- Yoon J., Kym D., Cho Y.S., Hur J., Yoon D. Advanced biomarker clustering analysis reveals mortality predictors in burn patients with sepsis. *Scientific Reports*. 2024; 14: 22784. DOI: 10.1038/s41598-024-74313-8.
- Li A.T., Moussa Y.A., Gus E., Paul E., Yii E., Romero L. et al. Biomarkers for the early diagnosis of sepsis in burns. *Annals of Surgery*. 2022; 275(4): 652-62. DOI: 10.1097/SLA.00000000000005198.
- Foessl I., Haudum C.W., Vidakovic I., Prassl R., Franz J., Mautner S.I. et al. MiRNAs as regulators of the early local response to burn injuries. *Int. J. Mol. Sci.* 2021; 22: 17: 9209. DOI: 10.3390/ijms22179209.
- Ho P.T.B., Clark I.M., Le L.T.T. MicroRNA-based diagnosis and therapy. *Int. J. Mol. Sci.* 2022; 23: 7167. DOI: 10.3390/ijms23137167.
- Коробкина Е.А., Князева М.С., Киль Ю.В., Титов С.Е., Малек А.В. Сравнительный анализ методов детекции микроРНК с помощью метода обратной транскрипции и количественной полимеразной цепной реакции (OT-ПЦР). *Клиническая лабораторная диагностика*. 2018; 63 (11): 722-8. DOI: 10.18821/0869-2084-2018-63-11-722-728.
- Миронова О.Ю., Бердышева М.В., Елфимова Е.М. МикроРНК: взгляд клинициста на состояние проблемы. Часть 1. История вопроса. *Евразийский кардиологический журнал*. 2023; 1: 100-7. DOI: 10.38109/2225-1685-2023-1-100-107.
- Chen B., Li H., Zeng X., Yang P., Liu X., Zhao X. et al. Roles of microRNA on cancer cell metabolism. *Journal of Translational Medicine*. 2012; 10: 228. DOI: 10.1186/1479-5876-10-228.
- Ивкин Д.Ю., Лисицкий Д.С., Захаров Е.А., Любишин М.М., Карпов А.А., Буркова Н.В. и др. МикроРНК как перспективные диагностические и фармакологические агенты. *Астраханский медицинский журнал*. 2015; 8-25. <https://cyberleninka.ru/article/n/mikrornk-kak-perspektivnye-diagnosticheskie-i-farmakologicheskie-agenty>.
- Dhuri K., Bechtold C., Quijano E., Pham H., Gupta A., Vikram A. et al. Antisense oligonucleotides: An emerging area in drug discovery and development. *J. Clin. Med.* 2020; 26(9): 2004. DOI: 10.3390/jcm9062004.
- Zemskov V.M., Neymann V., Zemskov A.M., Pronko K.N. Global role of low molecular weight nucleic acids in biological systems. *Global Journal of Medical Research*. 2020; 20 (2): 5-10.
- Земсков А.М., Земсков В.М., Передерий В.Г. Модулирующие функции дрожжевой РНК. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 1982; 9: 9.
- Даниленко М.В., Земсков В.М., Чугунов А.Н., Пасько Н.П., Крамской С.И., Голубченко В.Г. Коррекция нуклеинатом натрия иммунологических расстройств у больных с атеросклеротическими поражениями артерий нижних конечностей. *Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова*. 1991; 1(4): 108.
- Condrat C.E., Thompson D.C., Barbu M.G., Bugnar O.L., Boboc A., Cretoiu D. et al. MiRNAs as biomarkers in disease: latest findings regarding their role in diagnosis and prognosis. *Cells*. 2020; 9: 276.

20. Solvin Å.Ø., Chawla K., Olsen L.C., Hegre S.A., Danielsen K., Jenssen M. et al. MicroRNA profiling of psoriatic skin identifies 11 miRNAs associated with disease severity. *Exp. Dermatol.* 2022 Apr; 31(4):535-47. DOI: doi: 10.1111/exd.14497.
21. Srivastava A., Meisgen F., Pasquali L., Munkhammar S., Xia P., Ståhlé M. et al. Next-generation sequencing identifies the keratinocyte-specific miRNA signature of psoriasis. *J. Investigig. Dermatol.* 2019; 139: 2547-50.e12.
22. Lerman G., Avivi C., Mardoukh C., Barzilai A., Tessone A., Gradus B. et al. MiRNA expression in psoriatic skin: Reciprocal regulation of hsa-miR-99a and IGF-1R. *PLoS ONE.* 2011; 6: e20916.
23. Suárez-Fariñas M., Ungar B., Correa Da Rosa J., Ewald D.A., Rozenblit M., Gonzalez J. et al. RNA sequencing atopic dermatitis transcriptome profiling provides insights into novel disease mechanisms with potential therapeutic implications. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2015; 135: 1218-27.
24. Polak M.E. Early life regulation of inflammation in atopic dermatitis by microRNA. *Br. J. Dermatol.* 2021; 184: 391-2.
25. Liu Y., Yang D., Xiao Z., Zhang M. MiRNA expression profiles in keloid tissue and corresponding normal skin tissue. *Aesthetic Plast. Surg.* 2012; 36: 193-201.
26. Liang P., Lv C., Jiang B., Long X., Zhang P., Zhang M. et al. MicroRNA profiling in denatured dermis of deep burn patients. *Burns.* 2012; 38: 534-40.
27. Singhvi G., Manchanda P., Krishna Rapalli V., Kumar Dubey S., Gupta G., Dua K. MicroRNAs as biological regulators in skin disorders. *Biomed. Pharmacother.* 2018; 108: 996-1004.
28. Mori M.A., Ludwig R.G., Garcia-Martin R., Brandão B.B., Kahn C.R. Extracellular miRNAs: from biomarkers to mediators of physiology and disease. *Cell Metab.* 2019; 30: 656-73.
29. Turchinovich A., Weiz L., Langheinz A., Burwinkel B. Characterization of extracellular circulating microRNA. *Nucleic Acids Res.* 2011; 39: 7223-33.
30. Miller P.R., Taylor R.M., Tran B.Q., Boyd G., Glaros T., Chavez V.H. et al. Extraction and biomolecular analysis of dermal interstitial fluid collected with hollow microneedles. *Commun. Biol.* 2018; 1: 173.
31. Bodenlenz M., Aigner B., Dragatini C., Liebenberger L., Zahiragic S., Höfferer C. et al. Clinical applicability of dOFM devices for dermal sampling. *Ski. Res. Technol.* 2013; 19: 474-83.
32. Terlecki-Zaniewicz L., Pils V., Bobbili M.R., Lämmermann I., Perrotta I., Grillenberger T. et al. Extracellular vesicles in human skin: cross-talk from senescent fibroblasts to keratinocytes by miRNAs. *J. Investigig. Dermatol.* 2019; 139: 2425-36.e5.
33. Barrett T., Wilhite S.E., Ledoux P., Evangelista C., Kim I.F., Tomashevsky M. et al. NCBI GEO: Archive for functional genomics data sets - Update. *Nucleic Acids Res.* 2013; 41: D991-D995.
34. Li Z., Wang P., Zhang J., Zhao D. MicroRNA-497-5p downregulation inhibits cell viability, reduces extracellular matrix deposition and induces apoptosis in human hyperplastic scar fibroblasts by regulating Smad7. *Exp. Ther. Med.* 2021; 21: 1-8.
35. Finnerty C.C., Jeschke M.G., Branski L.K., Barret J.P., Dziewulski P., Herndon D.N. Hypertrophic scarring: The greatest unmet challenge after burn injury. *Lancet.* 2016; 388: 1427-36.
36. Chai L., Kang X.J., Sun Z.Z., Zeng M.F., Yu S.R., Ding Y. et al. MiR-497-5p, miR-195-5p and miR-455-3p function as tumor suppressors by targeting hTERT in melanoma A375 cells. *Cancer Manag. Res.* 2018; 10: 989-1003.
37. Huang C., Ma R., Yue J., Li N., Li Z., Qi D. MiR-497 suppresses YAP1 and inhibits tumor growth in non-small cell lung cancer. *Cell. Physiol. Biochem.* 2015; 37: 342-52.
38. Yang G., Xiong G., Cao Z., Zheng S., You L., Zhang T. et al. MiR-497 expression, function and clinical application in cancer. *Oncotarget.* 2016; 7: 55900-11.
39. Wei W., Zhang W.Y., Bai J.B., Zhang H.X., Zhao Y.Y., Li X.Y. et al. The NF-κB-modulated microRNAs miR-195 and miR-497 inhibit myoblast proliferation by targeting Igf1r, Insr and cyclin genes. *J. Cell Sci.* 2016; 129: 39-50.
40. Huang X., Wang L.E.I., Liu W.E.I., Li F.E.I. MicroRNA-497-5p inhibits proliferation and invasion of non-small cell lung cancer by regulating FGFR2. *Oncol. Lett.* 2019; 17: 3425-31.
41. Jeong Kim Y., Jin Hwang S., Chan Bae Y., Sup Jung J. MiR-21 regulates adipogenic differentiation through the modulation of TGF-signaling in mesenchymal stem cells derived from human adipose tissue. *Stem Cells.* 2009; 27: 3093-3102.
42. Wang T., Feng Y., Sun H., Zhang L., Hao L., Shi C. et al. MiR-21 regulates skin wound healing by targeting multiple aspects of the healing process. *Am. J. Pathol.* 2012; 181: 1911-20.
43. Wu Y., Song Y., Xiong Y., Wang X., Xu K., Han B. et al. MicroRNA-21 (Mir-21) promotes cell growth and invasion by repressing tumor suppressor PTEN in colorectal cancer. *Cell. Physiol. Biochem.* 2017; 43: 945-58.
44. Ourô S., Mourato C., Velho S., Cardador A., Ferreira M.P., Albergaria D. et al. Potential of miR-21 to predict incomplete response to chemoradiotherapy in rectal adenocarcinoma. *Front. Oncol.* 2020; 10: 1-13. DOI: 10.3389/fonc.2020.577653.
45. Zhao B., Chen Y., Yang N., Chen Q., Bao Z., Liu M. et al. MiR-218-5p regulates skin and hair follicle development through Wnt/β-catenin signaling pathway by targeting SFRP2. *J. Cell. Physiol.* 2019; 234: 20329-41.
46. Shi Z.M., Wang L., Shen H., Jiang C.F., Ge X., Li D.M. et al. Downregulation of miR-218 contributes to epithelial-mesenchymal transition and tumor metastasis in lung cancer by targeting Slug/ZEB2 signaling. *Oncogene.* 2017; 36: 2577-88.
47. Wang Y., Wang C. MicroRNA-211-3p has a role in the effects of lipopolysaccharide on endoplasmic reticulum stress in cultured human skin fibroblasts. *Med. Sci. Monit. Basic Res.* 2019; 25: 164-8.
48. Meng Z., Qiu J., Zhang H. MiR-221-3p as a potential biomarker for patients with psoriasis and its role in inflammatory responses in keratinocytes. *Skin Pharmacol. Physiol.* 2021; 34(5):300-6. DOI: 10.1159/000515114.
49. Wilmink G.J., Roth C.L., Ibey B.L., Ketchum N., Bernhard J., Cerna C.Z. et al. Identification of microRNAs associated with hyperthermia-induced cellular stress response. *Cell Stress Chaperones.* 2010; 15: 1027-38.
50. Wilmink G.J., Roth C.L., Ibey B.L., Ketchum N., Bernhard J., Cerna C.Z. et al. Identification of microRNAs associated with hyperthermia-induced cellular stress response. *Cell Stress Chaperones.* 2010; 15: 1027-38.
51. Паншина Д.Д., Кондратова К.А. На эффективность иммунопрепарации комплексов микроPHK и белка Ago2 из плазмы крови человека влияет последовательность процедур. *Молекулярная биология.* 2020; 54 (2): 244-51.
52. Vickers K.C., Palmisano B.T., Shoucri B.M., Shamburek R.D., Remaley A.T. MicroRNAs are transported in plasma and delivered to recipient cells by high-density lipoproteins. *Nat. Cell Biol.* 2011; 13: 423-33.
53. Théry C. Exosomes: Secreted vesicles and intercellular communications. *F1000 Biol. Rep.* 2011; 3: 15. DOI: 10.3410/B3-15.
54. Théry C., Zitvogel L., Amigorena S. Exosomes: composition, biogenesis and function. *Nat. Rev. Immunol.* 2002; 2: 569-79.
55. Weickmann J., Glitz D. Human ribonucleases. Quantitation of pancreatic-like enzymes in serum, urine, and organ preparations. *J. Biol. Chem.* 1982; 257: 8705-10.
56. Valadi H., Ekström K., Bossios A., Sjöstrand M., Lee J.J., Lötvall J.O. Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells. *Nat. Cell Biol.* 2007; 9: 654-9.
57. Morello M., Minciachchi V., De Candia P., Yang J., Posadas E., Kim H. et al. Large oncosomes mediate intercellular transfer of functional microRNA. *Cell Cycle.* 2013; 12: 3526-36.
58. Ibberson D., Benes V., Muckenthaler M.U., Castoldi M. RNA degradation compromises the reliability of microRNA expression profiling. *BMC biotechnology.* 2009; 9: 102.
59. Антонова О.С., Корнева Н.А., Белов Ю.В., Курочкин В.Е. Эффективные методы выделения нуклеиновых кислот для проведения анализов в молекулярной биологии (обзор). *Научное приборостроение.* 2010; 20(1): 3-9.
60. Выделение и очистка нуклеиновых кислот: как правильно выбрать метод? https://helicon.ru/media/inf_art/vydelenie-i-ochistka-nukleinovyh-kislot-kak-pravilno-vybrat-metod/.
61. Судомоина М.А. Методы оценки качества нуклеиновой кислоты, получаемой в процессе выделения. https://sileks.com/assets/files/protocol-for-kits/normalization_and_estimation_of_na_quality.pdf.
62. Солдатов Р.А., Миронов А.А. Статистические методы сравнительного геномного анализа, основанные на использовании диффузионных процессов. *Биофизика.* 2013; 58: 142-7.
63. Ласточкина О.В., Горелов П.В. Биологические микрочипы - новый уровень лабораторных исследований. *Аналитика.* 2017; 36 (5): 76-86. DOI: 10.22184/2227-572X.2017.36.5.76.86.

REFERENCES

1. Simonyan E.V., Osikov M.V., Ageeva A.A., Fedosov A.A., Bychkovsky V.A. Modern aspects of pathophysiology of thermal injury. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya*. 2020; 3. DOI: 10.17513/spno.29723. (in Russian)
2. Siu M.C., Voisey J., Zang T., Cuttle L. MicroRNAs involved in human skin burns, wound healing and scarring. *Wound Repair Regen.* 2023; 31 (4): 439-53. DOI: 10.1111/wrr.13100.
3. WHO Fact Sheet: Burns. <https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/burns>.
4. Kozlova M.N., Zemskov V.M., Alekseev A.A., Shishkina N.S., Barsukov A.A., Demidova V.S. Nature of immune disturbances and possibility of immunocorrection in burn disease. *Rossiyskiy immunologicheskiy zhurnal*. 2019; 22 (4): 1479-81. DOI: 10.31857/S102872210007064-5. (in Russian)
5. Zemskov V.M., Alekseev A.A., Kozlova M.N., Shishkina N.S., Gnatenko D.A., Zemskov A.M. et al. Immune diagnostics of septic complications in burns. *Uspekhi sovremennoy biologii*. 2015; 135 (6): 531-41. <http://iuran.ru/webcab/system/files/journalspdf/uspehi-sovremennoy-biologii/uspehi-sovremennoy-biologii-2015-t135-n-6/20156.pdf>. (in Russian)
6. Alekseev A.A. Modern methods in therapy of burn injuries. *Kombustiologiya*. 1999; 1. <http://combustiolog.ru/journal/sovremenny-e-metody-lecheniya-ozhogov-i-ozhogovoj-bolezni/>. (in Russian)
7. Yoon J., Kym D., Cho Y. S., Hur J., Yoon D. Advanced biomarker clustering analysis reveals mortality predictors in burn patients with sepsis. *Scientific Reports*. 2024; 14: 22784. DOI: 10.1038/s41598-024-74313-8.
8. Li A.T., Moussa Y.A., Gus E., Paul E., Yii E., Romero L., Padiglione A. et al. Biomarkers for the early diagnosis of sepsis in burns. *Annals of Surgery*. 2022; 275: 4: 652-62. DOI: 10.1097/SLA.00000000000005198.
9. Foessl I., Haudum C.W., Vidakovic I., Prassl R., Franz J., Mautner S.I. et al. MiRNAs as regulators of the early local response to burn Injuries. *Int. J. Mol. Sci.* 2021; 22: 17: 9209. DOI: 10.3390/ijms22179209.
10. Ho P.T.B., Clark I.M., Le L.T.T. MicroRNA-Based Diagnosis and Therapy. *Int. J. Mol. Sci.* 2022; 23: 7167. DOI: 10.3390/ijms2317167.
11. Korobkina E.A., Knyazeva M.S., Kil Yu.V., Titov S.E., Malek A.V. Comparative analysis of RT-qPCR based methodologies for microRNA detection. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2018; 63 (11): 722-8. DOI: 10.18821/0869-2084-2018-63-11-722-728. (in Russian)
12. Mironova O.Yu., Berdysheva M.V., Elfimova E.M. MicroRNA: a clinician's view of the state of the problem. Part 1. History of the issue. *Evraziyskiy kardiologicheskiy zhurnal*. 2023; (1): 100-7. DOI: 10.38109/2225-1685-2023-1-100-107. (in Russian)
13. Chen B., Li H., Zeng X., Yang P., Liu X., Zhao X. et al. Roles of microRNA on cancer cell metabolism. *Journal of Translational Medicine*. 2012; 10: 228. DOI: 10.1186/1479-5876-10-228.
14. Ivkin D.Yu., Lisitskiy D.S., Zakharov E.A., Lubishin M.M., Karpov A.A., Burkova N.V. et al. MicroRNA as perspective diagnostic and pharmacologic agents. *Astrakhanskiy meditsinskiy zhurnal*. <https://cyberleninka.ru/article/n/mikrornk-kak-perspektivnye-diagnosticheskie-i-farmakologicheskie-agenty>. (in Russian)
15. Dhuri K., Bechtold C., Quijano E., Pham H., Gupta A., Vikram A. et al. Antisense oligonucleotides: An emerging area in drug discovery and development. *J. Clin. Med.* 2020; 26: 9: 2004. DOI: 10.3390/jcm9062004.
16. Zemskov V.M., Neymann V., Zemskov A.M., Pronko K.N. Global role of low molecular weight nucleic acids in biological systems. *Global Journal of Medical Research*, 2020; 20 (2): 5-10.
17. Zemskov A.M., Zemskov V.M., Perederiy V.G. Modulating function of yeast RNA. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 1982; 9: 9. (in Russian)
18. Danilenko M.V., Zemskov V.M., Chugunov A.N., Pas'ko N.P., Kramskoy S.I., Golubchenko V.G. Correction of immunological disorders by sodium nucleinate in patient with atherosclerotic lesions of the arteries of the lower extremities. *Khirurgiya. Zhurnal imeni N.I. Pirogova*. 1991; 1(4): 108. (in Russian)
19. Condrat C.E., Thompson D.C., Barbu M.G., Bugnar O.L., Boboc A., Cretoiu D. et al. MiRNAs as biomarkers in disease: latest findings regarding their role in diagnosis and prognosis. *Cells*. 2020; 9: 276.
20. Solvin Å.Ø., Chawla K., Olsen L.C., Hegre S.A., Danielsen K., Jenssen M. et al. MicroRNA profiling of psoriatic skin identifies 11 miRNAs associated with disease severity. *Exp. Dermatol.* 2022 Apr; 31(4):535-47. DOI: 10.1111/exd.14497.
21. Srivastava A., Meisgen F., Pasquali L., Munkhammar S., Xia P., Stähle M. et al. Next-generation sequencing identifies the keratinocyte-specific miRNA signature of psoriasis. *J. Investig. Dermatol.* 2019; 139: 2547-50.e12.
22. Lerman G., Avivi C., Mardoukh C., Barzilai A., Tessone A., Gradus B. et al. MiRNA expression in psoriatic skin: Reciprocal regulation of hsa-miR-99a and IGF-1R. *PLoS ONE*. 2011; 6: e20916.
23. Suárez-Fariñas M., Ungar B., Correa Da Rosa J., Ewald D.A., Rozenblit M., Gonzalez J. et al. RNA sequencing atopic dermatitis transcriptome profiling provides insights into novel disease mechanisms with potential therapeutic implications. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2015; 135: 1218-27.
24. Polak M.E. Early life regulation of inflammation in atopic dermatitis by microRNA. *Br. J. Dermatol.* 2021; 184: 391-2.
25. Liu Y., Yang D., Xiao Z., Zhang M. MiRNA expression profiles in keloid tissue and corresponding normal skin tissue. *Aesthetic Plast. Surg.* 2012; 36: 193-201.
26. Liang P., Lv C., Jiang B., Long X., Zhang P., Zhang M. et al. MicroRNA profiling in denatured dermis of deep burn patients. *Burns*. 2012; 38: 534-40.
27. Singhvi G., Manchanda P., Krishna Rapalli V., Kumar Dubey S., Gupta G., Dua K. MicroRNAs as biological regulators in skin disorders. *Biomed. Pharmacother.* 2018; 108: 996-1004.
28. Mori M.A., Ludwig R.G., Garcia-Martin R., Brandão B.B., Kahn C.R. Extracellular miRNAs: from biomarkers to mediators of physiology and disease. *Cell Metab.* 2019; 30: 656-73.
29. Turchinovich A., Weiz L., Langheinz A., Burwinkel B. Characterization of extracellular circulating microRNA. *Nucleic Acids Res.* 2011; 39: 7223-33.
30. Miller P.R., Taylor R.M., Tran B.Q., Boyd G., Glaros T., Chavez V.H. et al. Extraction and biomolecular analysis of dermal interstitial fluid collected with hollow microneedles. *Commun. Biol.* 2018; 1: 173.
31. Bodenlenz M., Aigner B., Dragatini C., Liebenberger L., Zahiragic S., Höfferer C. et al. Clinical applicability of dOFM devices for dermal sampling. *Ski. Res. Technol.* 2013; 19: 474-83.
32. Terlecki-Zaniewicz L., Pils V., Bobbili M.R., Lämmermann I., Perrotta, I., Grilleberger T. et al. Extracellular vesicles in human skin: cross-talk from senescent fibroblasts to keratinocytes by miRNAs. *J. Investig. Dermatol.* 2019; 139: 2425-36.e5.
33. Barrett T., Wilhite S.E., Ledoux P., Evangelista C., Kim I.F., Tomašhevsky M. et al. NCBI GEO: Archive for functional genomics data sets - Update. *Nucleic Acids Res.* 2013; 41: D991-D995.
34. Li Z., Wang P., Zhang J., Zhao D. MicroRNA-497-5p downregulation inhibits cell viability, reduces extracellular matrix deposition and induces apoptosis in human hyperplastic scar fibroblasts by regulating Smad7. *Exp. Ther. Med.* 2021; 21: 1-8.
35. Finnerty C.C., Jeschke M.G., Branski L.K., Barret J.P., Dziewulski P., Herndon D.N. Hypertrophic scarring: The greatest unmet challenge after burn injury. *Lancet*. 2016; 388: 1427-36.
36. Chai L., Kang X.J., Sun Z.Z., Zeng M.F., Yu S.R., Ding Y. et al. MiR-497-5p, miR-195-5p and miR-455-3p function as tumor suppressors by targeting hTERT in melanoma A375 cells. *Cancer Manag. Res.* 2018; 10: 989-1003.
37. Huang C., Ma R., Yue J., Li N., Li Z., Qi D. MiR-497 suppresses YAP1 and inhibits tumor growth in non-small cell lung cancer. *Cell Physiol. Biochem.* 2015; 37: 342-52.
38. Yang G., Xiong G., Cao Z., Zheng S., You L., Zhang T. et al. MiR-497 expression, function and clinical application in cancer. *Oncotarget*. 2016; 7: 55900-11.
39. Wei W., Zhang W.Y., Bai J.B., Zhang H.X., Zhao Y.Y. et al. The NF-κB-modulated microRNAs miR-195 and miR-497 inhibit myoblast proliferation by targeting Igf1r, Insr and cyclin genes. *J. Cell Sci.* 2016; 129: 39-50.
40. Huang X., Wang L.E.I., Liu W.E.I., Li F.E.I. MicroRNA-497-5p inhibits proliferation and invasion of non-small cell lung cancer by regulating FGF2. *Oncol. Lett.* 2019; 17: 3425-31.
41. Jeong Kim Y., Jin Hwang S., Chan Bae Y., Sup Jung J. MiR-21 regulates adipogenic differentiation through the modulation of TGF-signaling in mesenchymal stem cells derived from human adipose tissue. *Stem Cells*. 2009; 27: 3093-3102.
42. Wang T., Feng Y., Sun H., Zhang L., Hao L., Shi C. et al. MiR-21 regulates skin wound healing by targeting multiple aspects of the healing process. *Am. J. Pathol.* 2012; 181: 1911-20.
43. Wu Y., Song Y., Xiong Y., Wang X., Xu K., Han B. et al. MicroRNA-21 (Mir-21) Promotes cell growth and invasion by repressing tumor sup-

- pressor PTEN in colorectal cancer. *Cell Physiol. Biochem.* 2017; 43: 945-58.
44. Ourô S., Mourato C., Velho S., Cardador A., Ferreira M.P., Albergaria D. et al. Potential of miR-21 to predict incomplete response to chemotherapy in rectal adenocarcinoma. *Front. Oncol.* 2020; 10: 1-13. DOI: 10.3389/fonc.2020.577653.
45. Zhao B., Chen Y., Yang N., Chen Q., Bao Z., Liu M. et al. MiR-218-5p regulates skin and hair follicle development through Wnt/β-catenin signaling pathway by targeting SFRP2. *J. Cell. Physiol.* 2019; 234: 20329-41.
46. Shi Z.M., Wang L., Shen H., Jiang C.F., Ge X., Li D.M. et al. Downregulation of miR-218 contributes to epithelial-mesenchymal transition and tumor metastasis in lung cancer by targeting Slug/ZEB2 signaling. *Oncogene.* 2017; 36: 2577-88.
47. Wang Y., Wang C. MicroRNA-211-3p has a role in the effects of lipopolysaccharide on endoplasmic reticulum stress in cultured human skin fibroblasts. *Med. Sci. Monit. Basic Res.* 2019; 25: 164-8.
48. Meng Z., Qiu J., Zhang H. MiR-221-3p as a potential biomarker for patients with psoriasis and its role in inflammatory responses in keratinocytes. *Skin. Pharmacol. Physiol.* 2021; 34(5):300-306. DOI: 10.1159/000515114.
49. Wilimink G.J., Roth C.L., Ibey B.L., Ketchum N., Bernhard J., Cerna C.Z. et al. Identification of microRNAs associated with hyperthermia-induced cellular stress response. *Cell Stress Chaperones.* 2010; 15: 1027-38.
50. Wilimink G.J., Roth C.L., Ibey B.L., Ketchum N., Bernhard J., Cerna C.Z. et al. Identification of microRNAs associated with hyperthermia-induced cellular stress response. *Cell Stress Chaperones.* 2010; 15: 1027-38.
51. Panshin D.D., Kondratov K.A. The efficiency of immunoprecipitation of microRNA/Ago2 complexes from human blood plasma is protocol dependent. *Molekulyarnaya biologiya.* 2020; 54(2): 244-51. (in Russian)
52. Vickers K.C., Palmisano B.T., Shoucri B.M., Shamburek R.D., Remal-
ey A.T. MicroRNAs are transported in plasma and delivered to recipient cells by high-density lipoproteins. *Nat. Cell Biol.* 2011; 13: 423-33.
53. Théry C. Exosomes: secreted vesicles and intercellular communications. *F1000 Biol. Rep.* 2011; 3: 15. DOI: 10.3410/B3-15.
54. Théry C., Zitvogel L., Amigorena S. Exosomes: composition, biogenesis and function. *Nat. Rev. Immunol.* 2002; 2: 569-79.
55. Weickmann J., Glitz D. Human ribonucleases. Quantitation of pancreatic-like enzymes in serum, urine, and organ preparations. *J. Biol. Chem.* 1982; 257: 8705-10.
56. Valadi H., Ekström K., Bossios A., Sjöstrand M., Lee J.J., Lötvall J.O. Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells. *Nat. Cell Biol.* 2007; 9: 654-9.
57. Morello M., Minciucchi V., De Candia P., Yang J., Posadas E., Kim H. et al. Large oncosomes mediate intercellular transfer of functional microRNA. *Cell Cycle.* 2013; 12: 3526-36.
58. Ibberson D., Benes V., Muckenthaler M.U., Castoldi M. RNA degradation compromises the reliability of microRNA expression profiling. *BMC biotechnology.* 2009; 9: 102.
59. Antonova O.S., Korneva N.A., Belov Yu.V., Kurochkin V.E. Methods of nucleic acids purification and separation in molecular biology (review). *Nauchnoe priborostroenie.* 2010; 20 (1): 3-9. (in Russian)
60. Helicon (2022). Available at: https://helicon.ru/media/inf_art/vydelenie-i-ochistka-nukleinovykh-kislot-kak-pravilno-vybrat-metod/ (accessed 26.07.2022).
61. Sudomoina M.A. Methods of nucleic acids quantification. https://sileks.com/assets/files/protocol_fo_kits/normalization_and_estimation_of_na_quality.pdf. (in Russian)
62. Soldatov R.A., Mironov A.A. Statistical methods of comparative genomic analysis based on diffusion processes. *Biofizika.* 2013; 58 (2):142-7. (in Russian)
63. Lastochkina O.V., Gorelov P.V. Biological microchips - a new level of laboratory research. *Analytika.* 2017; 36(5): 76-86. DOI: 10.22184/2227-572X.2017.36.5.76.86. (in Russian)

МИКРОБИОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2025



<https://elibrary.ru/prexoy>

Клименко Е.С., Белькова Н.Л., Смуррова Н.Е., Погодина А.В.,
Даренская М.А., Рычкова Л.В.

СОСТОЯНИЕ КИШЕЧНОЙ МИКРОБИОТЫ У ПОДРОСТКОВ С ОЖИРЕНИЕМ И НОРМАЛЬНОЙ МАССОЙ ТЕЛА

ФГБНУ Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека, 664003, Иркутск, РФ

Состав микробиоты кишечника здорового подростка разнообразен, но в большинстве случаев ещё не соответствует по своим характеристикам микробиоте взрослого человека. Различные внешнесредовые воздействия, такие как характер питания, метаболические особенности организма-хозяина, наличие или отсутствие у него острых или хронических заболеваний и т. п., могут вызывать ответные реакции со стороны состояния кишечной микробиоты. А функция микробиоты и ее состав способны влиять на состояние организма. Использование методов молекулярной биологии при анализе состава данного биотопа у различных групп обследованных, позволяет выявлять это разнообразие (в основном за счет некультивируемых микроорганизмов) и дифференцировать их отдельных представителей по функциональной, биохимической активности. Применив такой подход, можно получить информацию о структурно-видовом и функциональном составе микробиоты кишечника у подростков с различными видами соматических состояний, в том числе и при ожирении.

Цель исследования - изучение структурно-видового состава и частоты дисбиотических нарушений микроэкологического статуса кишечника с использованием технологии на основе полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (ПЦР-РВ) у подростков с ожирением и нормальной массой тела.

Материал и методы. В исследовании участвовали две группы подростков: подростки с нормальной массой тела ($n=47$) и с ожирением ($n=52$). В качестве материала для исследования использованы фекальные образцы, собранные в соответствии с правилами взятия, транспортировки, хранения биологического материала для ПЦР диагностики. Исследование ДНК фекального биоматериала проведено методом ПЦР-РВ на основании зарегистрированной методики.

Результаты и обсуждение. У подростков с нормальной массой тела и с ожирением выявлены достоверные различия в видовом и количественном составе нормобиоты. Наиболее существенные изменения зарегистрированы в отношении показателей бифидобактерий и кориобактерий, *Butyrimonas spp.* и *Akkermansia muciniphila*.

Заключение. По показателям патобиоты, определяемым по представленности условно-патогенных микроорганизмов и их факторов патогенности и вирулентности, не прослеживается существенных различий между подростками с нормальной массой тела и с ожирением.

Ключевые слова: кишечная микробиота; подростки; тест-система для оценки микробиоты толстого кишечника; ожирение; дисбиотические нарушения

Для цитирования: Клименко Е.С., Белькова Н.Л., Смуррова Н.Е., Погодина А.В., Даренская М.А., Рычкова Л.В. Состояние кишечной микробиоты у подростков с ожирением и нормальной массой тела. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2025; 70 (7): 496-504.

DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2025-70-7-496-504>

EDN: PREXOY

Для корреспонденции: Клименко Елизавета Станиславовна, мл. науч. сотр. группы биоинформатики и геномных исследований; e-mail: klimenko.elizabet@gmail.com

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» и УНУ «Коллекция микробиоты человека Иркутской области» ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ (Иркутск).

Поступила 17.03.2025

Принята к печати 03.06.2025

Опубликовано 25.06.2025

Klimenko E.S., Belkova N.L., Smurova N.E., Pogodina A.V., Darenkaya M.A., Rychkova L.V.

GUT MICROBIOTA STATUS IN ADOLESCENTS WITH OBESITY AND NORMAL WEIGHT

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

The composition of the intestinal microbiota of a healthy teenager is quite diverse, but in most cases, it does not yet correspond to the characteristics of the microbiota of an adult host. In addition, various environmental influences, such as the nature of nutrition, metabolic characteristics of the host organism, the presence or absence of acute or chronic diseases, etc., can cause responses from the state of the intestinal microbiota. The function of the microbiota and its composition can, in turn, affect the state of the macroorganism. The use of molecular biology methods in analyzing the composition of this biotope in various groups of subjects allows not only to identify such diversity (mainly due to uncultivated microorganisms), but also to differentiate their individual representatives by functional, biochemical activity. Using this approach, it is possible to obtain information on the structural-species and functional composition of the intestinal microbiota in adolescents with various types of somatic conditions, including obesity.

Aim. The aim of this study was to investigate the structural and species composition and frequency of dysbiotic disorders of the intestinal microecological status using real-time polymerase chain reaction (PCR) technology in obese and normal-weight adolescents.

Material and methods. The study involved two groups of adolescents: adolescents with normal body weight ($n=47$) and with obesity ($n=52$). Fecal samples collected in accordance with the rules for collecting, transporting, and storing biological material for PCR diagnostics were used as research material. The study of fecal biomaterial DNA was carried out using real-time PCR based on a registered technique. In adolescents with normal body weight and obesity, reliable differences in the qualitative and quantitative composition of normobiota were revealed.

Results and discussion. The most significant changes were recorded in relation to the indicators of bifidobacteria and coriobacteria, *Butyricimonas spp.*, and *Akkermansia muciniphila*.

Conclusion. According to the pathobiota indicators determined by the presence of opportunistic microorganisms and their pathogenicity and virulence factors, no significant differences were observed between adolescents with normal body weight and those with obesity.

Key words: gut microbiota; adolescents; test system for assessing the gut microbiota; obesity; dysbiosis

For citation: Klimenko E.S., Belkova N.L., Smurova N.E., Pogodina A.V., Darenetskaya M. A., Rychkova L.V. Gut microbiota status in adolescents with obesity and normal weight. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2025; 70 (7): 496-504 (in Russ.)

DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2025-70-7-496-504>

EDN: PREXOY

For correspondence: Klimenko Elizaveta Stanislavovna, junior researcher of the Genomics research and Bioinformatics analysis Group, e-mail: klimenko.elizabet@gmail.com

Information about authors:

Klimenko E.S., <https://orcid.org/0000-0003-0979-8816>;
Belkova N.L., <https://orcid.org/0000-0001-9720-068X>;
Smurova N.E., <https://orcid.org/0009-0004-3614-6631>;
Pogodina A.V., <https://orcid.org/0000-0001-8533-3119>;
Darenetskaya M.A., <https://orcid.org/0000-0003-3255-2013>;
Rychkova L.V., <https://orcid.org/0000-0002-0117-2563>.

Conflict of interests. The authors declare absence of 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 and the Scientific Research Institution "Human Microbiota Collection of the Irkutsk Region" of the Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, Irkutsk.

Received 17.03.2025

Accepted 03.06.2025

Published 25.06.2025

Введение. Биотоп кишечника человека населен множеством симбионтных микроорганизмов: бактериями, археями, вирусами, грибами. Микробиота кишечника выполняет ряд жизненно важных функций в организме человека: пищеварительная, защитная, синтетическая, детоксикационная, антиканцерогенная, иммуномодулирующая и др. [1, 2]. От разнообразия и численности микробиоты зависит не только функционирование желудочно-кишечного тракта, но и устойчивость к инфекциям, предотвращение инвазий патогенов, работа иммунной системы, метаболизм организма человека [3,4].

Видовой и количественный состав кишечной микробиоты формируется в первые дни и месяцы жизни ребенка. Причиной формирования дисбиотической микробиоты может быть раннее введение прикорма и переход на искусственное вскармливание [5-7].

Прослеживается связь между дисбиотическими нарушениями в период новорожденности и развитием ряда заболеваний в более старшем возрасте, с дальнейшей трансляцией во взрослую жизнь (атопические заболевания) [8, 9], нарушения обмена веществ [5], нервно-психические расстройства [10] и др.

Микробиота в течение жизни изменяется вместе со своим хозяином. К подростковому возрасту микробиота кишечника еще не похожа на микробиоту взрослого человека, она находится в «промежуточном» состоянии. В ряде исследований продемонстрирован сдвиг в сторону уменьшения общего количества аэробов и уве-

личения анаэробных видов [11], или наблюдается перераспределение в численности представителей таких филумов, как *Bacillota*, *Bacteroidota*, *Pseudomonadota*, *Actinomycetota* [12-14].

В настоящее время для определения состава кишечной микробиоты используется метод молекулярной биологии – ПЦР в режиме реального времени (ПЦР-РВ). С помощью ПЦР-РВ можно оценить метаболический и патогенный потенциал микрофлоры и получить информацию о структурно-видовом составе и дисбиотических нарушениях микробиоты кишечника у подростков с ожирением.

Ожирение является хроническим многофакторным гетерогенным заболеванием, развивающимся в результате дисбаланса потребления и расхода энергии и проявляющимся избыточным развитием жировой ткани. Данное заболевание несет для человека высокий кардиометаболический риск и различные осложнения (кардиоваскулярный, метаболический синдромы, неалкогольная жировая болезнь печени и др.) [15-17]. За его развитие отвечает совокупность генетических, средовых, социально-экономических, поведенческих и других факторов [18, 19]. Одним из таких факторов может быть состояние микробиоценоза кишечника. Взаимосвязь ожирения и микробиома посвящен ряд публикаций отечественных исследователей [20-23].

Цель исследования - изучить структурно-видовой состав и частоту дисбиотических нарушений микро-

биоты кишечника с использованием технологии на основе ПЦР-РВ у детей с ожирением и нормальной массой тела.

Материал и методы. В исследовании приняли участие подростки в возрасте 11–17 лет. Группы сформированы из числа подростков, проходивших обследование в Клинике ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ (Иркутск). Исследуемая выборка ($n=99$) разделена на две группы – подростки с нормальной массой тела (НМТ, $n=47$) и с ожирением (О, $n=52$). Критерии включения в исследование: наличие ожирения (SDS индекса массы тела (ИМТ)>2) или нормальной массы тела (SDS ИМТ>-2, но <1). Критерии исключения: антибактериальная терапия в течение предшествующих 3 месяцев, кишечные инфекции, перенесённые в течение предшествующих 6 месяцев; наличие хронических воспалительных заболеваний кишечника и/или другой тяжёлой соматической патологии, лечение пре- и/или пробиотиками в течение предшествующих 6 месяцев. При работе с лицами, участвующими в исследовании, соблюдались этические принципы, предъявляемые Хельсинкской декларацией ВМА (ред. 2013 г.) и приказом Минздрава РФ от 01.04.2016 г. № 200н «Об утверждении Правил надлежащей клинической практики». Исследование одобрено комитетом по биомедицинской этике ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ (Протокол № 6 от 21.12.2015 г.) и выполнено с информированного согласия подростков старше 15 лет или родителей/законных представителей детей младше 15 лет.

Сбор фекального биоматериала от пациентов и его обработку выполняли согласно операционным процедурам, описанным ранее [6]. ДНК из биоматериала выделяли различными коммерческими наборами по протоколам производителей. По протоколам производителей определяли количество выделенной ДНК. В

работу брали образцы с концентрацией ДНК>4 нг/мкл. Исследование проведено методом ПЦР-РВ с использованием предназначенной для этих целей зарегистрированной тест-системы. Количественные показатели, отражающие содержание микроорганизмов в кишечной микробиоте, выражали в десятичных логарифмах геном/эквивалентов в 1 грамме кала nlg (ГЭ/г).

Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета «stats» версии 4.4.2 для языка программирования R-4.4.2 и электронных таблиц Excel. Нормальность распределения количественных признаков определена с помощью теста Колмогорова-Смирнова и визуальной оценки графиков. Количественные показатели, не имеющие нормального распределения, представлены в виде медианы (Me) и квартильных значений (25 и 75%). Для статистических расчетов на данном этапе работы применены непараметрический U-критерий Манна-Уитни) и критерий χ^2 (хи-квадрат). В качестве допустимого уровня значимости p -value брали 0,05.

Результаты. Проведено сравнительное изучение частоты выявления представителей микробиоты кишечника у подростков с нормальной массой тела и ожирением. Полученные результаты ПЦР-скрининга разделены на три блока – актинобактерии, остальная нормобиота и условно-патогенные микроорганизмы (УПМ).

Филум *Actinomycetota* в исследуемой выборке представлен бифидобактериями и кориобактериями (рис. 1). Поскольку выборка пациентов сформирована из числа подростков, то число метаболически активных «детских» видов закономерно ниже, чем число «взрослых» видов. Имелись пациенты, в кишечных микробиомах которых определялось еще меньшее число бифидобактерий, чем в среднем по выборке.

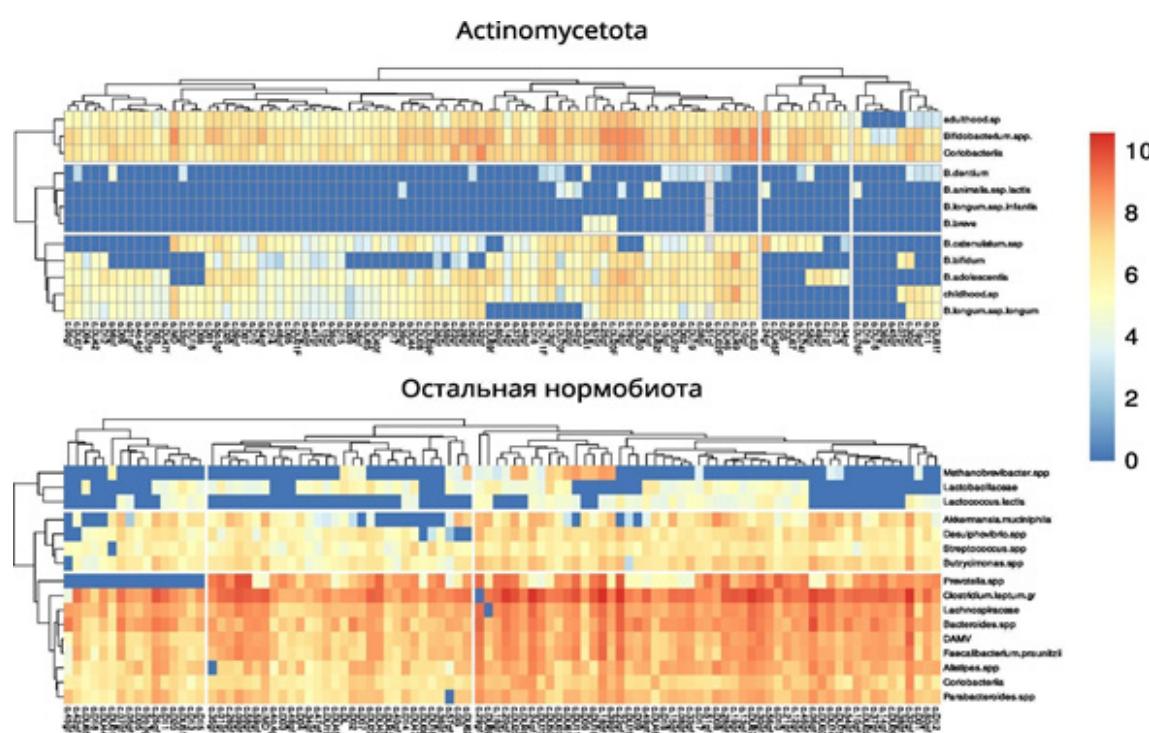


Рис. 1. Термальная карта численности представителей филума *Actinomycetota* и остальных представителей нормобиоты человека. Численность нормализована по log10. Данные кластеризованы по метрике дистанции Брея-Кертиса.

Количественные показатели кишечной микробиоты в группах наблюдения (Ме [Q₁; Q₃])

Показатель	Нормальная масса тела, Lg (ГЭ/г кала)	Ожирение, Lg (ГЭ/г кала)	p-value wilcox. test	Референсные значения, Lg (ГЭ/г кала)
Общее количество бактерий	9,7 [9; 10,15]	9,7 [9,175; 9,9]	0,293	>6
Нормальная микробиота	9,4 [8,95; 9,95]	9,3 [9; 9,6]	0,178	8-10,2
<i>Actinomycetota</i> (<i>Actinobacteria</i>)				
<i>Bifidobacterium</i> spp.	7,4 [6,85; 8,15]	7,05 [6,175; 7,6]	0,006*	4-9
Метаболически активные виды <i>Bifidobacterium</i> , доля				
Метаболически активные "детские" виды	5,7 [4,8; 6,6]	4,95 [4,175; 5,825]	0,011*	4,4-6,5
<i>B. longum</i> subsp. <i>infantis</i>	0	0	-	
<i>B. longum</i> subsp. <i>longum</i>	5,3 [2; 6,2]	4,1 [0; 4,95]	0,004*	
<i>B. bifidum</i>	4,4 [0; 6,05]	1,25 [0; 5,325]	0,061*	
<i>B. breve</i>	0	0	-	
Метаболически активные "взрослые" виды	6,4 [5,5; 7,1]	5,9 [5,25; 6,6]	0,039*	6,7-7,6
<i>B. adolescentis</i>	6,1 [5,05; 6,9]	5,4 [4,275; 6,325]	0,035*	
<i>B. catenulatum</i> subssp.	5,3 [0; 5,95]	3,9 [0; 5,55]	0,362	
<i>B. animalis</i> subssp. <i>lactis</i>	0	0	0,228	
<i>B. dentium</i>	0 [0; 1,1]	0 [0; 0]	0,425	
<i>Coriobacteriia</i>	7,1 [6,6; 7,85]	6,8 [6,4; 7,2]	0,027*	6,5-8,8
<i>Bacillota</i> (Firmicutes)				
<i>Clostridium leptum</i> gr.	9,2 [8,45; 9,7]	8,75 [8,5; 9,4]	0,11	6,5-10
<i>Dialister-Allisonella-Megasphaera-Veillonella</i>	7,8 [7,15; 8,3]	7,7 [7,2; 8,1]	0,254	6-8,7
<i>Faecalibacterium prauunitzii</i>	8 [7,15; 8,45]	7,6 [7,1; 8,2]	0,085	0-8,8
<i>Lachnospiraceae</i>	8,2 [7,62; 8,7]	8,1 [7,7; 8,4]	0,198	7,5-10
<i>Lactobacillaceae</i>	4,2 [0; 4,85]	4,25 [0; 5,4]	0,561	0-8,8
<i>Streptococcus</i> spp.	6 [5,5; 6,5]	5,8 [5,4; 6,4]	0,228	5,5-8,6
<i>Lactococcus lactis</i>	0 [0; 4,6]	0 [0; 4,425]	0,435	0-8
<i>Bacteroidota</i> (Bacteroidetes)				
<i>Alistipes</i> spp.	7,7 [7,2; 8,1]	7,6 [6,75; 8]	0,174	6-8,2
<i>Bacteroides</i> spp.	8,1 [7,65; 8,7]	8,15 [7,575; 8,6]	0,586	7-8,9
<i>Butyrimonas</i> spp.	6,8 [6,551; 7,4]	6,4 [5,6; 6,95]	0,017*	5-7
<i>Parabacteroides</i> spp.	7,6 [7,05; 7,85]	7,5 [6,975; 7,8]	0,199	5,7-8,3
<i>Prevotella</i> spp.	7,6 [4,9; 8,8]	8,1 [4,925; 8,625]	0,798	0-9
Другие				
<i>Akkermansia muciniphila</i>	6,5 [5; 7,7]	5,4 [3,65; 6,95]	0,048*	0-8,5
<i>Desulphovibrio</i> spp.	6,5 [5,9; 7,2]	6,3 [5,2; 6,8]	0,054	0-7
<i>Methanobrevibacter</i> spp.	0 [0; 3,9]	0 [0; 0]	0,162	0-8
Разнообразие, количество таксонов	15 [14; 16]	15 [14; 16]	0,268	>=10
Соотношение F/B	2,9 [1,6; 5,85]	2,2 [0,7; 4,725]	0,25	>=1,5
УПМ	7,1 [6,5; 7,5]	7 [6,6; 7,425]	0,322	5,9-8,5
<i>Clostridium difficile</i> gr.	6 [5,4; 6,3]	6 [5,475; 6,5]	0,699	4,7-7
<i>Clostridium perfringens</i> gr.	4,6 [0-5,8]	4,1 [0; 5,4]	0,164	0-6
<i>Enterobacteriales</i>	6,2 [5,8; 6,75]	6,3 [5,775; 6,925]	0,844	6-8,5
<i>E. coli</i>	6,1 [5,75; 6,75]	6 [5,3; 6,8]	0,384	5,5-8,2
<i>Enterococcus</i> spp.	4,8 [0; 5,55]	4,9 [4,3; 5,325]	0,913	0-7
<i>Erysipelotrichaceae</i>	6,4 [5,4; 7,05]	6,3 [5,4; 6,625]	0,26	5,7-7,5
<i>Fusobacteriaceae</i>	0	0	0,722	0-6,5
<i>Peptoniphilaceae</i>	4,6 [0; 5,2]	4,3 [0; 5,1]	0,254	0-6
<i>Pseudomonas</i> spp.	4,3 [0; 4,95]	0 [0; 4,4]	0,003*	0-5,5
<i>Staphylococcus</i> spp.	0 [0; 4,35]	0 [0; 3,825]	0,121	0-5,5
Маркеры патогенности и резистентности				
<i>Clostridioides difficile</i>	0	0	-	0
<i>tcdA, tcdB</i>	0	0	-	
<i>Staphylococcus aureus</i>	0 [0; 4,25]	0 [0; 0]	0,158	0-4,5
<i>mecA</i>	0	0	0,758	
<i>Streptococcus agalactiae</i>	0	0	0,261	0-4,4
<i>srr2</i>	0	0	0,943	
Дрожжевые грибы				
<i>Candida</i> spp.	5,4 [4,75; 5,95]	5,5 [4,8; 6]	0,674	0-6,5
<i>C. albicans</i>	0	0	-	0

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

По результатам сравнения показано, что исследуемые группы достоверно различаются по следующим показателям: *Bifidobacterium* spp., *B. longum* subsp. *longum*, *B. adolescentis* и *Coriobacteriia* (см.

таблицу). У пациентов с ожирением для данных бактериальных таксонов отмечается значимо меньший титр, чем для подростков с нормальной массой тела.

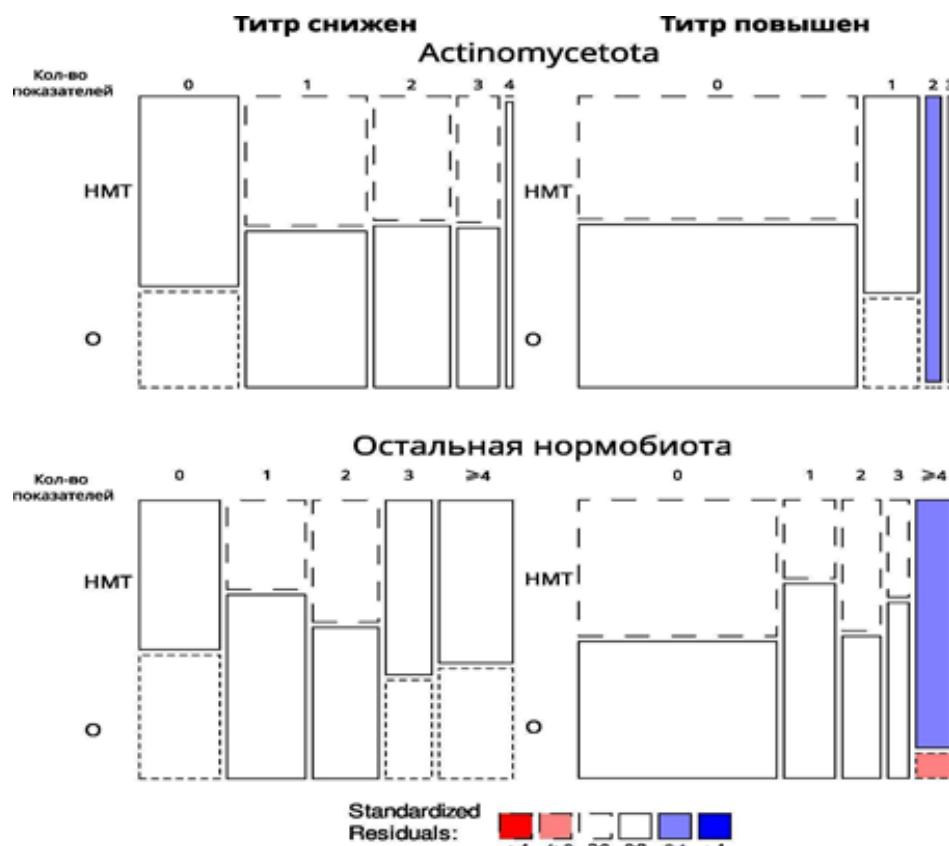


Рис. 2. Доли пациентов с разным количеством отклонений титра нормобиоты от референсных значений.

Частота детекции отклонений от референсных значений титра актинобактерий имеет групповые различия (рис. 2). Сниженный титр одного или нескольких показателей чаще определялся у подростков с ожирением ($X^2=11.881$, $p\text{-value}=0.01826$), а избыточные значения - у подростков с нормальной массой тела ($X^2=18.178$, $p\text{-value}=0.0004042$).

К остальным представителям нормобиоты отнесены *Bacillota*, *Bacteroidota*, *Akkermansia muciniphila*, *Desulphovibrio* spp., *Methanobrevibacter* spp. Исследуемую нормобиоту можно разделить на три кластера (см. рис. 1): с высокой численностью (10^6 - 10^{10}), имеющую численность 10^4 - 10^6 (*A. muciniphila*, *Desulphovibrio* spp., *Streptococcus* spp., *Butrycimonas* spp.), и микробиоту с низкой численностью или присутствующую в единичных образцах (*Methanobrevibacter* spp., сем. *Lactobacillaceae*, *Lactococcus lactis*).

Среди пациентов выделялась группа, у которых *Prevotella* spp. отличалась сниженной численностью на фоне общей распространенности данного таксона.

Согласно нашим данным, наблюдается достоверное различие в частоте выявления представителей *Butrycimonas* spp. и *A. muciniphila*, в группе пациентов с ожирением эти таксоны детектируются с меньшим титром, чем в группе с нормальной массой тела ($p\text{-value}$

0,017 и 0,048 соответственно) (см. таблицу).

Учет отклонений от референсного интервала значений титра нормобиоты показал, что группы подростков с ожирением и с нормальной массой тела достоверно различаются (см. рис. 2). В нормобиоте у подростков с ожирением, в целом, чаще регистрировались отклонения от референсных значений титра для какого-то одного показателя ($X^2=10.015$, $p\text{-value}=0.04017$). Но отклонения 4-х и более показателей встречались значительно реже, чем в группе с нормальной массой тела ($X^2=20.496$, $p\text{-value}=0.0003985$).

Спектр детектируемых УПМ кишечника подростков представлен грамотрицательными палочками, грамположительными кокками и палочками, грибами рода *Candida*.

Наиболее часто у подростков с ожирением в титре, превышающем референсные значения, определены представители *Candida* spp. (6 пациентов). У подростков с нормальной массой тела наиболее часто обнаружены *Clostridium perfringens* group (8 пациентов), *Clostridium difficile* group, *Erysipelotrihaceae*, *Staphylococcus aureus* (6 пациентов).

Наблюдалось достоверное различие в медианном титре по выборке пациентов для *Pseudomonas* spp.: в группе с нормальной массой тела этот таксон детекти-

руется с более высоким значением титра (*p*-value 0,03), чем в группе с ожирением (см. таблицу).

Ген резистентности *Staphylococcus aureus* к цефалоспоринам *tesA* детектирован в единичных образцах (группа с нормальной массой тела - 3; группа с ожирением - 4). В единичных образцах присутствовал патогенный *Streptococcus agalactiae* (группа с нормальной массой тела - 1, группа с ожирением - 1). Маркерные гены патогенности и вирулентности *Clostridioides difficile*, и гены энтеротоксинов *tcdAB* не были обнаружены ни у одного пациента.

Обсуждение. Результаты исследования выявили отличительные особенности микробиома кишечника при подростковом ожирении. Изменения в составе микробиоты кишечника у детей с ожирением определены как традиционными методами культивирования [24, 25], так и для не культивируемых обычными методами микроорганизмов [4, 6, 13].

По данным литературы, при ожирении в микробиоме кишечника отмечается снижение титра *Bifidobacterium* [26-28]. Род *Bifidobacterium* оказывает благотворное влияние на здоровье хозяина за счет усиления барьерной функции кишечника, модуляции иммунных реакций и ингибиции патогенных бактерий [29]. Повышенный уровень короткоцепочечных жирных кислот (КЖК), обусловленный бифидобактериями, может способствовать увеличению получения энергии из рациона и влиять на пути, связанные с облегчением гликолиза и расхода энергии [30]. Возможно, что это может иметь опосредованное влияние на развитие ожирения у подростков.

У пациентов с ожирением и перееданием в микробиоме кишечника отмечается сниженное количество *A. muciniphila* в сравнении с просто ожирением [31]. *Akkermansia* вырабатывает КЖК, такие как пропионат и ацетат, способствующие регуляции иммунитета, воспаления, кишечных пептидов, участвующих в пищевом поведении хозяина [32]. Сниженный уровень *Akkermansia* связывается авторами с ухудшением метаболического профиля.

Значительное снижение численности *A. muciniphila* может указывать на недостаток муцина в эпителиальном слое и снижение синтеза муцина в кишечнике хозяина, что может привести к изменению проницаемости кишечника [33]. А повышение численности, напротив, усиливает барьерную функцию кишечника, уменьшает воспаление, улучшает чувствительность к инсулину и снижает ожирение, как в доклинических, так и в клинических условиях без изменения приема пищи [34, 35]. В нашем исследовании снижение *Akkermansia* может быть связано как с ухудшением метаболического профиля, так и с изменениями в пищевом поведении.

Соотношение *Firmicutes/Bacteroidetes* (F/B) считалось биомаркером ожирения [36], однако на сегодняшний день имеются противоречивые данные. В ряде исследований сообщается о положительной корреляции между соотношением F/B и значениями ИМТ [37], в других, как в нашей работе, не обнаружено никакой взаимосвязи или показана противоположная тенденция [38, 39].

В нашем исследовании не удалось найти закономерностей в представленности УПМ и их факторов патогенности. Спектр УПМ, присутствующий у детей с ожирением, представлен в литературе следующим

образом. Отмечено снижение численности некоторых УПМ (*Candida albicans*, *Streptococcus salivarius*) и увеличение для *Enterococcus avium* при ожирении, ассоциированном с некоторыми метаболическими заболеваниями [26]. Конкретные микробные сигнатуры, связанные с диагностикой ожирения, до сих пор не выявлены, но в некоторых источниках описывается увеличение количества УПМ, таких как бактерии, производящие водород, и бактерий, выделяющих липополисахариды (семейства *Prevotellaceae*, *Coriobacteriaceae*, *Erysipelotrichaceae* и *Alcaligenaceae*; роды *Roseburia*, *Fusobacterium*, *Escherichia-Shigella*, *Pseudomonas*, *Campylobacter*; *Eubacterium dolichum*, *Staphylococcus aureus*) [40-42].

Заключение. С помощью ПЦР-скрининга проведен анализ видового и количественного состава микробиоты кишечника у пациентов подросткового возраста. По показателям патобиоты, среди которых молекулярная детекция позволяет определить не только видовые и количественные характеристики УПМ, но и некоторые факторы их патогенности, закономерностей в различиях у подростков с нормальной массой тела и с ожирением не прослеживалось. Отклонения от нормы среди представленности УПМ являются стохастическими. Проанализировав детектируемый тест-системой состав нормобиоты, мы получили достоверное уменьшение численности таких представителей, как бифидобактерии и кориобактерии филума *Actinomycetota*, *Butyrimonas* spp. и *A. muciniphila* у подростков с ожирением. Такие изменения в микробиоме кишечника потенциально могут привести к ухудшению барьерной функции кишечника, возникновению метаболических нарушений и воспалительным процессам.

Ключевым изменением у подростков при ожирении является дисбактериоз кишечника, ассоциированный с отклонениями нормобиоты.

ЛИТЕРАТУРА

1. Kozhevnikov A.A., Raskina K.V., Martynova E.Yu., Tyakht A.V., Perfiliev A.V., Drapkina O.M. et al. Intestinal microbiota: modern concepts of the species composition, functions and diagnostic techniques. *RMJ*. 2017; 17: 1244-7.
2. Вольнец Г.В., Никитин А.В., Скворцова Т.А. Кишечный микробиом и современные методы его исследования у детей. *Российский вестник перинатологии и педиатрии*. 2022; 67(4): 5-13. DOI:10.21508/1027-4065-2022-67-4-5-13.
3. Zaneveld J.R., McMinds R., Vega Thurber R. Stress and stability: applying the Anna Karenina principle to animal microbiomes. *Nat. Microbiol.* 2017; 2: 17121. DOI: 10.1038/nmicrobiol.2017.121.
4. Стерликова С.С., Юхименко Н.В., Губкина М.Ф., Каюкова С.И. Состояние кишечной микробиоты у детей, больных туберкулезом органов дыхания. *Вестник Центрального научно-исследовательского института туберкулеза*. 2024; S1: 82-96. DOI: 10.57014/2587-6678-2024-0-1-82-96.
5. Bergström A., Skov T.H., Bahl M.I., Roager H.M., Christensen L.B., Ejlerskov K.T. et al. Establishment of intestinal microbiota during early life: a longitudinal, explorative study of a large cohort of Danish infants. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2014; 80(9): 2889-900. DOI: 10.1128/AEM.00342-14.
6. Belkova N.L., Nemchenko U.M., Pogodina A.V., Feranchuk S.I., Romanitsa A.I., Novikova E.A. et al. Composition and structure of gut microbiome in adolescents with obesity and different breastfeeding duration. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2019; 167(6): 759-62. DOI: 10.1007/s10517-019-04617-7.
7. Eribo O.A., du Plessis N., Ozturk M., Guler R., Walzl G., Chegou

- N.N. The gut microbiome in tuberculosis susceptibility and treatment response: guilty or not guilty? *Cellular and Molecular Life Sciences*. 2020; 77(8): 1497-1509. DOI: 10.1007/s00018-019-03370-4.
8. Fujimura K.E., Lynch S.V. Microbiota in allergy and asthma and the emerging relationship with the gut microbiome. *Microbe hôte cellulaire*. 2015; 17: 592-602. DOI: 10.1016/j.chom.2015.04.007.
 9. Hufnagl K., Pali-Schöll I., Roth-Walter F., Jensen-Jarolim E. Dysbiosis of the gut and lung microbiome has a role in asthma. *Semin. Immunopathol.* 2020; 42(1): 75-93. DOI: 10.1007/s00281-019-00775-y.
 10. Mou Y., Du Y., Zhou L., Yue J., Hu X., Liu Y. et al. Gut microbiota interact with the brain through systemic chronic inflammation: implications on neuroinflammation, neurodegeneration, and aging. *Front. Immunol.* 2022; 13: 796288. DOI: 10.3389/fimmu.2022.796288.
 11. Ronan V., Yeasin R., Claud E.C. Childhood development and the microbiome—the intestinal microbiota in maintenance of health and development of disease during childhood development. *Gastroenterology*. 2021; 160(2): 495-506. DOI: 10.1053/j.gastro.2020.08.065.
 12. Hou Y.P., He Q.Q., Ouyang H.M., Peng H.S., Wang Q., Li J. et al. Human gut microbiota associated with obesity in Chinese children and adolescents. *Biomed. Res. Int.* 2017; 2017: ID 7585989. DOI: 10.1155/2017/7585989.
 13. Клименко Е.С., Погодина А.В., Рычкова Л.В. Белькова Н.Л. Возможность таксономической идентификации бифидобактерий на основании различных вариабельных районов гена 16S рРНК. *Генетика*. 2020; 56(8): 904-14. DOI: 10.31857/S001667582008007X.
 14. Cho K.Y. Association of gut microbiota with obesity in children and adolescents. *Clin. Exp. Pediatr.* 2023; 66(4): 148-54. DOI: 10.3345/sep.2021.01837.
 15. Колесникова Л.И., Даренская М.А., Рычкова Л.В., Гребенкина Л.А., Семенова Н.В., Колесников С.И. Состояние липидного обмена и антиоксидантный статус при экзогенно-конституциональном ожирении у девушки Бурятии. *Российский вестник перинатологии и педиатрии*. 2021; 66(1): 80-6. DOI: 10.21508/1027-4065-2021-66-1-80-86.
 16. Погодина А.А., Романица А.И., Рычкова Л.В. Ожирение и функциональные заболевания кишечника: существует ли связь? *Ожирение и метаболизм*. 2021; 18(2): 132-41. DOI: 10.14341/ojet12706.
 17. Даренская М.А., Рычкова Л.В., Колесников С.И., Семенова Н.В., Никитина О.А., Бричагина А.С. и др. Определение наиболее информативных показателей биохимического статуса у юношей различной этнической принадлежности с ожирением с помощью дискриминантного анализа. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2022; 173(4): 468-73. DOI: 10.47056/0365-9615-2022-173-4-468-473.
 18. Darenetskaya M.A., Gavrilova O.A., Rychkova L.V., Kravtsova O.V., Grebenkina L.A., Osipova E.V. et al. The assessment of oxidative stress intensity in adolescents with obesity by the integral index. *IJBM*. 2018; 8(1): 37-41. DOI: 10.21103/Article8(1)_OA5.
 19. Darenetskaya 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 Mol. Sci.* 2021; 8(2): 117-26. DOI: 10.3934/molsci.2021009.
 20. Новикова Е.А., Баирова Т.А. Питание и кишечная микробиота при ожирении: региональные и этнические аспекты (обзор литературы). *Acta Biomedica Scientifica*. 2019; 4(1): 19-25. DOI: 10.29413/ABS.2019-4.1.3.
 21. Волкова Н.И., Набока Ю.Л., Ганенко Л.А., Оксенюк О.С. Особенность микробиоты толстой кишки у пациентов с разными фенотипами ожирения (пилотное исследование). *Медицинский вестник Юга России*. 2020; 11 (2): 38-45. DOI: 10.21886/2219-8075-2020-11-2-38-45.
 22. Котрова А.Д., Шишкин А.Н., Воропаева Л.С., Лавренова Н.С., Слепых Л.А., Лукашенко М.В. и др. Гендерная оценка микробиома кишечника у больных с ожирением. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. 2021; (10): 91-9. DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-194-10-91-99.
 23. Самойлова Ю.Г., Олейник О.А., Саган Е.В., Ворожцова И.Н., Филиппова Т.А., Денисов Н.С. и др. Состав и метаболическая активность микробиоты пищеварительной системы у детей и подростков с ожирением. *Сибирский журнал клинической и экспериментальной медицины*. 2020; 35 (3): 38-46. DOI: 10.29001/2073-8552-2020-35-3-38-46.
 24. Отдушкина Л. Ю., Миронов А. Ю., Марковская А. А., Самоделкина Е. В., Захарова Ю.В., Афанасьев, С.С. и др. Особенности кишечной микробиоты у впервые выявленных больных туберкулезом лёгких с ВИЧ-инфекцией. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2025; 70 (1): 52-8. DOI: 10.51620/0869-2084-2025-70-1-52-58.
 25. Петрова О.А., Червинац В.М., Червинац Ю.В., Михайлова Е.С., Григорьянц Э.О., Леонтьева А.В. и др. Формирование кишечной микробиоты недоношенных новорожденных детей, получавших и не получавших курс антибиотиков и пробиотиков. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2023; 68 (6): 365-70. DOI: 10.51620/0869-2084-2023-68-6-365-370.
 26. Скворцова О.В., Мигачева Н.Б., Лямин А.В., Михайлова Е.Г., Каюмов К.А., Алексеев Д.В. Особенности состава кишечной микробиоты у детей с ожирением в зависимости от наличия или отсутствия метаболических осложнений. *Медицинский совет*. 2024; 18(19): 245-53. DOI: 10.21518/ms2024-371.
 27. Wang L., Yi Q., Xu H., Liu H., Tan B., Deng H. et al. Alterations in the gut microbiota community are associated with childhood obesity and precocious puberty. *BMC Microbiol.* 2024; 24(1): 311. DOI: 10.1186/s12866-024-03461-8.
 28. Liang C., Zhang L.W. Profiling the gut microbiota in obese children with formula feeding in early life and selecting strains against obesity. *Foods*. 2024; 13(9): 1379. DOI: 10.3390/foods13091379.
 29. Sadeghpour Heravi F., Hu H. *Bifidobacterium*: host-microbiome interaction and mechanism of action in preventing common gut-microbiota-associated complications in preterm infants: a narrative review. *Nutrients*. 2023; 15(3): 709. DOI: 10.3390/nu15030709.
 30. Kang A., Kwak M.-J., Lee D.J., Lee J.J., Kim M.K., Song M. et al. Dietary supplementation with probiotics promotes weight loss by reshaping the gut microbiome and energy metabolism in obese dogs. *Microbiol. Spectr.* 2024; 12(3): e0255223. DOI: 10.1128/spectrum.02552-23.
 31. Leyrolle Q., Cserjesi R., Mulders M.D.G.H., Zamariola G., Hiel S., Gianfrancesco M. et al. Specific gut microbial, biological, and psychiatric profiling related to binge eating disorders: A cross-sectional study in obese patients. *Clin. Nutr.* 2021; 40(4): 2035-44. DOI: 10.1016/j.clnu.2020.09.025.
 32. Rastelli M., Cani P.D., Knauf C. The gut microbiome influences host endocrine functions. *Endocr. Rev.* 2019; 40(5): 1271-84. DOI: 10.1210/er.2018-00280.
 33. Willers M., Ulas T., Völlger L., Vogl T., Heinemann A.S., Pirr S. et al. S100A8 and S100A9 are important for postnatal development of gut microbiota and immune system in mice and infants. *Gastroenterology*. 2020; 159(6): 2130-2145.e5. DOI: 10.1053/j.gastro.2020.08.019.
 34. Plovier H., Everard A., Druart C., Depommier C., Van Hul M., Geurts L. et al. A purified membrane protein from *Akkermansia muciniphila* or the pasteurized bacterium improves metabolism in obese and diabetic mice. *Nat. Med.* 2017; 23(1): 107-13. DOI: 10.1038/nm.4236.
 35. Depommier C., Everard A., Druart C., Plovier H., Van Hul M., Vieira-Silva S. et al. Supplementation with *Akkermansia muciniphila* in overweight and obese human volunteers: a proof-of-concept exploratory study. *Nat. Med.* 2019; 25(7): 1096-1103. DOI: 10.1038/s41591-019-0495-2.
 36. Ley R.E., Turnbaugh P.J., Klein S., Gordon J.I. Microbial ecology: human gut microbes associated with obesity. *Nature*. 2006; 444 (7122): 1022-3. DOI: 10.1038/4441022a.
 37. Magne F., Gotteland M., Gauthier L., Zazueta A., Pesoa S., Navarrete P. et al. The firmicutes/bacteroidetes ratio: a relevant marker of gut dysbiosis in obese patients? *Nutrients*. 2020; 12(5): 1474. DOI: 10.3390/nut12051474.
 38. Tims S., Derom C., Jonkers D.M., Vlietinck R., Saris W.H., Kleerebezem M. et al. Microbiota conservation and BMI signatures in adult monozygotic twins. *ISME J.* 2013; 7(4): 707-17. DOI: 10.1038/ismej.2012.146.
 39. Squillario M., Bonaretti C., La Valle A., Di Marco E., Piccolo G., Minuto N. et al. Gut-microbiota in children and adolescents with obesity: inferred functional analysis and machine-learning algorithms to classify microorganisms. *Sci. Rep.* 2023; 13(1): 11294. DOI: 10.1038/s41598-023-36533-2.
 40. Cunningham A.L., Stephens J.W., Harris D.A. A review on gut microbiota: a central factor in the pathophysiology of obesity. *Lipids Health Dis.* 2021; 20(1): 65. DOI: 10.1186/s12944-021-01491-z.
 41. Van Hul M., Cani P.D. The gut microbiota in obesity and weight management: microbes as friends or foe? *Nat. Rev. Endocrinol.* 2023; 19

- (5): 258-71. DOI: 10.1038/s41574-022-00794-0.
42. Sasidharan Pillai S., Gagnon C.A., Foster C., Ashraf A.P. Exploring the gut microbiota: key insights into its role in obesity, metabolic syndrome, and type 2 diabetes. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2024; 109(11): 2709-19. DOI: 10.1210/clinem/dgae499.

REF E R E N C E S

1. Kozhevnikov A.A., Raskina K.V., Martynova E.Yu., Tyakht A.V., Perfiliev A.V., Drapkina O.M. et al. Intestinal microbiota: modern concepts of the species composition, functions and diagnostic techniques. *RMJ.* 2017; 17: 1244-7.
2. Volynets G.V., Nikitin A.V., Skvortsova T.A. Intestinal microbiome and modern methods of its study in children. *Rossiyskiy Vestnik Perinatologii i Pediatrii.* 2022; 67 (4): 5-13. DOI: 10.21508/1027-4065-2022-67-4-5-13. (in Russian)
3. Zaneveld J.R., McMinds R., Vega Thurber R. Stress and stability: applying the Anna Karenina principle to animal microbiomes. *Nat. Microbiol.* 2017; 2:17121. DOI: 10.1038/nm microbiol.2017.121
4. Sterlikova S.S., Yukhimenko N.V., Gubkina M.F., Kayukova S.I. Gut microbiota in children with pulmonary TB. *Vestnik Tsentral'nogo nauchno-issledovatel'skogo instituta tuberkuleza.* 2024; S1: 82-96. DOI: 10.57014/2587-6678-2024-0-1-82-96. (in Russian)
5. Bergström A., Skov T.H., Bahl M.I., Roager H.M., Christensen L.B., Ejlerskov K.T. et al. Establishment of intestinal microbiota during early life: a longitudinal, explorative study of a large cohort of Danish infants. *Appl. Environ. Microbiol.* 2014; 80(9): 2889-2900. DOI: 10.1128/AEM.00342-14.
6. Belkova N.L., Nemchenko U.M., Pogodina A.V., Feranchuk S.I., Romanitsa A.I., Novikova E.A. et al. Composition and structure of gut microbiome in adolescents with obesity and different breastfeeding duration. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2019; 167(6): 759-62. DOI: 10.1007/s10517-019-04617-7.
7. Eribo O.A., du Plessis N., Ozturk M., Guler R., Walzl G., Chegou N.N. The gut microbiome in tuberculosis susceptibility and treatment response: guilty or not guilty? *Cellular and Molecular Life Sciences.* 2020; 77(8): 1497-1509. DOI: 10.1007/s00018-019-03370-4.
8. Fujimura K.E., Lynch S.V. Microbiota in allergy and asthma and the emerging relationship with the gut microbiome. *Microbe hôte cellulaire.* 2015; 17: 592-602. DOI: 10.1016/j.chom.2015.04.007.
9. Hufnagl K., Pali-Schöll I., Roth-Walter F., Jensen-Jarolim E. Dysbiosis of the gut and lung microbiome has a role in asthma. *Semin. Immunopathol.* 2020; 42(1): 75-93. DOI: 10.1007/s00281-019-00775-y.
10. Mou Y., Du Y., Zhou L., Yue J., Hu X., Liu Y. et al. Gut microbiota interact with the brain through systemic chronic inflammation: implications on neuroinflammation, neurodegeneration, and aging. *Front. Immunol.* 2022; 13: 796288. DOI: 10.3389/fimmu.2022.796288.
11. Ronan V., Yeasin R., Claud E.C. Childhood development and the microbiome—the intestinal microbiota in maintenance of health and development of disease during childhood development. *Gastroenterology.* 2021; 160(2): 495-506. DOI: 10.1053/j.gastro.2020.08.065.
12. Hou Y.P., He Q.Q., Ouyang H.M., Peng H.S., Wang Q., Li J. et al. Human gut microbiota associated with obesity in Chinese children and adolescents. *Biomed. Res. Int.* 2017; 2017: ID 7585989. DOI: 10.1155/2017/7585989.
13. Klimenko E.S., Pogodina A.V., Rychkova L.V., Belkova N.L. The ability of taxonomic identification of bifidobacteria based on the variable regions of 16S rRNA gene. *Genetika.* 2020; 56(8): 904-14. DOI: 10.31857/S001667582008007X. (in Russian)
14. Cho K.Y. Association of gut microbiota with obesity in children and adolescents. *Clin. Exp. Pediatr.* 2023; 66(4): 148-54. DOI: 10.3345/cep.2021.01837.
15. Kolesnikova L.I., Darenetskaya M.A., Rychkova L.V., Grebenkina L.A., Semenova N.V., Kolesnikov S.I. Lipids metabolism and antioxidant status in exogenous constitutional obesity in girls of Buryatia. *Rossiyskiy Vestnik Perinatologii i Pediatrii.* 2021; 66 (1): 80-6. DOI: 10.21508/1027-4065-2021-66-1-80-86. (in Russian)
16. Pogodina A.V., Romanitsa A.I., Rychkova L.V. Obesity and functional bowel disorders: are they linked? *Ozhirenie i metabolism.* 2021; 18 (2): 132-41. DOI: 10.14341/omet12706. (in Russian)
17. Darenetskaya M.A., Rychkova L.V., Kolesnikov S.I., Semenova N.V., Nikitina O.A., Brichagina A.S. et al. Biochemical status of different ethnicity male adolescents with obesity: discriminant analysis in the most informative indicators determination. *Bulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny.* 2022; 173 (4): 468-73. DOI: 10.47056/0365-9615-2022-173-4-468-473. (in Russian)
18. Darenetskaya M.A., Gavrilova O.A., Rychkova L.V., Kravtsova O.V., Grebenkina L.A., Osipova E.V. et al. The assessment of oxidative stress intensity in adolescents with obesity by the integral index. *IJBM.* 2018; 8(1): 37-41. DOI: 10.21103/Article8(1)_OA5.
19. Darenetskaya 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 Mol. Sci.* 2021; 8 (2): 117-26. DOI: 10.3934/molsci.2021009.
20. Novikova E.A., Bairava T.A. Obesity: ethnic and regional differences in the diet and gut microbiota (Review). *Acta Biomedica Scientifica.* 2019; 4(1): 19-25. DOI: 10.29413/ABS.2019-4.1.3. (in Russian)
21. Volkova N.I., Naboka Y.L., Ganenko L.A., Oksenuk O.S. A feature of the microbiota of the colon in patients with different phenotypes of obesity (pilot study). *Meditinskiy vestnik Yuga Rossii.* 2020; 11 (2): 38-45. DOI: 10.21886/2219-8075-2020-11-2-38-4. (in Russian)
22. Kotrova A.D., Shishkin A.N., Voropayeva L.S., Lavrenova N.S., Slepny L.A., Lukashenko M.V. et al. Gender assessment of the gut microbiome in obese patients. *Eksperimental'naya i klinicheskaya gastroenterologiya.* 2021; 10: 91-9. DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-194-10-91-99. (in Russian)
23. Samoilova J.G., Oleynik O.A., Sagan E.V., Vorozhtsova I.N., Filippova T.A., Denisov N.S. et al. Composition and metabolic activity of the gut microbiota in obese children and adolescents. *Sibirskiy zhurnal klinicheskoy i eksperimental'noy meditsiny.* 2020; 35 (3): 38-46. DOI: 10.29001/2073-8552-2020-35-3-38-46. (in Russian)
24. Otdushkina L.Yu., Mironov A.Yu., Markovskaya A.A., Samodelkina E.V., Zakharova Yu.V., Afanasiev S.S. et al. Features of the intestinal microbiota in newly diagnosed patients with pulmonary tuberculosis with HIV infection. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika.* 2025; 70 (1): 52-8. DOI: 10.51620/0869-2084-2025-70-1-52-58. (in Russian)
25. Petrova O.A., Chervinets V.M., Chervinets Yu.V., Mikhailova E.S., Grigoryants E.O., Leontieva A.V. et al. Formation of the intestinal microbiota of premature newborns without and after taking antibiotics and probiotics. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika.* 2023; 68 (6): 365-70. DOI: 10.51620/0869-2084-2023-68-6-365-370. (in Russian)
26. Skvortsova O.V., Migacheva N.B., Lyamin A.V., Mikhailova E.G., Kaiumov K.A., Alekseev D.V. Features of the composition of the intestinal microbiota in obese children, depending on the presence or absence of metabolic complications. *Meditinskiy sovet.* 2024; (19): 245-53. DOI: 10.21518/ms2024-371. (in Russian)
27. Wang L., Yi Q., Xu H., Liu H., Tan B., Deng H. et al. Alterations in the gut microbiota community are associated with childhood obesity and precocious puberty. *BMC Microbiol.* 2024; 24 (1): 311. DOI: 10.1186/s12866-024-03461-8.
28. Liang C., Zhang L.W. Profiling the gut microbiota in obese children with formula feeding in early life and selecting strains against obesity. *Foods.* 2024; 13 (9): 1379. DOI: 10.3390/foods13091379.
29. Sadeghpour Heravi F., Hu H. Bifidobacterium: host-microbiome interaction and mechanism of action in preventing common gut-microbiota-associated complications in preterm infants: a narrative review. *Nutrients.* 2023; 15(3): 709. DOI: 10.3390/nu15030709.
30. Kang A., Kwak M.-J., Lee D.J., Lee J.J., Kim M.K., Song M. et al. Dietary supplementation with probiotics promotes weight loss by reshaping the gut microbiome and energy metabolism in obese dogs. *Microbiol. Spectr.* 2024; 12(3): e0255223. DOI: 10.1128/specrum.02552-23.
31. Leyrolle Q., Cserjesi R., Mulders M.D.G.H., Zamariola G., Hiel S., Gianfrancesco M. et al. Specific gut microbial, biological, and psychiatric profiling related to binge eating disorders: A cross-sectional study in obese patients. *Clin. Nutr.* 2021; 40(4): 2035-44. DOI: 10.1016/j.clnu.2020.09.025.
32. Rastelli M., Cani P.D., Knauf C. The gut microbiome influences host endocrine functions. *Endocr. Rev.* 2019; 40(5): 1271-84. DOI: 10.1210/er.2018-00280.
33. Willers M., Ulas T., Völlger L., Vogl T., Heinemann A.S., Pirr S. et al. S100A8 and S100A9 are important for postnatal development of gut

- microbiota and immune system in mice and infants. *Gastroenterology*. 2020; 159(6): 2130-2145.e5. DOI: 10.1053/j.gastro.2020.08.019.
34. Plovier H., Everard A., Druart C., Depommier C., Van Hul M., Geurts L. et al. A purified membrane protein from *Akkermansia muciniphila* or the pasteurized bacterium improves metabolism in obese and diabetic mice. *Nat. Med.* 2017; 23(1): 107-13. DOI: 10.1038/nm.4236.
35. Depommier C., Everard A., Druart C., Plovier H., Van Hul M., Vieira-Silva S. et al. Supplementation with *Akkermansia muciniphila* in overweight and obese human volunteers: a proof-of-concept exploratory study. *Nat. Med.* 2019; 25(7): 1096-1103. DOI: 10.1038/s41591-019-0495-2.
36. Ley R.E., Turnbaugh P.J., Klein S., Gordon J.I. Microbial ecology: human gut microbes associated with obesity. *Nature*. 2006; 444(7122): 1022-3. DOI: 10.1038/4441022a.
37. Magne F., Gotteland M., Gauthier L., Zazueta A., Pesoa S., Navarrete P. et al. The firmicutes/bacteroidetes ratio: a relevant marker of gut dysbiosis in obese patients? *Nutrients*. 2020; 12(5): 1474. DOI: 10.3390/nu12051474.
38. Tims S., Derom C., Jonkers D.M., Vlietinck R., Saris W.H., Kleerebezem M. et al. Microbiota conservation and BMI signatures in adult monozygotic twins. *ISME J.* 2013; 7(4): 707-17. DOI: 10.1038/ismej.2012.146.
39. Squillario M., Bonaretti C., La Valle A., Di Marco E., Piccolo G., Minuto N. et al. Gut-microbiota in children and adolescents with obesity: inferred functional analysis and machine-learning algorithms to classify microorganisms. *Sci. Rep.* 2023; 13(1): 11294. DOI: 10.1038/s41598-023-36533-2.
40. Cunningham A.L., Stephens J.W., Harris D.A. A review on gut microbiota: a central factor in the pathophysiology of obesity. *Lipids Health Dis.* 2021; 20(1): 65. DOI: 10.1186/s12944-021-01491-z.
41. Van Hul M., Cani P.D. The gut microbiota in obesity and weight management: microbes as friends or foe? *Nat. Rev. Endocrinol.* 2023; 19(5): 258-71. DOI: 10.1038/s41574-022-00794-0.
42. Sasidharan Pillai S., Gagnon C.A., Foster C., Ashraf A.P. Exploring the gut microbiota: key insights into its role in obesity, metabolic syndrome, and type 2 diabetes. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2024; 109(11): 2709-19. DOI: 10.1210/clinem/dgae499.

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2025

Каюмов К.А., Алексеев Д.В., Бочкарева П.В., Антипов В.А., Лямин А.В.,
Исматуллин Д.Д., Козлов А.В.



<https://elibrary.ru/vcqfig>

СРАВНЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ РАБОТЫ АВТОМАТИЧЕСКИХ АНАЛИЗАТОРОВ ГЕМОКУЛЬТУР ПРИ РАБОТЕ С МАЛЫМИ ОБЪЕМАМИ ИНОКУЛИРУЕМОЙ КРОВИ

Научно-образовательный профессиональный центр генетических и лабораторных технологий ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, 443099, Самара, Россия

Введение. Инфекции кровотока остаются актуальной проблемой клинической и лабораторной медицины как в нашей стране, так и за рубежом. Основным методом в диагностике инфекций кровотока является исследование проб крови на стерильность с помощью автоматических анализаторов гемокультур. Важнейшей характеристикой, определяющей качество, скорость и достоверность выдаваемых результатов при исследовании крови на стерильность является объем биоматериала. Для материала от большинства пациентов педиатрического профиля и ряда категорий взрослых актуальна проблема эффективности работы таких приборов с малыми объемами инокулируемой крови. Несмотря на повсеместное распространение такой аппаратуры, в научном сообществе имеются немногочисленные исследования, проводящие межприборное сравнение эффективности работы подобных анализаторов.

Материал и методы. Проведено сравнение эффективности работы в отношении малообъемных проб крови автоматических анализаторов гемокультур: «Юнона® LABSTAR 50 (SCENKER Biological Technology Co., Ltd., Китай)» и «Bact/Alert® 3D (bioMérieux, Франция)».

Результаты. Оба автоматических анализаторов гемокультур показали высокую эффективность работы в отношении культивирования малообъемных проб крови. Несмотря на полученные статистически значимые различия для отдельных видов микроорганизмов по времени получения положительного сигнала в целом получены сопоставимые результаты для всех типов флаконов как по времени, так и количеству флаконов с положительным ростом. Отсутствуют различия между культивированием посевной дозы 50 и 100 КОЕ в 0,5 мл и 1 мл крови.

Обсуждение. Различные типы флаконов между собой показали сопоставимую эффективность.

Заключение. Необходимы дальнейшие исследования эффективности работы автоматических анализаторов гемокультур в отношении различных объемов крови, в том числе с низкоградиентной бактериемией (менее 10 КОЕ/мл).

Ключевые слова: автоматические анализаторы; гемокультура; инфекции кровотока; объем крови; исследование крови

Для цитирования: Каюмов К.А., Алексеев Д.В., Бочкарева П.В., Антипов В.А., Лямин А.В., Исматуллин Д.Д., Козлов А.В. Сравнение эффективности работы автоматических анализаторов гемокультур при работе с малыми объемами инокулируемой крови. Клиническая лабораторная диагностика. 2025; 70 (7): 505-511.

DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2025-70-7-505-511>

EDN: VCQFIG

Для корреспонденции: Каюмов К.А., специалист Научно-образовательного профессионального центра генетических и лабораторных технологий; e-mail: k.a.kayumov@samsmu.ru

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Поступила 10.12.2024

Принята к печати 11.04.2025

Опубликовано 25.06.2025

Kaiumov K.A., Alekseev D.V., Bochkareva P.V., Antipov V.A., Lyamin A.V., Ismatullin D.D., Kozlov A.V.

COMPARISON OF THE EFFICIENCY OF AUTOMATIC BLOOD CULTURE SYSTEMS WHEN WORKING WITH SMALL VOLUMES OF INOCULATED BLOOD

Professional Center for Education and Research in Genetic and Laboratory Technologies, Samara State Medical University,
Ministry of Health of the Russian Federation, 443099, Samara, Russia

Introduction. Bloodstream infections currently remain an urgent problem in clinical and laboratory medicine both in our country and abroad. The main method in the diagnosis of sepsis is the examination of blood samples for sterility using automatic blood culture analyzers. The most important characteristic that determines the quality, speed and reliability of the results obtained in the blood test for sterility is the volume of biomaterial. For the material from the majority of pediatric patients and a certain category of adults, the problem of the effectiveness of such devices with small volumes of inoculated blood is relevant. Despite the widespread use of such equipment, there is a small body of research in the scientific community conducting an inter-sample comparison of the effectiveness of such analyzers.

Material and methods. In this study, we compared the efficiency of low-volume samples of automatic hemoculture analyzers: «YU-NON® LABSTAR 50 (SCENKER Biological Technology Co., Ltd., China)» and «Bact/Alert® 3D (bioMérieux, France)».

Results. As a result, both automatic blood culture analyzers showed high efficiency in terms of culturing low-volume blood samples. Despite the statistically significant differences obtained for individual types of microorganisms in the time of receiving a positive signal, in general, comparable results were obtained for all types of vials in both time and number of vials with positive growth. There is no difference between the cultivation of a seeding dose of 50 and 100 CFU in 0.5 ml and 1 ml of blood.

Discussion. Different types of vials have shown comparable effectiveness.

Conclusion. Further studies are needed to investigate the performance of automated blood culture analyzers across a range of blood

volumes, including those with low-level bacteremia (less than 10 CFU/mL).

Key words: automatic systems; blood culture; bloodstream infections; volume of blood; blood test

For citation: Kayumov K. A., Alekseev D. V., Bochkareva P. V., Antipov V. A., Lyamin A. V., Ismatullin D. D., Kozlov A. V. Comparison of the efficiency of automatic blood culture analyzers when working with small volumes of inoculated blood. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2025; 70 (7): 505-511 (in Rus.).

DOI: https://doi.org/10.51620/0869-2084-2025-70-7-505-511

EDN: VCQFIG

For correspondence: Kaiumov K.A., specialist of Research and Educational Professional Center for Genetic and Laboratory Technologies; e-mail: k.a.kayumov@samsmu.ru

Information about authors:

Kaiumov K.A., <https://orcid.org/0000-0002-9614-7255>;
Alekseev D.V., <https://orcid.org/0000-0002-8864-4956>;
Bochkareva P.V., <https://orcid.org/0009-0000-6729-1365>;
Antipov V.A., <https://orcid.org/0000-0002-5295-3554>;
Lyamin A.V., <https://orcid.org/0000-0002-5905-1895>;
Ismatullin D.D., <https://orcid.org/0000-0002-4283-907X>;
Kozlov A.V., <https://orcid.org/0000-0001-9384-6854>.

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

Funding. The study had no sponsor support.

Received 10.12.2024

Accepted 11.04.2025

Published 25.06.2025

Введение. Инфекции кровотока (ИК) являются одними из самых тяжелых осложнений различных патологических состояний и остаются актуальной проблемой клинической и лабораторной медицины как в нашей стране, так и за рубежом [1-4]. На данный момент основным методом в диагностике ИК является исследование проб крови на стерильность с помощью культивирования в автоматизированных системах с последующим субкультивированием и выделением чистой культуры возбудителя [5, 6]. Инкубация проб крови в таких приборах происходит в специализированных флаконах, принцип работы которых основан на изменении окраски индикатора в ответ на выделение микроорганизмами углекислого газа в процессе метаболизма. Методология работы таких анализаторов у разных производителей может отличаться лишь способом считывания изменений окраски индикатора, основанной либо на колориметрии, либо на флуоресценции.

Важнейшей характеристикой, определяющей качество, скорость и достоверность выдаваемых результатов при исследовании крови на стерильность, является объем биоматериала. Объем взятой крови влияет на количество колониеобразующих единиц (КОЕ), инокулируемых во флакон, на соотношение биоматериала и питательной среды и степень их разведения. По данным литературы каждый дополнительный 1 мл крови, взятый у пациента, увеличивает вероятность выявления бактериемии в среднем на 3% [7-17].

Определены минимальные объемы инокулируемой во флаконы крови для выявления бактериемии у взрослых пациентов, составляющие, для большинства производителей, 8-10 мл на один флакон [24-26]. При этом важным является и количество флаконов для крови, взятой от одного пациента. При взятии крови в 2, 4, 6 флаконов, чувствительность анализаторов гемокультур составляет 65,0-75,7%, 80,4-89,2% и 95,7-97,7%, соответственно [27]. Существует подгруппа взрослых пациентов, у которых взятие достаточных объемов крови для исследования является проблематичным. Это, как

правило, тяжелобольные и пожилые пациенты, у которых, по данным литературы, за счет увеличения объемов и кратности взятия крови, возрастает риск ложно-положительных результатов и ятрогенной анемии [7]. Существующие рекомендации по посеву малых объемов крови с использованием педиатрических флаконов рассчитаны на пациентов детского возраста [18-24, 28-32]. В литературе отсутствуют данные о минимальном объеме крови для внесения в педиатрические флаконы у взрослых.

Важным является и степень разведения биоматериала после внесения во флаконы. Согласно руководству, выпущенному Институтом клинических и лабораторных стандартов США (CLSI M47, 2022), отношение крови к бульону должно варьировать от 1:5 до 1:10. Проблемой является инокулирование во флакон недостаточного количества крови, что приводит к ложно-отрицательным результатам [27]. От производителей анализаторов гемокультур на рынке представлены специализированные педиатрические флаконы. Они предназначены для внесения малых объемов крови (0,1-5 мл) и, как правило, содержат меньший объем питательной среды (20-40 мл) для сохранения оптимального соотношения биоматериала к бульону (1:5-1:10) [22, 33, 34].

В исследовании проведено сравнение эффективности работы в отношении малых объемов инокулируемой крови двух автоматических анализаторов гемокультур: Юнона® LABSTAR 50 и Bact/Alert® 3D.

Материал и методы. Проведено сравнение работы двух автоматических анализаторов гемокультур: «Юнона® LABSTAR 50 (SCENKER Biological Technology Co, Ltd., Китай)» и «Bact/Alert® 3D (bioMérieux, Франция)». Для каждого анализатора использованы три типа флаконов: флаконы для культивирования аэробных микроорганизмов, флаконы для культивирования анаэробных микроорганизмов и педиатрические флаконы. Все три типа флаконов для системы Юнона® содержали питательную среду объемом 25 мл и адсорбенты

антибактериальных препаратов. Аэробные и педиатрические флаконы для системы Bact/Alert® содержали питательную среду объемом 30 мл и адсорбенты антибактериальных препаратов, анаэробные – 40 мл и адсорбенты антибактериальных препаратов. Использовано 20 штаммов клинических изолятов микроорганизмов из крови: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Salmonella enterica*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella aerogenes*, *Acinetobacter baumanii*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus anginosus*, *Proteus mirabilis*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Serratia marcescens*, *Candida albicans*, *Listeria monocytogenes*.

Из каждого штамма на агаре Мюллер-Хинтона с добавлением 5% дефибринированной бараньей крови (HiMedia, Индия) получены чистые 24-часовые культуры, из которых приготовлен инокулум для внесения во флаконы. Приготовлена исходная взвесь по стандарту мутности МакФарланда 0,5, с концентрацией микроорганизмов 10^8 КОЕ/мл. Из исходной взвеси приготовлены серийные десятикратные разведения переносом 0,5 мл в 4,5 мл 0,9% раствора NaCl в пяти повторениях. Число КОЕ в пятом рабочем разведении соответствует 10^3 КОЕ/мл, или 100 и 50 КОЕ в 0,1 мл и 0,05 мл соответственно. Для большинства штаммов использована посевная доза 50 КОЕ на флакон или 0,05 мл рабочего инокулума. Для штаммов *S. pneumoniae*, *S. anginosus*, *C. albicans*, посевная доза составила 100 КОЕ на флакон или 0,1 мл рабочего инокулума. Вместе с 0,5 мл и 1,0 мл крови, рабочий инокулум вносился во флаконы. Соотношение объема крови к объему питательной среды для всех типов флаконов системы Юнона® составляло: 1:23 (1 мл крови + 0,1 мл инокулума), 1:24 (1 мл крови + 0,05 мл инокулума), 1:41 (0,5 мл крови + 0,1 мл

инокулума) и 1:45 (0,5 мл крови + 0,05 мл инокулума). Соотношение объема крови к объему среды для аэробных и педиатрических флаконов системы Bact/Alert® составляло: 1:27 (1 мл крови + 0,1 мл инокулума), 1:29 (1 мл крови + 0,05 мл инокулума), 1:50 (0,5 мл крови + 0,1 мл инокулума) и 1:54 (0,5 мл крови + 0,05 мл инокулума). Соотношение объема крови к объему среды для анаэробных флаконов системы Bact/Alert® составляло: 1:36 (1 мл крови + 0,1 мл инокулума), 1:38 (1 мл крови + 0,05 мл инокулума), 1:67 (0,5 мл крови + 0,1 мл инокулума) и 1:72 (0,5 мл крови + 0,05 мл инокулума).

Для 15 штаммов использованы аэробный, анаэробный и педиатрический флаконы, для двух объемов крови (0,5 мл и 1,0 мл) каждый в 5 повторениях для каждого анализатора (всего 900 проб). Для штаммов *P. aeruginosa*, *A. baumannii*, *S. maltophilia*, *C. albicans*, *L. monocytogenes* использованы только аэробный и педиатрический флаконы, для двух объемов крови (0,5 мл и 1,0 мл) в 5 повторениях для каждого анализатора (всего 200 проб). После инкубирования оценивались следующие параметры: время от момента установки флакона в анализатор до получения сигнала о наличии или отсутствии роста микроорганизмов; наличие сигнала о положительном росте. Данные параметры анализировались на предмет наличия достоверно значимой взаимосвязи с типом анализатора, типом флакона, видом микроорганизма и объемом инокулированной крови.

Статистический анализ полученных результатов проведён с использованием программы StatTech v. 3.1.8 (разработчик - ООО «Статтех», Россия). Количественные показатели, имеющие нормальное распределение, описаны с помощью средних арифметических величин (M) и стандартных отклонений (SD), границ 95% доверительного интервала (95% ДИ). В случае отсутствия нормального распределения количественные данные описаны с помощью медианы (Me) и нижнего

Таблица 1

Анализ времени до получения сигнала о наличии или отсутствии роста микроорганизмов

Показатель	Категории	Время, мин			<i>p</i>
		Me	Q ₁ -Q ₃	n	
Аэробные флаконы 0,5					
Тип флакона	LABSTAR	775,00	675,50-958,00	96	0,088
	Bact/Alert	773,50	727,50-1094,25	98	
Анаэробные флаконы 0,5					
Тип флакона	LABSTAR	753,00	696,00-920,25	68	0,481
	Bact/Alert	774,00	713,25-958,00	70	
Педиатрические флаконы 0,5					
Тип флакона	LABSTAR	785,00	671,50-943,50	95	0,487
	Bact/Alert	770,00	720,00-1109,25	94	
Аэробные флаконы 1,0					
Тип флакона	LABSTAR	785,00	673,00-944,50	98	0,281
	Bact/Alert	764,50	723,00-1071,75	98	
Анаэробные флаконы 1,0					
Тип флакона	LABSTAR	740,00	697,50-899,50	71	0,364
	Bact/Alert	776,00	712,75-860,00	72	
Педиатрические флаконы 1,0					
Тип Флакона	LABSTAR	783,00	673,00-931,75	96	0,598
	Bact/Alert	765,00	731,00-1049,50	95	

Примечание. Здесь и в табл. 2, 3: *n* – количество проб.

и верхнего квартилей (Q_1 - Q_3). Сравнение двух групп по количественному показателю, имеющему нормальное распределение, при условии равенства дисперсий выполнено с помощью t-критерия Стьюдента. Сравнение двух групп по количественному показателю, распределение которого отличалось от нормального, выполнено с помощью U-критерия Манна-Уитни. Сравнение процентных долей при анализе четырехпольных таблиц сопряженности выполнено с помощью точного критерия Фишера (при значениях ожидаемого явления менее 10).

Результаты. Всего инокулированы 1100 проб во флаконы для гемокульттивирования. Выявлены статистически значимые различия в скорости получения положительного сигнала в пользу прибора «Bact/Alert® 3D» для следующих видов микроорганизмов: *S. aureus* ($p<0,001$), *K. pneumoniae* ($p<0,012$), *E. cloacae* ($p<0,001$), *A. baumannii* ($p<0,008$), *E. faecalis* ($p<0,007$), *S. pneumoniae* ($p<0,047$), *S. agalactiae* ($p<0,001$), *S. maltophilia* ($p<0,001$), *S. marcescens* ($p<0,001$), *L. monocytogenes* ($p<0,009$). Выявлены статистически значимые различия в скорости получения положительного сигнала в пользу прибора «Bact/Alert® 3D» для следующих видов микроорганизмов: *S. haemolyticus* ($p<0,013$), *S. epidermidis* ($p<0,008$), *E. coli* ($p<0,001$), *S. enterica* ($p<0,001$), *E. faecium* ($p<0,001$), *S. anginosus* ($p<0,027$), *P. mirabilis* ($p<0,001$). Статистически достоверных различий во времени получения сигнала не найдено (табл. 1).

Таблица 2

Анализ наличия сигнала о положительном росте

Показатель	Категории	Тип анализатора			<i>p</i>
		LABSTAR, %	Bact/Alert, %	<i>n</i>	
Аэробные флаконы 0,5					
Рост	+	96,0	98,0	100	0,683
	-	4,0	2,0		
Анаэробные флаконы 0,5					
Рост	+	90,7	94,7	75	0,533
	-	9,3	5,3		
Педиатрические флаконы 0,5					
Рост	+	95,0	96,0	100	1,000
	-	5,0	4,0		
Аэробные флаконы 1,0					
Рост	+	99,0	98,0	100	1,000
	-	1,0	2,0		
Анаэробные флаконы 1,0					
Рост	+	93,3	96,0	75	0,719
	-	6,7	4,0		
Педиатрические флаконы 1,0					
Рост	+	94,0	95,0	100	1,000

Таблица 3

Результаты культивирования *S. anginosus*

Показатель	Категории	Время, мин			<i>p</i>
		Me/M± SD	Q ₁ – Q ₃ /95% CI	<i>n</i>	
Аэробные флаконы 0,5					
Тип флакона	LABSTAR	2792,00	2792,00 – 2792,00	1	0,157
	Bact/Alert	1844,00	1671,50 – 1898,75	4	
Анаэробные флаконы 0,5					
Тип флакона	LABSTAR	3106,00	2492,00 – 3720,00	2	-
	Bact/Alert	nan	nan – nan	0	
Педиатрические флаконы 0,5					
Тип флакона	LABSTAR	nan	nan – nan	0	-
	Bact/Alert	998,50	558,25 – 1438,75	2	
Аэробные флаконы 1,0					
Тип флакона	LABSTAR	2179,33 ± 213,69	1648,50 – 2710,16	3	0,027*
	Bact/Alert	1714,33 ± 97,37	1472,45 – 1956,22	3	
Анаэробные флаконы 1,0					
Тип флакона	LABSTAR	1971,00	1971,00 – 1971,00	1	0,221
	Bact/Alert	3277,00	3132,00 – 3422,00	2	
Педиатрические флаконы 1,0					
Тип флакона	LABSTAR	4012,00	3770,50 – 4253,50	2	0,083
	Bact/Alert	1219,00	1203,00 – 1384,00	3	

В результате анализа наличия сигнала о положительном росте во флаконах в зависимости от типа анализатора, типа флакона и объема инокулированной крови, статистически достоверных различий не найдено (табл. 2).

Отдельно стоит отметить результаты культивирования в двух системах *S. anginosus*. Оба анализатора показали сомнительные результаты культивирования (табл. 3).

Обсуждение. Автоматические анализаторы гемокультур являются неотъемлемым оснащением микробиологических лабораторий. Опубликованы немногочисленные исследования, проводящие сравнение эффективности их работы. Имеются отдельные отечественные исследования приборов компании SCENKER, в которых авторы не сравнивают их работу с другими анализаторами [3, 35]. Зарубежные авторы, как правило, исследуют эффективность работы анализаторов от одного производителя. Известны работы, посвященные приборам компании bioMérieux, в которых сравнивается значение времени до обнаружения для двух систем Bact/Alert® 3D и Bact/Alert® Virtuo [32, 36-39]. Другое исследование проведено с использованием прибора BACTEC™ FX (BD Diagnostics, США) [22]. В нем сравнивали эффективность аэробных и педиатрических типов флаконов в выявлении низкоуровневой бактериемии и, подобно нашему исследованию, авторы *in vitro* создавали низкие концентрации КОЕ/мл в объемах от 0,5 мл до 3 мл донорской крови. Подобное исследование педиатрических флаконов проведено и на приборе Bact/Alert® [40]. В крупном исследовании W.I. Gonsalves и соавт. [41], опубликованном в 2019 году, проведено сравнение эффективности трех самых распространенных автоматических анализаторов гемокультур: BacT/Alert® 3D (bioMérieux, Франция), BD BACTEC™ Plus (BD Diagnostics, США), VersaTREK® (TREK Diagnostic Systems, США). Используемый в исследовании объем инокулированной крови составлял 10 мл, посевные дозы варьировали от 10 до 100 КОЕ/мл. В результатах наиболее эффективной системой оказался анализатор от компании BD, в то время как анализатор от компании bioMérieux показал наилучшие результаты в отношении адсорбции антибиотиков; анализатор от компании VersaTREK® авторы рекомендовали использовать для культивирования образцов крови без антибиотиков. Существуют работы, сравнивающие анализаторы компаний BD и bioMérieux, однако все они используют стандартные объемы инокулируемой крови и не исследуют эффективность их работы в отношении малых объемов [42-44].

По результатам проведенного исследования, оба анализатора показали высокую эффективность работы в отношении культивирования малообъемных проб крови. Несмотря на полученные статистически значимые различия для отдельных видов микроорганизмов по времени получения положительного сигнала, получены сопоставимые результаты для всех типов флаконов как по времени, так и количеству флаконов с положительным ростом. Для обоих анализаторов результаты инкубации сложнокультивируемого микроорганизма *S. anginosus* оказались малоэффективными, что подтверждает сопоставимость работы исследуемых приборов. Отсутствуют различия между культивированием микроорганизмов в посевной дозе 50-100

КОЕ в 0,5 мл и 1 мл крови. Несмотря на малые объемы инокулируемой крови, предназначенные для этого педиатрические флаконы имели сопоставимую эффективность с взрослыми аэробными и анаэробными флаконами. Существует ряд исследований, сравнивающие эффективность педиатрических флаконов со стандартными в культивировании малых объемов крови [22, 33, 34]. Результаты исследований в большинстве случаев свидетельствуют об отсутствии различий между стандартными и педиатрическими флаконами. В некоторых исследованиях даже отмечается сравнительно высокая эффективность стандартных флаконов несмотря на то, что соотношение крови и бульона в них составляет 1:100. [9]. В противоположность руководствам CLSI, отечественные методические указания (МУ 4.2.2039-05) рекомендуют использовать соотношение крови и питательной среды во флаконах от 1:10 до 1:60, что объясняется необходимостью устранения бактерицидного действия крови путем её разведения.

Заключение. Малые объемы крови, инокулируемые во флаконы для гемокультивирования, актуальны не только для пациентов детского возраста, но и для взрослых [7, 27, 45]. Исследование показало, что проанализированные системы культивирования сопоставимы по эффективности работы с малообъемными пробами крови. Различные типы флаконов между собой показали сопоставимую эффективность. Необходимы дальнейшие исследования эффективности работы автоматических анализаторов гемокультур в отношении различных объемов крови, в том числе с низкоуровневой бактериемией (менее 10 КОЕ/мл).

ЛИТЕРАТУРА (П. 1, 6, 8-11, 13-34, 36-45 С. M. REFERENCES)

2. Дворецкий Л.И., Яковлев С.В. Инфекционная патология в клинике внутренних болезней. *Терапевтический архив*. 2018; 90(11): 112-9. DOI: 10.26442/terarkh20189011112-119.
3. Боронина Л.Г., Саматова Е.В., Кукушкина М.П., Панова С.А., Устюгова С.С. Внутрилабораторный контроль качества питательных сред для автоматического бактериологического анализатора Юнона®Labstar 50. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2021; 66(2): 110-4. DOI: 10.51620/0869-2084-2021-66-2-110-114.
4. Каргальцева Н.М., Кочеровец В.И., Миронов А.Ю., Борисова О.Ю. Метод получения гемокультуры при диагностике инфекции кровотока. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2020; 65(3): 185-90. DOI: 10.18821/0869-2084-2020-65-3-185-190.
5. Каргальцева Н.М., Кочеровец В.И., Миронов А.Ю., Борисова О.Ю. Сердечно-мозговые среды для гемокультур. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2020; 65(6): 375-81. DOI: 10.18821/0869-2084-2020-65-6-375-381.
7. Каргальцева Н.М., Борисова О.Ю., Миронов А.Ю., Кочеровец В.И., Пименова А.С., Гадуя Н.Т. Инфекция кровотока у госпитальных терапевтических больных. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2022; 67(6): 355-61. DOI: 10.51620/0869-2084-2022-67-6-355-361.
12. Полибин Р.В., Миндлина А.Я., Герасимов А.А., Брико Н.И. Сравнительный анализ смертности от инфекционных болезней в Российской Федерации и некоторых странах Европы. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2017; 16(3): 4-10.
35. Кущевалова О.Ю., Козель Ю.Ю., Алаверян А.И., Гусак Д.А. Анализ этиологии структуры инфекций кровотока с использованием автоматического бактериологического анализатора Юнона® Labstar. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2022; 67(2): 101-5. DOI: 10.51620/0869-2084-2022-67-2-101-105.

REFERENCES

1. Li G., Sun J., Pan S., Li W., Zhang S., Wang Y. et al. Comparison of the Performance of Three Blood Culture Systems in a Chinese Tertiary-Care Hospital. *Front. Cell Infect. Microbiol.* 2019; 9: 285. DOI: 10.3389/fcimb.2019.00285.
2. Dvoretzky L.I., Yakovlev S.V. Infection in the clinic of internal diseases. *Terapevticheskiy Arkhiv*. 2018; 90(11): 112-9. DOI: 10.26442/terarkh20189011112-119. (in Russian)
3. Boronina L.G., Samatova E.V., Kukushkina M.P., Panova S.A., Ustyugova S.S. In-laboratory quality control of nutrients for automatic bacteriology analyzer YUNON®Labstar 50. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2021; 66(2): 110-4. DOI: 10.51620/0869-2084-2021-66-2-110-114. (in Russian)
4. Kargaltseva N.M., Kocherovets V.I., Mironov A.Yu., Borisova O.Yu. Method for obtaining blood culture while diagnosing bloodstream infection. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2020; 65(3): 185-90. DOI: 10.18821/0869-2084-2020-65-3-185-190. (in Russian)
5. Kargaltseva N.M., Kocherovets V.I., Mironov A.Yu., Borisova O.Yu. Brain-heart media for blood cultures. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2020; 65(6): 375-81. DOI: 10.18821/0869-2084-2020-65-6-375-381. (in Russian)
6. McNamara J.F., Righi E., Wright H., Hartel G.F., Harris P.N.A., Patterson D.L. Long-term morbidity and mortality following bloodstream infection: A systematic literature review. *J. Infect.* 2018; 77(1): 1-8. DOI: 10.1016/j.jinf.2018.03.005.
7. Kargaltseva N.M., Borisova O.Yu., Mironov A.Yu., Kocherovets V.I., Pimenova A.S., Gadua N.T. Bloodstream infection in hospital therapeutic patients. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2022; 67(6): 355-61. DOI: 10.51620/0869-2084-2022-67-6-355-361. (in Russian)
8. Mermel L.A., Maki D.G. Detection of bacteremia in adults: consequences of culturing an inadequate volume of blood. *Ann. Intern. Med.* 1993; 119(4): 270-2. DOI: 10.7326/0003-4819-119-4-199308150-00003.
9. Kennaugh J.K., Gregory W.W., Powell K.R., Hendley J.O. The effect of dilution during culture on detection of low concentrations of bacteria in blood. *Pediatr. Infect. Dis.* 1984; 3(4): 317-8. DOI: 10.1097/00006454-198407000-00008.
10. Harewood F.C., Curtis N., Daley A.J., Bryant P.A., Gwee A., Connell T.G. Adequate or inadequate? The volume of blood submitted for blood culture at a tertiary children's hospital. *Clin. Pediatr. (Phila)*. 2018; 57(11): 1310-7. DOI: 10.1177/0009922818778042.
11. Connell T.G., Rele M., Cowley D., Buttery J.P., Curtis N. How reliable is a negative blood culture result? Volume of blood submitted for culture in routine practice in a children's hospital. *Pediatrics*. 2007; 119(5): 891-6. DOI: 10.1542/peds.2006-0440.
12. Polibin R.V., Mindlina A.Ya., Gerasimov A.A., Briko N.I. Comparative analysis of mortality from infectious diseases in the Russian Federation and some European Countries. *Epidemiologiya i vaktsinoprofilaktika*. 2017; 16(3): 4-10. (in Russian)
13. Altun O., Almuhayawi M., Lüthje P., Taha R., Ullberg M., Özenci V. Controlled evaluation of the new BacT/Alert virtuo blood culture system for detection and time to detection of bacteria and yeasts. *J. Clin. Microbiol.* 2016; 54(4): 1148-51. DOI: 10.1128/JCM.03362-15.
14. Miller J.M., Binnicker M.J., Campbell S., Carroll K.C., Chapin K.C., Gilligan P.H. et al. A guide to utilization of the microbiology laboratory for diagnosis of infectious diseases: 2018 update by the infectious diseases society of America and the American Society for microbiology. *Clin. Infect. Dis.* 2018; 67(6): e1-e94. DOI: 10.1093/cid/ciy381.
15. Ilstrup D.M., Washington J.A. The importance of volume of blood cultured in the detection of bacteremia and fungemia. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 1983; 1(2): 107-10. DOI: 10.1016/0732-8893(83)90039-1.
16. Mueller-Premru M., Jeverica S., Papst L., Nagy E. Performance of two blood culture systems to detect anaerobic bacteria. Is there any difference? *Anaerobe*. 2017; 45: 59-64. DOI: 10.1016/j.anaerobe.2017.03.006.
17. Auckenthaler R., Ilstrup D.M., Washington J.A. 2nd. Comparison of recovery of organisms from blood cultures diluted 10% (volume/volume) and 20% (volume/volume). *J. Clin. Microbiol.* 1982; 15(5): 860-4. DOI: 10.1128/jcm.15.5.860-864.1982.
18. Dietzman D.E., Fischer G.W., Schoenkecht F.D. Neonatal *Escherichia coli* septicemia--bacterial counts in blood. *J. Pediatr.* 1974; 85(1): 128-30. DOI: 10.1016/s0022-3476(74)80308-2.
19. Sarkar S., Bhagat I., DeCristofaro J.D., Wiswell T.E., Spitzer A.R. A study of the role of multiple site blood cultures in the evaluation of neonatal sepsis. *J. Perinatol.* 2006; 26(1): 18-22. DOI: 10.1038/sj.jp.7211410.
20. Totty H., Ullery M., Spontak J., Viray J., Adamik M., Katzin B., Dunne W.M., Jr. Deol P. A controlled comparison of the BacT/ALERT® 3D and VIRTUO™ microbial detection systems. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2017; 36(10): 1795-1800. DOI: 10.1007/s10096-017-2994-8.
21. Yaacobi N., Bar-Meir M., Shchors I., Bromiker R. A prospective controlled trial of the optimal volume for neonatal blood cultures. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 2015; 34(4): 351-4. DOI: 10.1097/INF.0000000000000594.
22. Isaacman D.J., Karasic R.B., Reynolds E.A., Kost S.I. Effect of number of blood cultures and volume of blood on detection of bacteremia in children. *J. Pediatr.* 1996; 128(2): 190-5. DOI: 10.1016/s0022-3476(96)70388-8.
23. Deol P., Michael U., Totty H., Viray J., Spontak J., Adamik M. et al. Rapid time to detection difference between the BacT/ALERT® VIRTUO™ and the BacT/ALERT® 3D. Amsterdam: 26TH ECCMID; 2016. DOI: 10.13140/RG.2.2.29332.09602.
24. Baron E.J., Miller J.M., Weinstein M.P., Richter S.S., Gilligan P.H., Thomson R.B. Jr. et al. A guide to utilization of the microbiology laboratory for diagnosis of infectious diseases: 2013 recommendations by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and the American Society for Microbiology (ASM)(a). *Clin. Infect. Dis.* 2013; 57(4): e22-e121. DOI: 10.1093/cid/cit278.
25. Tenney J.H., Reller L.B., Mirrett S., Wang W.L., Weinstein M.P. Controlled evaluation of the volume of blood cultured in detection of bacteremia and fungemia. *J. Clin. Microbiol.* 1982; 15(4): 558-61. DOI: 10.1128/jcm.15.4.558-561.1982.
26. Hall M.M., Ilstrup D.M., Washington J.A. 2nd. Effect of volume of blood cultured on detection of bacteremia. *J. Clin. Microbiol.* 1976; 3(6): 643-5. DOI: 10.1128/jcm.3.6.643-645.1976.
27. Lamy B., Dargère S., Arendrup M.C., Parienti J.J., Tattevin P. How to optimize the use of blood cultures for the diagnosis of bloodstream infections? A state-of-the art. *Front. Microbiol.* 2016; (7): 697. DOI: 10.3389/fmicb.2016.00697.
28. Dien Bard J., McElvania E. TeKippe. Diagnosis of bloodstream infections in children. *J. Clin. Microbiol.* 2016; 54(6): 1418-24. DOI: 10.1128/JCM.02919-15.
29. Bouza E., Sousa D., Rodríguez-Créixems M., Lechuz J.G., Muñoz P. Is the volume of blood cultured still a significant factor in the diagnosis of bloodstream infections? *J. Clin. Microbiol.* 2007; 45(9): 2765-9. DOI: 10.1128/JCM.00140-07.
30. Fiori B., D'Inzeo T., Di Florio V., De Maio F., De Angelis G., Giaquinto A. et al. Performance of two resin-containing blood culture media in detection of bloodstream infections and in direct matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) broth assays for isolate identification: clinical comparison of the BacT/Alert Plus and Bactec Plus systems. *J. Clin. Microbiol.* 2014; 52(10): 3558-67. DOI: 10.1128/JCM.01171-14.
31. Whelan S.O., Mulrooney C., Moriarty F., Cormican M. Pediatric blood cultures-turning up the volume: a before and after intervention study. *Eur. J. Pediatr.* 2024; 183(7): 3063-71. DOI: 10.1007/s00431-024-05544-0.
32. Schelonka R.L., Chai M.K., Yoder B.A., Hensley D., Brockett R.M., Ascher D.P. Volume of blood required to detect common neonatal pathogens. *J. Pediatr.* 1996; 129(2): 275-8. DOI: 10.1016/s0022-3476(96)70254-8.
33. Lancaster D.P., Friedman D.F., Chiotos K., Sullivan K.V. Blood volume required for detection of low levels and ultralow levels of organisms responsible for neonatal bacteremia by use of Bactec Peds Plus/F, Plus Aerobic/F Medium, and the BD Bactec FX system: an *in vitro* study. *J. Clin. Microbiol.* 2015; 53(11): 3609-13. DOI: 10.1128/JCM.01706-15.
34. Gaur A., Giannini M.A., Flynn P.M., Boudreaux J.W., Mestemacher M.A., Shenep J.L., Hayden R.T. Optimizing blood culture practices in pediatric immunocompromised patients: evaluation of media types and blood culture volume. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 2003; 22(6): 545-52. DOI: 10.1097/01.inf.0000069762.44241.0d.
35. Kutsevalova O.Yu., Kozel Yu.Yu., Alaverdyan A.I., Gusak D.A. Analysis of the etiology of the structure of bloodstream infections using the automatic bacteriological analyzer Yunon® Labstar. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2022; 67(2): 101-5. DOI:

- 10.51620/0869-2084-2022-67-2-101-105. (in Russian)
36. Brown D.F., Warren R.E. Effect of sample volume on yield of positive blood cultures from adult patients with haematological malignancy. *J Clin Pathol.* 1990; 43(9): 777-9. DOI: 10.1136/jcp.43.9.777.
37. Huber S., Hetzer B., Cazzolara R., Orth-Höller D. The correct blood volume for paediatric blood cultures: a conundrum? *Clin. Microbiol. Infect.* 2020; 26(2): 168-73. DOI: 10.1016/j.cmi.2019.10.006.
38. Yagupsky P., Nolte F.S. Quantitative aspects of septicemia. *Clin. Microbiol. Rev.* 1990; 3(3): 269-79. DOI: 10.1128/CMR.3.3.269.
39. Congestri F., Pedna M.F., Fantini M., Samuelli M., Schiavone P., Torri A. et al. Comparison of 'time to detection' values between BacT/ALERT VIRTUO and BacT/ALERT 3D instruments for clinical blood culture samples. *Int. J. Infect. Dis.* 2017; 62: 1-5. DOI: 10.1016/j.ijid.2017.06.012.
40. Kellogg J.A., Bankert D.A., Manzella J.P., Parsey K.S., Scott S.L., Cavanaugh S.H. Clinical comparison of isolator and thiol broth with ESP aerobic and anaerobic bottles for recovery of pathogens from blood. *J. Clin. Microbiol.* 1994; 32(9): 2050-5. DOI: 10.1128/jcm.32.9.2050-2055.1994.
41. Gonsalves W.I., Cornish N., Moore M., Chen A., Varman M. Effects of volume and site of blood draw on blood culture results. *J. Clin. Microbiol.* 2009; 47(11): 3482-5. DOI: 10.1128/JCM.02107-08.
42. Plorde J.J., Tenover F.C., Carlson L.G. Specimen volume versus yield in the BACTEC blood culture system. *J. Clin. Microbiol.* 1985; 22(2): 292-5. DOI: 10.1128/jcm.22.2.292-295.1985.
43. Kellogg J.A., Manzella J.P., Bankert D.A. Frequency of low-level bacteremia in children from birth to fifteen years of age. *J. Clin. Microbiol.* 2000; 38(6): 2181-5. DOI: 10.1128/JCM.38.6.2181-2185.2000.
44. Doern C.D., Mirrett S., Halstead D., Abid J., Okada P., Reller L.B. Controlled clinical comparison of new pediatric medium with adsorbent polymeric beads (PF Plus) versus charcoal-containing PF medium in the BacT/alert blood culture system. *J. Clin. Microbiol.* 2014; 52(6): 1898-1900. DOI: 10.1128/JCM.00175-14.
45. Whelan S.O., Mulrooney C., Moriarty F., Cormican M. Pediatric blood cultures-turning up the volume: a before and after intervention study. *Eur. J. Pediatr.* 2024; 183(7): 3063-71. DOI: 10.1007/s00431-024-05544-0.

ОРГАНИЗАЦИЯ ЛАБОРАТОРНОЙ СЛУЖБЫ

© ИВОЙЛОВ О.О., КОЧЕТОВ А.Г., 2025

Ивойлов О.О.¹, Кочетов А.Г.²



<https://elibrary.ru/igoewnx>

ТОТАЛЬНАЯ АВТОМАТИЗАЦИЯ МЕДИЦИНСКОЙ ЛАБОРАТОРИИ: ВОЗМОЖНОСТИ, РИСКИ, ЭФФЕКТИВНОСТЬ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

¹Независимый исследователь, 194044, Санкт-Петербург, Россия;

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

Представлен комплексный обзор современного состояния и перспектив тотальной лабораторной автоматизации (TLA) в медицинских лабораториях. Исследование систематизирует существующие взгляды на автоматизацию лабораторных процессов, раскрывает технологические характеристики систем TLA. Рассмотрены особенности применения TLA в различных областях клинической лабораторной диагностики - клинической химии, иммунохимии, микробиологии, гематологии. Выявлены ключевые положительные эффекты внедрения TLA: повышение производительности труда, сокращение времени выполнения исследований, стандартизация процессов, улучшение качества и безопасности диагностики. Одновременно идентифицированы ограничения, присущие современным системам автоматизации, систематизированы и описаны риски, возникающие в процессе их внедрения и эксплуатации. Особое внимание уделено специфике применения TLA в российских лабораториях, где отмечается дефицит экспертного опыта, методологических рекомендаций, экономические и иные особенности, влияющие на внедрение и эксплуатацию автоматизированных систем. Описаны подходы к контролю и управлению эффективностью автоматизации лаборатории. Обобщены и приведены количественные метрики, используемые для объективной оценки достижения тех или иных эффектов. Предложены стратегические направления преодоления текущих ограничений TLA, включающие технологические, методологические и организационные решения. Исследование представляет интерес для специалистов в области клинической лабораторной диагностики, менеджеров здравоохранения и исследователей, интересующихся вопросами автоматизации медицинских лабораторий.

Ключевые слова: тотальная лабораторная автоматизация; TLA; медицинские лаборатории; автоматизация диагностических процессов; эффективность здравоохранения

Для цитирования: Ивойлов О.О., Кочетов А.Г. Тотальная автоматизация медицинской лаборатории: возможности, риски, эффективность (обзор литературы). Клиническая лабораторная диагностика. 2025; 70(7): 512-525.

DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2025-70-7-512-525>

EDN: IOGWNX

Для корреспонденции: Ивойлов Олег Олегович, канд. мед. наук, независимый исследователь; e-mail: kbld@mail.ru

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Благодарность. Авторы выражают искреннюю благодарность Саниной О.А. за помощь в редактировании текста работы.

Поступила 22.04.2025
Принята к печати 15.06.2025
Опубликовано 25.06.2025

Ivoylov O.O.¹, Kochetov A.G.²

TOTAL MEDICAL LABORATORY AUTOMATION: OPPORTUNITIES, RISKS, EFFECTIVENESS (REVIEW OF LITERATURE)

¹Independent Research Scientist, 194044, Saint Petersburg, Russia;

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

The article presents a comprehensive review of the current state and prospects of total laboratory automation (TLA) in medical laboratories. The study systematizes existing views on the automation of laboratory processes, reveals the technological characteristics of TLA systems. The features of TLA application in various areas of laboratory diagnostics, including clinical chemistry, immunochemistry, microbiology and hematology are considered. The key positive effects of TLA implementation are identified: increased labor productivity, reduced research time, standardization of processes, improved quality and safety of diagnostics. At the same time, the limitations inherent in modern automation systems are identified, the risks arising in the process of their implementation and operation are systematized and described. Particular attention is paid to the specifics of TLA application in Russian laboratories, where there is a shortage of expert experience, methodological recommendations, economic and other features affecting the implementation and operation of automated systems. Approaches to monitoring and managing the efficiency of laboratory automation are described. Quantitative metrics used for an objective assessment of the achievement of certain effects are summarized and presented. Strategic directions for overcoming current TLA limitations are proposed, including technological, methodological, and organizational solutions. The study is valuable for laboratory diagnostics specialists, healthcare managers, and researchers interested in the automation of medical laboratories.

Key words: total laboratory automation; TLA; medical laboratories; diagnostic process automation; healthcare efficiency

For citation: Ivojlov O.O., Kochetov A.G. Total medical laboratory automation: opportunities, risks, effectiveness (review of literature). *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2025; 70(7): 512-525 (in Russ.).
DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2025-70-7-512-525>
EDN: IOGWNX

For correspondence: Ivojlov O.O., PhD, Independent Research Scientist; e-mail: kblld@mail.ru

Information about authors:

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

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

Funding. The study had no sponsor support.

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

Acknowledgment. The authors express their sincere gratitude to O.A. Sanina for her assistance in editing the text of the work.

Received 22.04.2025

Accepted 15.06.2025

Published 25.06.2025

Введение. Концепция централизации диагностических исследований привела к созданию крупных лабораторий, переориентировавших на себя огромные потоки образцов биоматериала и выполняющих кажущееся фантастическим количество тестов. Это было оправдано, в первую очередь, снижением себестоимости анализа за счет экономии на постоянных затратах на выполнение калибровок и процедур контроля качества и более эффективной амортизации имеющегося оборудования [1, 2]. Рост объемов исследований сопряжен с увеличением переменных трудозатрат, связанных с обработкой проб и выполнением тестов. Такие типовые повторяющиеся действия, как правило, могут быть автоматизированы и исключены из нагрузки персонала, сэкономив его время. При этом потоки образцов биоматериала будут физически размещены на оборудовании, не занимая дополнительных рабочих мест в процессе их обработки и анализа. Автоматизация - неизбежный путь, позволяющий, за счет повышения производительности труда и более эффективного использования пространства, избежать экстенсивного сценария развития централизованной лаборатории: бесконечного увеличения штата и расширения площадей [3]. Она способствует существенному повышению качества и стандартизации результатов лабораторных исследований за счет минимизации человеческого фактора, сокращению времени выполнения анализов, что критично для принятия клинических решений [4].

Принято выделять несколько уровней автоматизации лабораторий, в зависимости от сложности и масштаба применяемых решений [5, 6].

Автоматизация, ориентированная на выполнение задачи (task-targeted automation) заключается во вспомогательном использовании машин с одной функцией, например, сортировка образцов, снятие крышек, аликовтирование.

Субтотальная автоматизация (subtotal automation) подразумевает использование автономных систем, каждая из которых автоматизирует целый комплекс задач преаналитического, аналитического, постаналитического этапов, но не объединяет эти этапы в единое технологическое решение. Иначе говоря, образцы могут быть автоматически центрифужированы, аликовтированы, отсортированы в штативы. Но транспортировка их от сортера к анализатору, который тоже может представлять собой сложную модульную систему, и их извлечение из него для архивирования будут происходить вручную. Синоним этого варианта

- «островковая автоматизация».

Максимальным уровнем является **тотальная автоматизация лаборатории (total laboratory automation, TLA)**. В дополнение к функциям, описанным выше, эти системы обычно имеют конвейерный транспорт (трековую линию), связывающий преаналитический модуль с автоматизированными анализаторами, в некоторых случаях и блок архивации, хранения и извлечения образцов. Это технологическое решение объединено в единый ансамбль общим интерфейсом и программным обеспечением (ПО) уровня middleware, позволяющим взаимодействовать с лабораторной информационной системой (ЛИС). Такие системы имеют модульную конструкцию, что позволяет лаборатории выбирать функции (например, центрифугирование, сортировку, аликовтирование, хранение и т. д.), которые будут в нее включены. TLA является инновацией в лабораторных технологиях, однако высокие первоначальные затраты ограничивают ее широкое распространение [7].

Централизация лабораторий в Российской Федерации способствовала росту потребности в автоматизации, включая внедрение систем самого высокого уровня. Оценка масштабов и эффективности таких изменений в настоящее время затруднена из-за отсутствия соответствующих аналитических исследований и систематизированных данных в научном поле, сформированного экспертного мнения по этому вопросу. За последние 10 лет в отечественной научной периодике обнаружена единственная (!) полноценная статья, вышедшая в рецензируемом издании, посвященная TLA [8]. Этот удивительный факт указывает не только на дефицит наблюдений, неразработанность подходов к проектированию автоматизированных лабораторий и анализу их эффективности, неясность проблем и перспектив развития лабораторной автоматизации в РФ, но, по-видимому, даже на отсутствие систематизированных представлений о концепции TLA в отечественном профессиональном сообществе. И это, несмотря на активное использование таких систем и в государственном, и в частном лабораторном секторе, отмеченное в последнее десятилетие. Проблема носит комплексный характер и создает актуальный запрос на систематизацию имеющейся современной информации о ключевых аспектах TLA, на русском языке и с учетом российских реалий.

Цель работы: систематизация информации и критический анализ текущих подходов к тотальной лабораторной автоматизации, выявление ключевых тенден-

ций, рисков, ограничений и критерий эффективности её внедрения в медицинскую практику.

Материал и методы. Настоящее исследование базируется на систематическом обзоре научной литературы, посвященной проблемам TLA. Поиск публикаций осуществлялся в электронных базах данных PubMed и РИНЦ за период с 2010 по 2025 год. Критерии включения источников: полнотекстовые рецензируемые статьи на русском или английском языках, публикации, содержащие информацию о технологиях TLA, действующие на данный момент документы, регламентирующие эту область, аналитические обзоры и маркетинговые исследования рынка лабораторной автоматизации. Критерии исключения: тезисы конференций, источники без полно-го текста, публикации, не относящиеся напрямую к про-блематике TLA. Стратегия поиска включала использование следующих ключевых слов и их комбинаций: «то-тальная лабораторная автоматизация», «total laboratory automation», «TLA». Первичный поиск выявил 168 ис-точников, из которых после удаления дублирующих за-писей, применения критериев включения/исключения и оценки релевантности отобрано 36 источников для детального анализа. Методы исследования: контент-анализ, систематизация и обобщение научной информа-ции, сравнительный анализ, библиографический метод. Кроме отобранных, в обзоре использованы 9 источни-ков, находящихся вне указанного периода или критериев включения, но имеющих принципиальное значение для изложения базовых принципов концепции TLA, либо необходимых для освещения актуальности автоматиза-ции и анализа процессов лаборатории.

Современное развитие систем TLA. Мы не рас-полагаем точными данными, какое количество систем TLA эксплуатируется в мире на данный момент. Со-гласно информации, представленной за 2016 год в еже-годном опросе, проводимом CAP Today (в настояще время не обновляется), за исключением гематологи-ческих систем, в клинических лабораториях по всему миру уже было установлено не менее 3800 таких авto-mатизированных комплексов. Следует учитывать, что и на тот момент эти данные, вероятно, были занижены, поскольку в опросе приняли участие не все поставщи-ки, не были включены некоммерческие системы [9]. По оценкам конца прошлого десятилетия, количество ла-bораторий в Италии, использующих субтотальную ав-toматизацию или TLA, составляло около 50%, в США почти 70% руководителей лабораторий внедрили или планировали внедрить крупные модели автоматизации [6]. В Корее в 2024 году системы TLA эксплуатирова-ли 115 учреждений. Они установлены в 77% больниц общего профиля третичного уровня (36 из 47), 18% больниц общего профиля (58 из 331) и 40% крупных коммерческих лабораторий и консультативно-диагно-стических центров (21 из 52) [10].

Мировыми лидерами продаж медицинских си-стем TLA считаются Abbott Laboratories (GLP systems Track), Beckman Coulter (DxA 5000 и Power Express), Roche (CCM), Siemens Healthineers (Aptio Automation), Thermo Fisher Scientific (TCAutomation). В 2022 году на их долю в совокупности приходилось около 93% доходов мирового рынка автоматизации лабора-tорий. Другими заметными игроками являются Becton Dickinson (BD Kiestra), IDS (IDS-CLAS X-1 Series) и

A&T (CLINILOG V4). Текущий размер мирового рын-ка систем TLA в 2023 году оценивался в 5,6-6,1 млрд. USD [10]. Среднегодовой его прирост на ближайшее десятилетие, по разным прогнозам, будет составлять 6,6-8,3% [11 - 14]. Ожидается, что Азиатско-Тихооке-анский регион будет расти самыми быстрыми темпами на мировом рынке лабораторной автоматизации [10]. Это отражается и в отчетливой тенденции к переходу инициативы в публикации исследований и наблюдений по тематике TLA к авторам стран Ближнего Востока и Юго-Восточной Азии, наблюдающейся в последние 5 лет [15 - 18]. Считается, что минимальные ежедневные объемы, оправдывающие установку и поддержку тако-го оборудования, составляют 1000 образцов в день [9].

Наибольшее распространение системы TLA получи-ли в области клинической химии и иммунохимии. Об-щепринятой схемой таких решений в настоящий момент является наличие ряда компонентов, решающих задачи всех этапов лабораторного исследований [5]. В преана-литическую станцию системы, как правило, входят:

– загрузочный модуль, оснащаемый балкерным устройством - отсеком, позволяющим насыпать туда неотсортированные пробирки;

– устройство сортировки или маршрутизации вы-сокого уровня (сортер), разделяющее образцы по типу пробирки или цвету крышки, или по информации, полученной при считывании штрих-кода, и направля-ющее их в транспортную систему или в предназначе-ные им зоны сортировки;

– модуль машинного зрения, определяющий состо-яние и качество образца: центрифужирован он или нет, достаточно ли биоматериала, есть ли подозрение на наличие факторов интерференции, таких как липемия, иктеричность, гемолиз (ЛН);

– автоматизированная центрифуга;

– устройство снятия крышек;

– аликовтирующий модуль, осуществляющий отбор аликовты во вторичную пробирку и ее штрихкодиро-вание;

– буферный участок для накопления отсортирован-ных образцов по штативам - зонам сортировки.

Преаналитическая станция имеет выход на треко-вую линию, транспортирующую образцы к анализа-торам. С точки зрения носителя образца большинство современных систем используют одиночные носители или конвейерные ленты. Системы с одним носителем обеспечивают точное отслеживание образца, но могут иметь ограниченную пропускную способность. Систе-мы конвейерных лент обеспечивают высокоскорост-ную транспортировку образцов, но могут быть менее гибкими для сложной маршрутизации. Решение Abbott iCAR сочетает в себе преимущества обеих систем, предлагаю независимую высокопроизводительную ин-дивидуальную маршрутизацию образцов. Однако для этого может потребоваться более сложная инфраструк-тура. Система Roche CCM переносит образцы в 5-мест-ных штативах, а не в отдельных транспортных носите-лях [10]. Преимущества применения той или иной транспортной схемы в настоящий момент не очевидны ввиду отсутствия примеров их независимого сравне-ния в разных лабораториях.

Системы TLA можно классифицировать в соот-ветствии с возможностями подключения анализато-

ров на «открытые» и «закрытые». Открытые системы, такие как Abbott GLP Systems Track и Siemens Aptio Automation, имеют возможность подключения различных приборов, производимых многочисленными компаниями. С закрытыми системами, такими как Roche CCM, могут быть использованы только определенные анализаторы, как правило, производства самой компании [10]. Для подключения аналитического оборудования к треку применяются разные решения. В некоторых конструкциях контейнер с образцом может быть роботизирован извлечен из транспортного носителя и перенесен в анализатор. В «закрытых» схемах TLA транспортный носитель отводится на боковую линию конвейера, которая фактически является частью анализатора. В одной из наиболее распространенных «открытых» схем контейнер останавливается в точном месте трека рядом с анализатором, а зонд для отбора проб последнего выходит за его пределы для аспирации образца. Это позволяет системам автоматизации взаимодействовать с анализаторами от разных поставщиков [5].

Трековая линия может иметь одностороннюю либо двунаправленную конструкцию. Это зависит от примененных постаналитических решений. Если трек заканчивается зоной выгрузки и не предусматривает автоматизированной системы хранения (архива), то используют первый вариант, как более простой. Двунаправленная конструкция линии позволяет автоматически вызывать образец из архива и подавать его обратно на анализаторы в случае необходимости выполнения дополнительных тестов (разведение, рефлекс-тесты, дополнительные назначения, выполнение ранее назначенных основных тестов после предварительного тестирования пробы на ЛН). С учётом приведённого выше, постаналитический этап в TLA может обеспечиваться следующими устройствами [5]:

- зона выгрузки образцов (в простейшем варианте, требуют далее ручного переноса для вторичной сортировки и архивирования);
 - сортер, выполняющий функцию вторичной сортировки проб для выполнения на других рабочих местах, отдельно стоящих анализаторах или архивирования тех образцов, которые полностью отработаны;
 - модуль повторного укупоривания архивируемых контейнеров, осуществляющий их закрытие крышками или запаивание алюминиевой фольгой;
 - роботизированная система хранения, охлаждаемый архив, где лаборатория может накапливать и сохранять образцы в течение установленного срока для возможных повторных или дополнительных тестов.

Все составляющие системы TLA имеют модульную конструкцию и могут быть масштабированы в зависимости от потока образцов в лаборатории.

Подключение к трековой линии анализаторов гемостаза носит дискутируемый характер с точки зрения целесообразности. Технически оно возможно, и не оказывает значимого влияния на качество результата исследования [19]. Однако преаналитическая стабильность коагулологических образцов в условиях централизации исследований, как правило, достигается замораживанием плазмы перед отправкой в удаленную лабораторию. В связи с этим обработка их происходит вручную, поскольку попадание замороженного образца в систему

TLA может привести к поломкам пробоотборника, неточному дозированию, неоднородности размороженной пробы. Предотвратить это могли бы системы инфракрасного определения температуры, которые можно было бы использовать и для перенаправления замороженных образцов в соответствующие робототехнические средства или в зону ожидания [20]. Автоматизированные системы для размораживания и перемешивания образцов, удаляющие образцы с трека, подающие высокоскоростной поток воздуха комнатной температуры в пробирки, смешивающие их и возвращающие на конвейер, уже разработаны и достаточно давно апробированы в отдельных лабораториях [21]. Применения в массовых решениях TLA они пока не нашли.

Гематологическое оборудование потенциально может быть подключено к трековой линии [6]. На практике оно обычно устанавливается обособленно. Общий анализ крови – самый распространенный тест в лабораториях [22], с чем связан традиционно большой поток таких образцов. Это может привести к перегрузке трека, если он одновременно работает и на клиническую химию. Гематологические образцы не нуждаются в сложной разветвленной маршрутизации, которую обеспечивает конвейерная линия, поскольку все тесты (главным образом, это общий анализ крови), заказанные из них, могут быть выполнены на одном и том же оборудовании – гематологическом анализаторе. Здесь более важна автоматизация последовательности этапов одного и того же исследования, когда на определенный процент образцов крови, после получения результатов с анализатора, автоматически назначается задача окраски и микроскопии мазка. Распространены решения в виде отдельно стоящей линии, эшелонировано объединяющей гематологические анализаторы со встроенными СОЭ-метрами, модули окраски мазков и их автоматизированный сканер [23]. Преаналитическая часть может быть реализована с использованием того же сортера, подключенного к TLA лаборатории, но с сортировкой этих пробирок в штатив, а не на трек.

Следующим реализованным направлением развития TLA стала медицинская микробиология. Комплексные решения для нее предлагают две компании: Becton Dickinson (BD Kiestra) и Copan (WASPLab) [24]. Типовая схема включает автоматизированный модуль первичного посева, трековую линию для транспортировки чашек Петри, инкубатор, оборудованные рабочие места врачей-микробиологов, позволяющие визуализировать рост колоний микроорганизмов в образцах [25].

Модули первичного посева микробиологических систем TLA способны использовать различные типы питательных сред, включая пробирки с бульоном, в дополнение к этому наносить на предметное стекло препараты для микроскопического исследования (окраски по Граму и др.). Они выполняют многочисленные этапы обработки: подбор необходимого количества и состава питательных сред для того или иного исследования, штрихкодирование чашек Петри, собственно посев, сопряженный с манипуляциями открытия и закрытия первичных контейнеров и засеваемых чашек Петри, дозирования жидкостей, распределения образца по поверхности питательной среды. Далее трековая линия осуществляет транспортировку инокулированных чашек в инкубатор, где автоматически поддерживают

ся стандартизованные условия температуры и времени инкубации [26].

Инкубаторы в системе TLA роботизированы, что позволяет перемещать чашки Петри внутри, чтобы к определенным из них в нужный момент можно было получить доступ, сфотографировать по требованию или вывести наружу. Модули fotosъемки часто примыкают к инкубатору или являются его компонентом, что означает, что чашки удаляются из термостата только на короткий период. Система визуализации высокого разрешения обеспечивает получение цифровых изображений через точно заданные промежутки времени [26]. ПО включает алгоритмы, способные интерпретировать цифровые изображения самостоятельно и разделять положительные и отрицательные культуры, сигнализируя о росте [24].

Системы TLA в микробиологии могут полностью обеспечивать этап первичного посева. Для других эта-

пов существует отдельно устанавливаемое оборудование, позволяющее автоматизировать пробоподготовку к идентификации микроорганизмов методом масс-спектрометрии (подготовка инокулема МакФарланда) или выполняющее полный цикл постановки чувствительности к антибактериальным препаратам.

Эффекты внедрения TLA. Использование TLA представляет лаборатории возможности комплексного повышения эффективности своей работы и дальнейшего развития. Сочетание и величина тех или иных положительных эффектов зависит от области автоматизируемых исследований, примененной системы автоматизации и ее конфигурации, исходного оснащения лаборатории до автоматизации, существующих особенностей технологических и трудовых процессов, методологии оценки. Классификация эффектов TLA представлена в табл. 1.

Классификация эффектов TLA

Таблица 1

Классификатор	Эффекты
Операционная деятельность	<ul style="list-style-type: none">Повышение производительности трудаУменьшение объема ручного трудаОптимизация пространства лабораторииВозможность масштабирования, изменения конфигурацииРасширение линейки тестовСокращение времени выполнения исследований
Качество	<ul style="list-style-type: none">Сокращение человеческих ошибокСтандартизация процессов исследованияКонтроль качества в режиме реального времениПерераспределение трудовых ресурсов в область управления качеством
Эргономика	<ul style="list-style-type: none">Уменьшение физической нагрузки на персоналСнижение профессионального выгоранияПовышение безопасности при работе с биоматериалом
Экономика	<ul style="list-style-type: none">Инвестиционная эффективностьСнижение себестоимости тестовСокращение расходов на персонал
Кадровая политика	<ul style="list-style-type: none">Оптимизация штатного расписанияСнижение потребности в поиске и найме персонала
Информационные технологии	<ul style="list-style-type: none">Полная интеграция с ЛИСАвтоматическая валидация, генерация лабораторных отчетовВозможность удаленной работы персонала: мониторинга, администрирования, валидации
Клиническая деятельность	<ul style="list-style-type: none">Быстрое получение результатовВысокое качество диагностики
Научно-исследовательская деятельность	<ul style="list-style-type: none">Стандартизация научных протоколовВоспроизводимость экспериментов

TLA снижает трудозатраты и повышает производительность труда персонала, в полной мере этот эффект проявляется в клинической химии [8, 27]. Автоматизация этой области действительно сокращает потребность в рабочей силе [17, 18], позволяет многократно нарастить объемы выполняемых исследований и расширить линейку выполняемых тестов без увеличения штата сотрудников [15, 34]. При эксплуатации микробиологических систем TLA об эффекте увеличения производительности труда иногда сообщают [28], либо высказываются о его возможности в предположительном тоне [26], некоторые работы указывают и на его отсутствие, ставя под сомнение реальную достижимость характеристик, заявленных производителем [29]. В последнем случае справедливо (это соответствует и нашему собственному опыту) указано на такой лимитирующий фактор, как недостаточная производительность

самого оборудования - модуля первичного посева.

Сокращение трудозатрат при использовании TLA имеет два положительных следствия. Во-первых, отпадает необходимость поиска и найма нового лабораторного персонала. Это само по себе проблема, поскольку в последние годы многие страны столкнулись с нехваткой квалифицированных специалистов лабораторий [30], которая, как ожидается, усилится в течение следующего десятилетия [17]. Во-вторых, потенциально достижим эффект экономии за счет фонда оплаты труда, величина которой в развитых странах весьма существенна и уравновешивает затраты на амортизацию установленного оборудования, через несколько лет приводя к его окупаемости [7, 25, 31].

Достигаемый эффект оптимизации пространства лаборатории непосредственно связан с повышением производительности и уменьшением потребности в

сотрудниках [27], поскольку и то и другое позволяет более продуктивно использовать имеющиеся площади. Современные системы TLA могут быть конфигурированы с учетом планировки, что позволяет лабораториям максимально эффективно использовать доступное место. В условиях ограниченного пространства лаборатории могут повысить свою производительность без существенного физического расширения, добавив модульные анализаторы или заменив их на более производительные, а автоматизированный трек установить вдоль потолка [10].

Следующим важным эффектом внедрения TLA является сокращение лабораторного ТАТ - времени от поступления образца в преаналитическую обработку до авторизации результата. Многие авторы указывают на уменьшение медианного или среднего значений этого показателя, снижение его статистического разброса, уменьшение процента тестов, не укладывающихся в заданные временные рамки (*outlier percentage, OP*) [16, 32, 33]. Как и предыдущий, этот эффект однозначно прослеживается при применении автоматизированных решений в клинической химии. Наиболее существенные абсолютные сдвиги продемонстрированы в одной из работ в отношении иммунохимических исследований: среднее значение ТАТ сократилось на 41 мин, 99-й перцентиль ТАТ - на 201 мин. Общее улучшение показателей для всех тестов при этом составило: среднее значение ТАТ - на 4,5 мин, 99-й перцентиль ТАТ - на 35 мин [7]. Это может свидетельствовать не только о достижении большей скорости и равномерности перемещения образцов по автоматизированной линии в сравнении с ручным их переносом между оборудованием, но и об оптимизации нагрузки за счет автоматизированного перераспределения проб на наименее загруженные в данный момент модули (устранение эффекта «бутылочных горлышек», наиболее присущих иммунохимическому оборудованию в силу его меньшей производительности и более долгого протокола исследования). Впрочем, существует мнение, что лаборатории с эффективно выстроенным исходными процессами вряд ли продемонстрируют значительное снижение ТАТ при переходе к их автоматизации, скорее, они получат устойчиво хорошие, стабильные показатели [34]. В некоторых случаях положительный сдвиг ТАТ отмечали лишь для анализа образцов в плановом режиме [31], а для срочных тестов он, напротив, увеличивался [35].

Микробиологические системы TLA способны статистически значимо снижать ТАТ [36], ускоряя выдачу результатов для ряда исследований на целые сутки [24, 37]. Это связано как с регулярной цифровой визуализацией чашек, что позволяет вовремя отметить рост микроорганизмов, так и с автоматизированным контролем времени инкубации, дающим возможность получить отрицательный результат без задержек. Одни авторы отмечают изолированное улучшение ТАТ для отрицательных образцов, другие, напротив, для положительных. Ускорение получения отрицательных результатов обеспечено их автоматической валидацией, то есть они могли быть выданы непосредственно в то время суток, когда система окончательно фиксировала отсутствие признаков роста. Но положительные образцы при этом ожидали времени прихода персонала в лабораторию [37]. На примере, когда ТАТ оказался

улучшен для положительных результатов, дневной график работы сотрудников лаборатории и время считывания изображений чашек были синхронизированы, что позволяло оперативнее брать в работу образцы с ростом [38]. Но отсутствие алгоритма валидации отрицательных результатов в нерабочее время, очевидно, не позволяло сократить ТАТ для них. Это примеры того, как автоматизированные, но неэффективно организованные процессы не позволяют реализовывать все возможности установленного оборудования. Оптимальное использование систем TLA требует от микробиологической лаборатории перехода на круглосуточный график работы, совмещенный с внедрением алгоритмов автоматической валидации [28].

Положительными эффектами TLA является то, что она стандартизует процедуры [39], снижает количество ошибок, приходящихся на этапы ручного труда, и перераспределяет освободившуюся квалифицированную рабочую силу в пользу видов деятельности с добавленной стоимостью, таких как контроль и обеспечение качества исследований [7, 34]. Установка правил принятия решений на основе определенных критериев позволяет проводить автоматическую проверку данных, повторный анализ образцов с подозрительными результатами, назначать рефлекс-тесты, тем самым способствуя повышению качества и безопасности диагностических тестов [40]. Улучшается прослеживаемость всех процессов, которым подвергалась проба, с момента доставки в лабораторию до ее архивации [6]. В микробиологии использование систем TLA ведет к лучшей высеиваемости микроорганизмов из образцов, содержащих полимикробные ассоциации, и обеспечивает более высокое и стандартизованное качество изоляции колоний, чем ручной метод, независимо от опыта сотрудника [29]. Консолидация разных этапов и методов исследования в единой системе TLA требует меньших усилий для разработки и обновления стандартных операционных процедур: может быть достаточно одного документа вместо нескольких разных для преаналитического и постаналитического этапов обработки образцов и для аналитического этапа работы на каждом из анализаторов [6].

Безопасность работников является одним из преимуществ автоматизации. Системы TLA не только удаляют операторов с рабочего места, но и защищают их от рисков контакта с биоматериалом [6, 7].

Риски и ограничения TLA. Систематизированное описание рисков является основой для управления ими. Мы проанализировали риски, приведенные в современных работах [5, 6, 10, 34, 40], и обобщили наиболее вероятные из них в табл. 2.

Основное ограничение текущей модели TLA удачно сформулировали C. Ialongo и S. Bernardini [41]. Оно состоит в гибридной эксплуатации самой концепции «полной автоматизации». Фактически, независимо от размера и внутренней организации, система TLA задумана для выполнения в большем масштабе стандартной работы обычного многоканального автоматического анализатора, которая просто расширена на преаналитику и постаналитику. Тем не менее, она не может делать ничего, кроме как следовать спискам правил, разработанных людьми, чтобы управлять тем, что уже запланировано и предусмотрено. Например, в

Таблица 2

Анализ и управление распространенными рисками TLA

Риск	Причина его наступления	Меры предотвращения
Риск простой в результате отказа лаборатории системы	<ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Плохая или несвоевременная техническая поддержка; <input type="checkbox"/> Недостаточная компетенция пользователей; <input type="checkbox"/> Сокращение численности сотрудников; <input type="checkbox"/> Утрата навыков ручного труда; <input type="checkbox"/> Высокая сложность системы 	<ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Собственная инженерная служба, заключение договоров техподдержки, доступность сервисного инженера в любое время; <input type="checkbox"/> Программы обучения для пользователей, в том числе новых; <input type="checkbox"/> Определение порядка, учета и компенсации сверхурочной работы; <input type="checkbox"/> Документирование процедур ручного труда в условиях неработающей автоматизации; <input type="checkbox"/> Обоснованный и взвешенный выбор модели автоматизации
Задержки выполнения исследований	<ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Не определены приоритетные категории образцов и требования ТАТ для них; <input type="checkbox"/> Нет реальной картины процессов в лаборатории; <input type="checkbox"/> Не определены правила обработки срочных образцов; <input type="checkbox"/> Не осуществляется контроль эффективности работы системы; <input type="checkbox"/> Формирование узких мест, снижающих производительность системы; <input type="checkbox"/> Производительность оборудования не соответствует потоку образцов и количеству исследований 	<ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Определение приоритетных категорий образцов (срочные, плановые и т.д.) и требований ТАТ для каждой; <input type="checkbox"/> Анализ производственного и трудового процессов в лаборатории; <input type="checkbox"/> Документирование правил обработки срочных образцов (оперативно, но не в ущерб плановым); <input type="checkbox"/> Определение метрик для оценки эффективности работы системы; <input type="checkbox"/> Периодический анализ эффективности (загруженности и производительности участков и модулей) работы системы, принятие мер коррекции; <input type="checkbox"/> Замена оборудования или отдельных его модулей на более производительные.
«Неэффективная» автоматизация (не оправдала исходных представлений)	<ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Неясные цели или ожидания от автоматизации; <input type="checkbox"/> Отсутствие всестороннего анализа рабочих процессов, сформулированных задач и целей со стороны лаборатории; <input type="checkbox"/> Автоматизация исходно неоптимизированных процессов; <input type="checkbox"/> Передача инициативы, функций анализа и принятия решения представителям поставщика; <input type="checkbox"/> Неправильный выбор модели или конфигурации оборудования; <input type="checkbox"/> Заведомо нереалистичные ожидания от системы 	<ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Понимание целей, возможностей, ограничений автоматизации; <input type="checkbox"/> Всесторонний анализ рабочих процессов до автоматизации; <input type="checkbox"/> Внедрение процессов бережливого производства до автоматизации <input type="checkbox"/> Анализ, постановка задач, формулировка целей автоматизации выполняется компетентными представителями (руководством) лаборатории; <input type="checkbox"/> Неукоснительное следование принципу «лаборатория диктует свои правила поставщику», а не наоборот; <input type="checkbox"/> Обоснованный и взвешенный выбор модели автоматизации
Неполная реализация возможностей оборудования в имеющемся помещении	<ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Не соблюдены оптимальные требования к физическому пространству, планировке и инфраструктуре (электроснабжение, водоснабжение, водоотведение, вентиляция, сетевые коммуникации); <input type="checkbox"/> Инфраструктура здания старая; <input type="checkbox"/> Планировка помещения / здания не соответствует требованиям современной лаборатории 	<ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Тщательное изучение существующей инфраструктуры и проектной документации здания на соответствие требованиям выбранного решения TLA; <input type="checkbox"/> Моделирование выбранной конфигурации TLA в имеющемся пространстве и инфраструктуре; <input type="checkbox"/> Перепланировка и модернизация инфраструктуры помещения исходя из требований системы TLA; <input type="checkbox"/> Выбор или создание подходящего помещения (переезд, капитальный ремонт), а не попытка установить систему TLA в то, которое есть
Не прогнозированное увеличение финансового бремени, скрытые затраты	<ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Не учтены капитальные затраты; <input type="checkbox"/> Не учтены затраты на специфические расходные материалы / реагенты для эксплуатации; <input type="checkbox"/> Неадекватные ожидания относительно изменения трудозатрат, потребности в штате, затрат на оплату труда; <input type="checkbox"/> Не учтены условия техподдержки со стороны поставщика (обслуживание, ремонт) 	<ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Исходная оценка капитальных затрат на ремонт здания и модернизацию инфраструктуры; <input type="checkbox"/> Разработка технологических карт исследований для оборудования, планируемого к установке; <input type="checkbox"/> Анализ трудового процесса, моделирование трудозатрат до и после автоматизации, нормирование труда; <input type="checkbox"/> Заключение долговременных контрактов на обслуживание, включение техподдержки в условия аренды
Переход лаборатории в фактическое управление поставщиком	<ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Полная приверженность одному поставщику; <input type="checkbox"/> Использование закрытых систем TLA; <input type="checkbox"/> Передача инициативы, функций анализа и принятия решения представителям поставщика 	<ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Диверсификация используемого оборудования; <input type="checkbox"/> Использование открытых систем TLA; <input type="checkbox"/> Анализ, постановка задач, формулировка целей автоматизации выполняется компетентными представителями (руководством) лаборатории; <input type="checkbox"/> Контроль деятельности поставщика со стороны лаборатории
Психологическое сопротивление персонала	<ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Неосведомленность персонала о работе с системой TLA и психологическое сопротивление потере практического контроля маршрутизации образцов 	<ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Поддержка и обучение персонала для принятия им новой системы
Информационные атаки и потеря данных	<ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Слабое администрирование в области информационных технологий (IT); <input type="checkbox"/> Использование незащищенных каналов передачи данных 	<ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Наличие собственной IT-службы; <input type="checkbox"/> Использование защищенных каналов передачи данных

отличие от любого среднего лаборанта, система не может автономно адаптировать поток выполняемых ею операций, чтобы минимизировать задержки и восстанавливаться после простоев. TLA выглядит как левиафан с элементарным поведением, хоть и способный справляться с большим потоком образцов, но только тем образом, что сам он при этом обязан расти все больше, а как следствие, становиться «эволюционно» дорогостоящим [41]. Ситуация получила тенденцию к изменению с внедрением нового поколения программ middleware. Roche Diagnostics в 2025 году приступила к переводу своих систем TLA в Российской Федерации на новое ПО «Cobas Infinity». Разработчики анонсируют динамическую маршрутизацию образцов в режиме реального времени, учитывающую сервисные работы, загрузку приборов, время суток, обещают повышение прогнозируемости и сокращение времени выдачи результатов. Проанализировать и оценить эффективность этого решения можно будет только после накопления опыта реальной эксплуатации.

Конфигурация системы TLA выбирается на этапе ее инсталляции, внесение каких-либо изменений сопряжено со сложными инженерными работами, занимающими длительное время, что препятствует ее гибкости в меняющихся потребностях лаборатории. До сих пор мы лишь интуитивно определяем порядок расположения и формируем модульный состав оборудования, задаваясь вопросом: что лучше, установить гибридные линии анализаторов (биохимия + иммунохимия) или последовательно стоящие, биохимические и иммунохимические? Сама же система, хоть и имеет собственное ПО, не способна в настоящий момент интеллектуально так анализировать свою работу, чтобы предлагать эволюционное изменение своей конфигурации: размещение тех или иных модулей друг относительно друга или в порядке движения по треку, с точки зрения более эффективной маршрутизации образцов. Она не может подсказывать оператору, какие методики следует инсталлировать на одних анализаторах. Как следствие, мы калибуем те или иные методики на одном или соседних модулях исходя из нашего академического представления о природе и классификации анализаторов (линейки онкомаркеров, гормонов, инфекционных маркеров), но не учитываем реальное вероятностное и многомерное сочетание тестов в образце, которое основывается на медицинском или коммерческом их использовании. Вследствие этого возникает регулярная необходимость вмешательства человека, например мониторинга оптимального размещения тестов на линиях модулей.

Другим ограничением TLA является невозможность использования оборудования для всего разнообразия образцов, включая капиллярные пробирки, нестандартные контейнеры или пробы, требующие специального обращения, например, для тестирования на микроэлементы или посевов крови [10]. Этот факт не позволяет полностью избавиться от процессов ручного труда и необходимости установки альтернативного оборудования [23]. Как следствие, полная автоматизация лабораторий фактически носит частный характер.

Возможности машинного зрения, рассматриваемые в настоящий момент, как преимущества TLA, на самом деле обладают ограничениями. Эта универсальная функция используется, среди прочих задач оценки

состояния и качества образца, и для первичного отсеява проб, подозрительных на LIH. Пиксельный анализ изображения образца дает возможность оценивать только цвет сыворотки крови. Это позволяет хорошо отсортировывать пробы с возможным гемолизом, имеющие красноватый оттенок. Однако липемия (за исключением выраженной, сливкообразной) проявляется изменением не цвета, а прозрачности, светорассеяния образца, что недоступно определению по фотографии. По нашим наблюдениям, использование машинного зрения малоэффективно в выявлении слабо выраженной липемии и нередко путает с ней идеально прозрачную сыворотку, сфотографированную на фоне белесой этикетки пробирки.

Особенности применения TLA в Российской Федерации. Автоматизация лабораторий в России развивается преимущественно на основе практического опыта отдельных организаций, без сформированного экспертного мнения. Отсутствуют специализированные рабочие группы по вопросам TLA в составе профессиональных организаций, нормативные документы и рекомендации, систематизированные аналитические материалы, публикации с оценкой эффективности внедрения автоматизированных решений. Это создает сложности для определения единых подходов к автоматизации лабораторных процессов. Для сравнения, за рубежом существует целый ряд документов CLSI, обновляемых и не утративших своей актуальности, стандартизирующих такие аспекты, как конфигурация и взаимосвязь трека и анализаторов в части электромеханического интерфейса, безопасность его эксплуатации [42], электронный обмен данными между автоматизированными лабораторными элементами [43], разработка, внедрение, проверка и настройка алгоритмов и правил автоверификации, автоматизированная доставка высокоприоритетных результатов [44] и др.

Проблема формирования экспертного мнения во многом обусловлена ограниченным взаимодействием между образовательной, научной и практической сферами. Программы подготовки специалистов лабораторий, включая управленческое звено, не отражают актуальные технологические тенденции современных лабораторий. Это связано с тем, что профессорско-преподавательский состав зачастую не имеет регулярного доступа в автоматизированные лаборатории и не обладает актуальным практическим опытом. Как следствие, лаборатории (особенно коммерческие), внедряющие или использующие системы TLA, сталкиваются с дефицитом специалистов, способных анализировать и принимать обоснованные решения в этой области. У лабораторий недостаточно ресурсов и отсутствует мотивация для систематизации и публикации накопленного опыта. Это ограничивает передачу практических знаний в академическую среду, где они могли бы быть обобщены, критически проанализированы и интегрированы в образовательные программы для подготовки кадров.

Отсутствие экспертной оценки создает ситуацию, в которой решения об автоматизации лаборатории могут носить не вполне рациональный характер, подходы - быть не объективными, результаты - вариабельными. Иногда закупка оборудования осуществляется, как часть программы переоснащения медицины, в рамках освоения выделенных бюджетных средств. В других

случаях, решение может быть принято руководителем организации единолично, на основе собственных представлений и приоритетов. Ключевым фактором при выборе нередко становятся технологические предложения поставщиков оборудования. Сложившаяся практика предполагает преимущественное участие представителей подрядной организации, экспертов «от поставщиков» на всех этапах проекта - от анализа лабораторных процессов и формулировки целей до разработки технического задания и окончательного принятия решений. Такой подход, при отсутствии независимой экспертной оценки, как правило, не учитывает реальных потребностей лаборатории, затрудняет адекватный анализ потенциальных рисков автоматизации и применение объективных критериев эффективности внедрения. Отдельного рассмотрения заслуживает уровень качества услуг со стороны некоторых поставщиков, что отражает общую тенденцию дефицита специалистов экспертного уровня в области лабораторного консалтинга.

Важным вопросом TLA является окупаемость инвестиций в нее за счет экономии фонда оплаты труда. С экономической точки зрения, хоть и весьма обще, суть автоматизации можно определить, как обмен подвергшихся сокращению переменных трудозатрат персонала на возникшие постоянные затраты на амортизацию оборудования. В зарубежных условиях потенциальные сроки окупаемости инвестиций оцениваются в 5-7 лет [7, 25]. Достигнутая экономия трудозатрат соответствует 3-5 полным ставкам (full-time equivalent, FTE) для эксплуатации систем TLA в области клинической химии [7, 27] и 2 ставкам в микробиологии [25]. Расходы на оплату труда для 1 усреднённой ставки сотрудника, указанные в этих работах или рассчитанные нами, исходя из представленных в них данных, находились в диапазоне 77 800-86 200 USD в год [7, 27], или в разбивке по категориям, 52 650 USD для ставки техника, 91 000 USD для ставки биолога [25]. Очевидно, что в Российской Федерации, при существующем уровне заработной платы лабораторных специалистов и обычном сроке эксплуатации лабораторного оборудования, составляющем 10 лет, инвестиции в TLA напрямую не окупятся. Об отрицательном экономическом эффекте автоматизации в условиях низкой стоимости труда квалифицированного персонала в Российской Федерации, мы делали вывод и ранее [3]. Это не отменяет важности других положительных эффектов TLA, рассмотренных выше. Россия, подобно другим странам, испытывает существенный дефицит профессиональных кадров, что делает жизненно важным само по себе сокращение потребности в их поиске и найме. В этом разрезе, автоматизация лабораторий представляет собой не только технологическое, но и кадровое решение проблемы дефицита специалистов.

Системы TLA весьма чувствительны к использованию оригинальных или стандартизованных качественных расходных материалов. Модуль первичного посева в микробиологии может хуже работать с питательными средами, приготовленными и разлитыми в лаборатории, в сравнении с готовыми коммерческими питательными средами в чашках Петри. Это связано с наличием неровностей и дефектов на поверхности агара, нарушающих движения магнитного шарика при посеве. Такие кажущиеся мелочи, как качество геля в сывороточных

пробирках, подходящие наклейки со штрих-кодами, оригинальные наконечники, могут оказаться критическими для безостановочной работы TLA. Аликвотирующий модуль будет требовать для безотказного функционирования не просто стандартные вторичные пробирки, а пробирки, плотно уложенные одна к одной и ориентированные в едином направлении, что обеспечивается их укладкой именно в оригинальной упаковке. Все это может являться проблемой, поскольку на практике многие отечественные лаборатории, даже закупив дорогую технику, сталкиваются с необходимостью экономить на расходных материалах, используя более дешевые или доступные «аналоги».

Сложным аспектом в Российской Федерации представляется организация и осуществление своевременной и полной технической поддержки эксплуатируемых систем TLA. Речь идет даже не о желании сэкономить на договорах обслуживания и ремонта, хотя и это, к сожалению, рядовая ситуация. В последние годы усложнилась сама возможность организации техобслуживания. Это выражается в более длительных и сложных цепочках поставки оборудования и запчастей, локализацией технической поддержки за пределами Российской Федерации, непосредственным оттоком инженерных кадров. Ситуация выглядит для пользователя из лаборатории, как резкое и чувствительное ухудшение качества обслуживания и текущей модернизации сложной техники.

Развитие систем TLA выражается в непрерывном совершенствовании их возможностей: обновлении модульного состава, появлении более сложных конфигураций, совершенствовании ПО, добавлении новых методик исследования, вводе более экономичных упаковок реагентов. Все эти новшества требуют регистрационных действий со стороны регулирующих органов, поскольку касаются медицинских изделий. В России это происходит медленно, сталкивается с бюрократическими проволочками, что определяет техническое отставание в сравнении с зарубежным уровнем, как минимум, на несколько лет.

Несмотря на активное вовлечение лабораторий Российской Федерации в установку и использование систем TLA, существующие особенности национальной автоматизации создают предпосылки для наступления большинства рисков, приведенных в предыдущем разделе. Практический опыт российских лабораторных специалистов в области эксплуатации таких систем и выстраивания сопутствующих технологических и трудовых процессов ничуть не менее актуален и ценен, чем у их зарубежных коллег. Для осмыслиения этого опыта требуется устраниить разрыв между практикой и теорией путем развития устойчивых механизмов взаимодействия между практическими лабораториями, образовательными и научными организациями, что позволит появиться экспертному мнению в сообществе и даст толчок разработке нормативных документов, совершенствованию профессиональной подготовки кадров, развитию отрасли в целом.

Контроль и управление эффективностью автоматизации. Неэффективность проектов автоматизации обусловлена, как считается, двумя критическими факторами: неумением адекватно оценить реальные потребности лаборатории и неспособностью всесто-

ронне проанализировать текущее состояние рабочих процессов. Помимо чаяний роста бизнеса и ожиданий клиентов, лаборатория должна изучить текущие рабочие процессы от поступления образцов пациентов до завершения тестирования, предоставления результатов и утилизации образцов. Процессы можно картировать с точки зрения потоков образцов, потоков информации (данных), потока действий трудового процесса, материальных потоков (управление ресурсами) [5]. Первые три из них напрямую взаимосвязаны, их комплексная оценка может показать, где впustую затрачивают труд, что является узкими местами, в чем могут заключаться источники ошибок. Карта рабочего процесса позволяет лаборатории лучше определить, какие шаги следует автоматизировать [9]. Поскольку создание ее требует всестороннего понимания ситуации, на наш взгляд, хорошим подходом здесь будет исходное проведение фотохронометража, в процессе которого будет не только сформирован перечень стандартных трудовых манипуляций и определена взаимосвязь каждой из них с потоками образцов и данных, возможно даже выявлена избыточность каких-либо действий [23], но и получена количественная оценка трудозатрат, позволяющая смоделировать эффект планируемой автоматизации [3].

Поставщики решений по автоматизации тоже могут предоставить карту рабочего процесса как часть своего предложения. Но без независимо проведенного картирования лаборатории будет сложно выбирать между предложениями поставщиков или знать, верны ли их выводы. Возможность достичь значительного прогресса без крупных инвестиций в автоматизацию, просто за счет оптимизации, является второй причиной для тщательного изучения рабочего процесса лаборатории. Важно сосредоточиться на реальных потребностях, определенных картой рабочего процесса, и не позволять поставщику продать ненужное оборудование [5].

Картирование рабочего процесса настоятельно рекомендуется дополнять количественными метриками для оценки эффективности, позволяющими объективно определить, были ли достигнуты первоначальные цели автоматизации, и, в дальнейшем, проводить мониторинг в целях коррекции и улучшения. Целесообразно определить и внедрить их до автоматизации, чтобы иметь исходные критерии для сравнения [5, 35]. В рамках настоящего исследования проанализированы современные работы, посвященные оценке эффективности внедрения систем TLA, обобщены и классифицированы метрики, использованные в них (табл. 3).

Оценка эффективности процессов в лаборатории не оканчивается после внедрения автоматизации. Регулярный мониторинг - залог постоянного улучшения. Лаборатория должна определить для себя индикаторы, как организационного, так и технического характера, и пользоваться ими в процессе периодического контроля. Часть приведенных в табл. 3 метрик может служить этой цели. На наш взгляд, в первую очередь, должны использоваться показатели ТАТ.

Лабораторное ТАТ для большей информативности может быть разграничено на отдельно оцениваемые участки: «преаналитическое» (от регистрации до сканирования образца на первом, по ходу его маршрута, анализаторе), «аналитическое» (от первого сканирования на анализаторе до передачи в ЛИС результата тес-

ста) и «постаналитическое» (от передачи до авторизации результата). Это важно, учитывая сложную структуру систем TLA, включающую преаналитическую станцию и трек, собственно аналитические модули, управляющее ПО с возможностью автоматического назначения разведений, рефлекс-тестов, автовалидации результатов.

ТАТ зависит от производительности оборудования, особенно от наличия узких мест. Пропускные возможности системы TLA зависят от степени загруженности определенных ее участков и лимитируются производительностью отдельных модулей, входящих в ее состав. Если какая-либо методика с высоким потоком тестов инсталлирована на единственном анализаторе, она будет создавать эффект «бутылочного горлышка», замедляя выполнение не только этого, но и других исследований. В свете этого, необходимо проводить мониторинг распределения методик по модулям системы, с анализом нагрузки на каждый, и принимать решения о коррекции - масштабировании или переносе части из них. Не лишним будет проанализировать реальное вероятностное сочетание разных тестов в одном образце, создав матрицу их совпадений, и использовать ее в принятии решений, какие из методик располагать рядом друг с другом.

Существенным моментом управления эффективностью является доступность проведения мониторинга, технические возможности к его быстрой реализации. Для этого необходимо обеспечить прослеживаемость всех этапов движения образца, разработать на этой основе шаблоны выгрузок информации, а лучше - автоматизированные отчеты, содержащие необходимые индикаторы, их динамику, целевые значения. По результатам таких отчетов должны быть определены и реализуемы меры коррекции и постоянного улучшения.

Перспективы развития TLA. Зарубежные эксперты считают, что в ближайшем будущем TLA будет развиваться в парадигме «Индустрии 4.0» [40]. Автоматизация и электроника уже достигли столь значительных высот, что единственным путем дальнейшего расширения возможностей, по-видимому, становятся информационные технологии, в частности искусственный интеллект. Это позволит функционально развивать TLA в сторону чего-то гибкого и адаптируемого, более эффективного и способного экономить ресурсы. Суть автоматизации «4.0» заключается в сопряжении искусственного зондирования с интеллектуальными сетями в так называемой киберфизической системе, где устройства будут не просто следовать правилам, а смогут индивидуально «чувствовать» оперативную среду, взаимодействовать, демонстрировать адаптивное поведение. Это поможет оптимизировать схемы работы оборудования, чтобы избежать узких мест, планировать обслуживание, чтобы предотвратить простой, адаптивно управлять образцами и качеством [41].

Мы видим несколько стратегических направлений для преодоления ограничений TLA, в целом, и решения проблем, выделенных нами для российских реалий, в частности.

Технологические решения:

– создание модульных систем с гибкой конфигурацией и адаптивным поведением, управляемых искусственным интеллектом;

Таблица 3

Метрики эффективности, использованные в проанализированных работах, классифицированные по основным оцениваемым эффектам TLA

Эффект TLA	Метрика эффективности, единицы измерения	Комментарии по использованию
Сокращение TAT	• Медиана TAT, в минутах;	Общая оценка лабораторного TAT от регистрации образца до выдачи результата;
	• Среднее значение TAT, в минутах [5, 7, 16, 18, 27, 32, 33, 35 - 37];	
	• 90-й (99-й) перцентиль TAT, в минутах [5, 7, 16, 18, 27, 32, 33];	Оценка влияния узких мест или отдельных, не оптимизированных процессов
	• Дисперсия TAT (SD TAT), в минутах [18, 33];	Оценка стабильности достигаемого TAT
	• Коэффициент вариации TAT (CV TAT), в % [7]	
	• Процент результатов, вылетающих из целевого значения TAT (outlier percentage, OP), % от общего числа [18, 32, 33, 35]	Оценка вероятности несвоевременного получения результата
Сокращение трудозатрат / Повышение безопасности персонала	• Медиана/межквартильный размах времени ожидания регистрации образца, в минутах [35]	Оценка продолжительности части преаналитического этапа от физического поступления образца в лабораторию до регистрации его в ЛИС
	• Зафиксированные простой оборудования, в часах за календарный период[35]	Оценка фактора, влияющего на TAT
Сокращение трудозатрат	• Количество касаний пробирки (tube touch moment, TTM), в абсолютном выражении [7, 18, 35, 39]	Оценка количественного состава трудовых манипуляций по обработке 1 пробы биоматериала. Средневзвешенную величину TTM рассчитывают, исходя из количественного сочетания в общем потоке проб с разными процессами обработки.
	• Переменные трудозатраты на работу с пробой биоматериала (manipulation tube time), в секундах [35, 45]	Оценка продолжительности обработки пробы биоматериала. Может быть выражена в виде удельных переменных трудозатрат на 1 пробу (в том числе, в виде средневзвешенного значения для разных проб)
	• Постоянные трудозатраты на обслуживание рабочего места (engagement time), в секундах (или в часах) за календарный период [35, 45]	Оценка продолжительности всех ежедневных и периодических взаимодействий персонала с оборудованием (включение/выключение, загрузка реагентами, калибровки, контроль качества, обслуживание)
Повышение производительности труда	• Средняя дистанция, пройденная сотрудником в день, в метрах;	Оценка эргономики рабочих мест и пространства. Для замеров целесообразно использовать носимые устройства с шагомером
	• Отношение суммарной дистанции, пройденной сотрудниками смены к количеству выполненных тестов, в метрах на 1 тест [35]	
Оптимизация пространства	• Экономия труда, в ставках [18, 27]	Оценка снижения потребности в персонале (по рабочим местам или суммарно для лаборатории). Требует нормирования труда
	• Производительность труда, в тестах на 1 ставку [3, 5, 18]	Оценка количества тестов, выполняемого силами 1 ставки персонала за календарный период
Сокращение ошибок	• Занятая рабочими местами площадь, в метрах квадратных [27, 35]	Оценка эффективности использования пространства лаборатории
	• Доля тестов, требующих выполнения на отдельно стоящем оборудовании, в % от общего числа [35]	Оценка эффективности использования оборудования
	• Число ошибок преаналитического этапа, в относительном выражении к общему количеству образцов за календарный период [5, 16]	Оценка числа ошибок, выполняется на 100 тыс. или 1 млн. образцов; альтернативно может применяться сигмаметрия
	• Число ошибок аналитического и постаналитического этапов, в относительном выражении к общему количеству тестов за календарный период [5, 16]	Оценка числа ошибок, выполняется на 100 тыс. или 1 млн тестов; альтернативно может применяться сигмаметрия

– развитие методов структурированной обработки и анализа данных, построение на них машинного обучения, предиктивной аналитики;
 – внедрение искусственного интеллекта для распознавания и сортировки образцов;
 – разработка универсальных адаптеров для нестандартных пробирок;
 – разработка роботизированных систем с расширенными манипуляционными возможностями;
 – проектирование мультиформатных загрузочных устройств;
 – комбинация систем машинного зрения с фотоме-

трическим (турбидиметрическим или нефелометрическим) скринингом образцов.

Методологические подходы:

- стандартизация контейнеров и протоколов пробоподготовки;
- разработка унифицированных технических регламентов;
- создание методических рекомендаций по адаптации различных типов проб;
- развитие меж- и внутрилабораторных коммуникаций;

Организационные мероприятия:

- обеспечение взаимодействия образовательных учреждений и научных организаций с лабораториями для трансфера знаний и наблюдений в области эксплуатации систем TLA;
- создание экспертных рабочих групп для систематизации опыта использования TLA и разработки необходимых стандартов и рекомендаций;
- включение вопросов лабораторной автоматизации в программы подготовки профессиональных кадров;
- государственное стимулирование инновационных разработок;
- международная научная кооперация.

Эффективная реализация проекта автоматизации лабораторных процессов требует комплексного мультидисциплинарного подхода с участием учёных, преподавателей, инженеров, медиков, программистов и организаторов здравоохранения.

Выводы:

1. Концепция TLA объединяет современные комплексные решения, применимые к различным типам лабораторий и областям клинической лабораторной диагностики, включая клиническую химию, иммунохимию, микробиологию, гематологию.
2. Внедрение систем TLA обеспечивает такие преимущества, как повышение производительности труда, сокращение времени и стандартизация процессов выполнения исследований, минимизация ошибок, улучшение эргономики и безопасности работы с биоматериалом.
3. Риски использования TLA связаны со слабым пониманием производственных процессов лаборатории, плохим их анализом и администрированием, автоматизацией заведомо неоптимизированных процессов, перекладыванием ответственности в целеполагании и принятии решений на поставщиков оборудования, недостаточной инженерной поддержкой и защитой данных.
4. Ограничения современных систем TLA включают неспособность к гибкому эволюционированию и интеллектуальной адаптации к изменяющимся потребностям лаборатории, невозможность полной автоматизации обработки всех типов образцов, применения некоторых слишком универсальных технических решений в ущерб специфическим задачам, высокую стоимость внедрения.
5. В российских условиях внедрение TLA осложняется дефицитом экспертного опыта, отсутствием методологических рекомендаций, экономическими ограничениями, медленной регистрацией медицинских изделий.
6. Внедрение TLA должно базироваться на предварительно изученных, картированных и оптимизированных лабораторных процессах, эффективность управления должна оцениваться с применением установленных количественных метрик.
7. Дальнейшее развитие систем TLA вписывается в парадигму «Индустрия 4.0», а преодоление существующих ограничений требует разработки технологических, методологических и организационных решений в рамках комплексного междисциплинарного подхода.

Заключение. Системы TLA являются мощным современным инструментом, повышающим эффективив-

ность медицинской лаборатории и дающим ей преимущества в виде улучшения ТАТ, роста производительности труда, стандартизации проведения исследований, сокращения ошибок и обеспечения безопасности сотрудников. Вместе с тем, эксплуатация данного оборудования требует ответственного организационного подхода со стороны лаборатории, поскольку несет в себе определенные риски. Современные системы по-прежнему не избавлены от ограничений, связанных, в первую очередь, с недостаточной эволюционной гибкостью, отсутствием интеллектуальных способностей к адаптации. Преодоление их, в перспективе, потребует разработки комплекса технологических, методологических и организационных решений. Планирование и внедрение TLA требует проведения всестороннего внутреннего анализа процессов лаборатории, который должен выполняться силами собственных компетентных специалистов. Эффективность систем автоматизации должна контролироваться и управляться на основе использования объективных метрик.

ЛИТЕРАТУРА (ПП. 5-7, 9-21, 24-44 СМ. REFERENCES)

1. Меньшиков В.В. Оптимизация расходов на здравоохранение, централизация лабораторных исследований и доступность лабораторной информации. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2014; 59 (4): 56-9.
2. Ивойлов О.О., Кочетов А.Г. Метод анализа типовой структуры прямых затрат в себестоимости лабораторного теста. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2021; 66 (3): 187-92. DOI: 10.51620/0869-2084-2021-66-3-187-192.
3. Ивойлов О.О., Кочетов А.Г., Лянг О.В., Либонь К. Анализ затрат как основа управленческих решений при автоматизации иммуноферментных исследований на ВИЧ-инфекцию. *ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии*. 2022; 14 (1): 78-89. DOI: 10.22328/2077-9828-2022-14-1-78-89.
4. Русак А.А., Александрович Л.И., Камышников В.С., Шилейко И.Д. Управление качеством лабораторно-диагностических исследований. *Лабораторная диагностика. Восточная Европа*. 2022; 11 (2): 111-31. DOI: 10.34883/PI.2022.11.2.011.
5. Евгина С.А. На пути к максимальной эффективности - трековые системы автоматизации. Опыт зарубежных лабораторий. *Лабораторная служба*. 2016; 5 (3): 71-4. DOI: 10.17116/labs20165371-74.
22. Свещинский М.Л., Кокарева Т.С., Плюснина С.В., Черных С.В. Оценки использования лабораторных исследований в учреждениях первичной медико-санитарной помощи. *Лабораторная служба*. 2017; 6 (3): 206-13. DOI: 10.17116/labs201763206-213.
23. Ивойлов О.О., Кочетов А.Г., Сальникова Ю.П., Велицкая О.А. Трудозатраты персонала автоматизированной медицинской лаборатории на проведение гематологических исследований. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2025; 70 (2): 141-51. DOI: 10.51620/0869-2084-2025-70-2-141-151.
45. Ивойлов О.О., Кочетов А.Г., Гимадиев Р.Р., Гераскин А.И. Оценка трудозатрат персонала автоматизированной биохимической лаборатории. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2023; 68 (6): 371-80. DOI: 10.51620/0869-2084-2023-68-6-371-380.

REFERENCES

1. Men'shikov V.V. Optimization of healthcare expenses, centralization of laboratory research and availability of laboratory information. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2014; 59 (4): 56-9. (in Russian)
2. Ivoilov O.O., Kochetov A.G. A method for analyzing the typical structure of direct costs in the cost of a laboratory test. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2021; 66 (3): 187-92. DOI: 10.51620/0869-2084-2021-66-3-187-192. (in Russian)

ORGANIZATION LABORATORY SERVICE

3. Ivoylov O.O., Kochetov A.G., Lyang O.V., Libon K. Cost analysis as the basis for management decisions in automation of enzyme immunoassays for HIV infection. *VICH-infektsiya i immunosupressii*. 2022; 14 (1): 78-89. DOI: 10.22328/2077-9828-2022-14-1-78-89. (in Russian)
4. Rusak A., Alekhnovich L., Kamyshnikov V., Shileyko I. Quality management of laboratory and diagnostic studies. *Laboratornaya Diagnostika. Vostochnaya Evropa*. 2022; 11(2): 111-31. DOI: 10.34883/PI.2022.11.2.011. (in Russian)
5. Hawker C.D. Laboratory automation: total and subtotal. *Clin. Lab. Med.* 2007; 27 (4): 749-70. DOI: 10.1016/j.cll.2007.07.010.
6. Lippi G., Da Rin G. Advantages and limitations of total laboratory automation: a personal overview. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*. 2019; 57 (6): 802-11. DOI: 10.1515/cclm-2018-1323.
7. Kim K., Lee S., Kim T.H., Lee S.G. Economic evaluation of total laboratory automation in the clinical laboratory of a tertiary care hospital. *Ann. Lab. Med.* 2022; 42: 89-95. DOI: 10.3343/alm.2022.42.1.89.
8. Evgina S.A. Driving maximum efficiency — track automation system. Foreign labs experience. *Laboratornaya sluzhba*. 2016; 5 (3):71-4. DOI: 10.17116/labs20165371-74. (in Russian)
9. Hawker C.D. Nonanalytic laboratory automation: a quarter century of progress. *Clin Chem.* 2017; 63 (6): 1074-82. DOI: 10.1373/clinchem.2017.272047.
10. Nam Y., Park H.D. Revolutionizing laboratory practices: pioneering trends in total laboratory automation. *Ann. Lab. Med.* 2025; Epub. ahead of print. DOI: 10.3343/alm.2024.0581.
11. Precedence research. Lab automation market size, share and trends 2024 to 2034. Available at: <https://www.precedenceresearch.com/lab-automation-market> (accessed: 15 April 2025).
12. Reports and Insights Market Research. Lab Automation (TTA AND TLA) Market. Available at: <https://www.reportsandinsights.com/report/lab-automation-tta-and-tla-market> (accessed: 15 April 2025).
13. Global Market Insights. Lab Automation Market Size & Share Report, 2024-2032. Available at: <https://www.gminsights.com/ru/industry-analysis/lab-automation-market> (accessed: 25 April 2024).
14. Data Bridge Market Research. Global Modular Laboratory Automation Market. Available at: <https://www.databridgemarketresearch.com/ru/reports/global-modular-laboratory-automation-market> (accessed: 25 April 2024).
15. Iqbal S., Naeem S.T., Fatima A., Naseem S., Sharafat S., Zeeshan F. Installation and implementation of automation and its impact on clinical chemistry laboratory productivity. *RMJ*. 2021; 46(1): 228-31.
16. Younas A., Haroon Z.H., Aamir M., Khalid U.B., Mubarak S., Jaffar S.R. Total lab- automation: a key to efficient laboratory services and better patient care. *Pak. J. Pathol.* 2021; 32(3): 111-5.
17. Al Naam Y.A., Elsaifi S., Al Jahdali M.H., Al Shamat R.S., Al-Qurouni B.H., Al Zahran E.M. The impact of total automaton on the clinical laboratory workforce: a case study. *J. Healthc. Leadersh.* 2022; 14: 55-62. DOI: 10.2147/JHL.S362614.
18. Tseng C.W., Li Y.C., Lee H.S., Tseng Y.M. Laboratory testing consolidation and total laboratory automation improves service efficiency and effectiveness: a study of a medical center in Taiwan. *Lab. Med.* 2024; 55 (6): 677-85. DOI: 10.1093/labmed/lmae044.
19. Da Rin G., Lippi G. Total laboratory automation of routine hemostasis testing. *Journal of Laboratory Automation*. 2013; 19(4): 419-22. DOI: 10.1177/2211068213511246.
20. Roundy C.S., Lin D.C., Klopping P.J., Ence A.T., Krezel A.C., Genzen J.R. Specimen temperature detection on a clinical laboratory pre-analytic automation track: implications for direct-from-track total laboratory automation (TLA) systems. *SLAS Technol.* 2020; 25(3): 293-9. DOI: 10.1177/2472630319881999.
21. Hawker C.D., Roberts W.L., DaSilva A., Stam G.D., Owen W.E., Curtis D. et al. Development and validation of an automated thawing and mixing workcell. *Clin. Chem.* 2007; 53(12): 2209-11. DOI: 10.1373/clinchem.2007.094185.
22. Sveschchinskiy M.L., Kokareva T.S., Plyusnina S.V., Chernykh S.V. Analysis of the use of laboratory tests in primary care in the Russian region. *Laboratornaya sluzhba*. 2017; 6 (3): 206-13. DOI: 10.17116/labs201763206-213. (in Russian)
23. Ivoylov O.O., Kochetov A.G., Sal'nikova Yu.P., Velitskaya O.A. Labor costs of automated medical laboratory staff for performing hematological tests. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2025; 70 (2): 141-51. DOI: 10.51620/0869-2084-2025-70-2-141-151. (in Russian)
24. Zimmermann S. Laboratory automation in the microbiology laboratory: an ongoing journey. Not a tale? *J. Clin. Microbiol.* 2021; 59 (3): e02592-20. DOI: 10.1128/JCM.02592-20.
25. Da Rin G., Zoppiello M., Lippi G. Integration of diagnostic microbiology in a model of total laboratory automation. *Lab. Med.* 2016; 47 (1): 73-82. DOI: 10.1093/labmed/lmv007.
26. Bailey A.L., Ledebot N., Burnham C.D. Clinical microbiology is growing up: the total laboratory automation revolution. *Clin. Chem.* 2019; 65(5): 634-43. DOI: 10.1373/clinchem.2017.274522.
27. Yu H.E., Lanzoni H., Steffen T., Derr W., Cannon K., Contreras J., Olson J.E. Improving laboratory processes with total laboratory automation. *Lab. Med.* 2019; 50 (1): 96-102. DOI: 10.1093/labmed/lmy031.
28. Culbreath K., Piwonka H., Korver J., Noorbakhsh M. Benefits derived from full laboratory automation in microbiology: a tale of four laboratories. *J. Clin. Microbiol.* 2021; 59 (3): e01969-20. DOI: 10.1128/JCM.01969-20.
29. Froment P., Marchandin H., Vande Perre P., Lamy B. Automated versus manual sample inoculations in routine clinical microbiology: a performance evaluation of the fully automated InoquA instrument. *J. Clin. Microbiol.* 2014; 52(3): 796-802. DOI: 10.1128/JCM.02341-13.
30. Cherkaoui A., Schrenzel J. Total laboratory automation for rapid detection and identification of microorganisms and their antimicrobial resistance profiles. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2022; 12: 807668. DOI: 10.3389/fcimb.2022.807668.
31. Archetti C., Montanelli A., Finazzi D., Caimi L., Garrafa E. Clinical laboratory automation: a case study. *J. Public. Health Res.* 2017; 6 (1): 881. DOI: 10.4081/jphr.2017.881.
32. Angeletti S., De Cesaris M., Hart J.G., Urbano M., Vitali M.A., Fragliasso F., Dicuonzo G. Laboratory automation and intra-laboratory turnaround time: experience at the university hospital campus Bio-Medico of Rome. *J. Lab. Autom.* 2015; 20(6): 652-8. DOI: 10.1177/2211068214566458.
33. Lou A.H., Elnenaei M.O., Sadek I., Thompson S., Crocker B.D., Nasar B. Evaluation of the impact of a total automation system in a large core laboratory on turnaround time. *Clin. Biochem.* 2016; 49 (16-17): 1254-8. DOI: 10.1016/j.clinbiochem.2016.08.018.
34. Yeo C.P., Ng W.Y. Automation and productivity in the clinical laboratory: experience of a tertiary healthcare facility. *Singapore Med. J.* 2018; 59(11): 597-601. DOI: 10.11622/smedj.2018136.
35. Miler M., Nikolac Gabaj N., Dukic L., Simundic A.M. Key Performance indicators to measure improvement after implementation of total laboratory automation Abbott Accelerator a3600. *J. Med. Syst.* 2017; 42(2): 28. DOI: 10.1007/s10916-017-0878-1.
36. Daldaban-Dincer S., Aksaray S. The effect of total laboratory automation on urine culture result times in a consolidated laboratory. *Clin. Lab.* 2023; 69 (6). DOI: 10.7754/Clin.Lab.2022.220736.
37. Cherkaoui A., Renzi G., Martischang R., Harbarth S., Vuilleumier N., Schrenzel J. Impact of total laboratory automation on turnaround times for urine cultures and screening specimens for MRSA, ESBL, and VRE carriage: retrospective comparison with manual workflow. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2020; 10: 552122. DOI: 10.3389/fcimb.2020.552122.
38. Gonzalez-Ortiz C., Emrick A., Tabak Y.P., Vankeepuram L., Kurt S., Sellers D. et al. Impact on microbiology laboratory turnaround times following process improvements and total laboratory automation. *J. Exp. Pathol.* 2021; 2(1): 16-25. DOI: 10.3369/pathology.2.012.
39. Dauwalder O., Landrieve L., Laurent F., de Montelos M., Vandenesch F., Lina G. Does bacteriology laboratory automation reduce time to results and increase quality management? *Clin. Microbiol. Infect.* 2016; 22 (3): 236-43. DOI: 10.1016/j.cmi.2015.10.037.
40. Adler Ja., Hoffmann G. Total laboratory automation: Vom «AutoAnalyzer» zum Labor 4.0. *Trillium Diagnostik*. 2024; 22 (5): 6-9. DOI: 10.47184/td.2024.05.01.
41. Ialongo C., Bernardini S. Total laboratory automation has the potential to be the field of application of artificial intelligence: the cyber-physical system and «Automation 4.0». *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*. 2019; 57(11): e279-e281. DOI: 10.1515/cclm-2019-0226.
42. CLSI. Laboratory automation: electromechanical interfaces: approved standard. Wayne (PA): CLSI; 2001. CLSI document AUTO05-A.
43. CLSI. Laboratory automation: communications with automated clinical laboratory systems, instruments, devices, and information sys-

- tems: approved standard. Wayne (PA): CLSI; 2009. CLSI document AUTO03-A2.
44. CLSI. Autoverification of clinical laboratory test results: approved guideline. Wayne (PA): CLSI; 2006. CLSI document AUTO10-A.
45. Ivoylov O.O., Kochetov A.G., Gimadiev R.R., Geraskin A.I. Estimation of labor costs of the automated biochemistry laboratory staff. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2023; 68 (6): 371-80. DOI: 10.51620/0869-2084-2023-68-6-371-380. (in Russian)